NMR 基礎講義１＆２

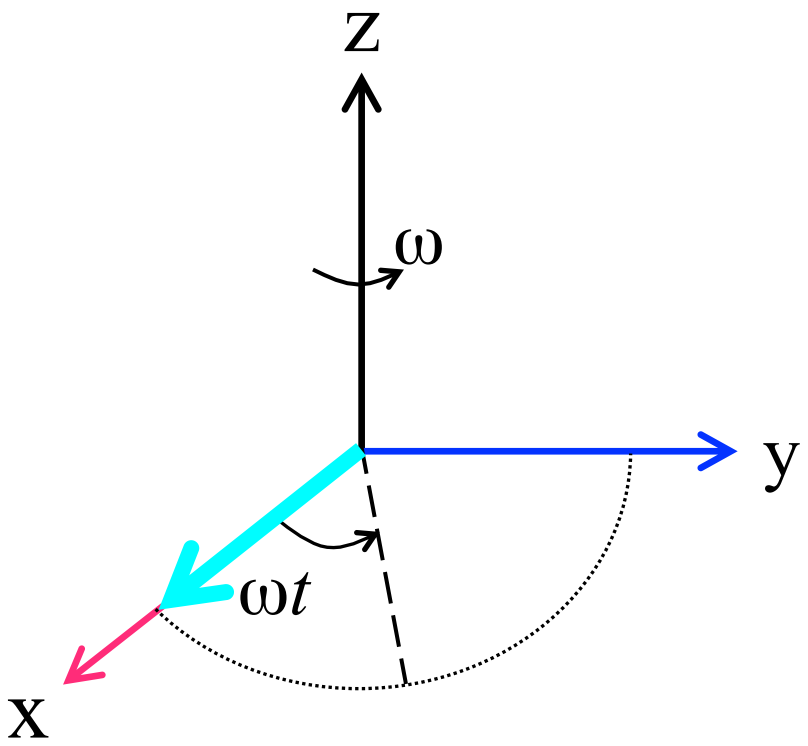
第 10 回 若手 NMR 研究会
2009 年９月４日（金）-６日（日）
IPC 生産性国際交流センター（湘南国際村）

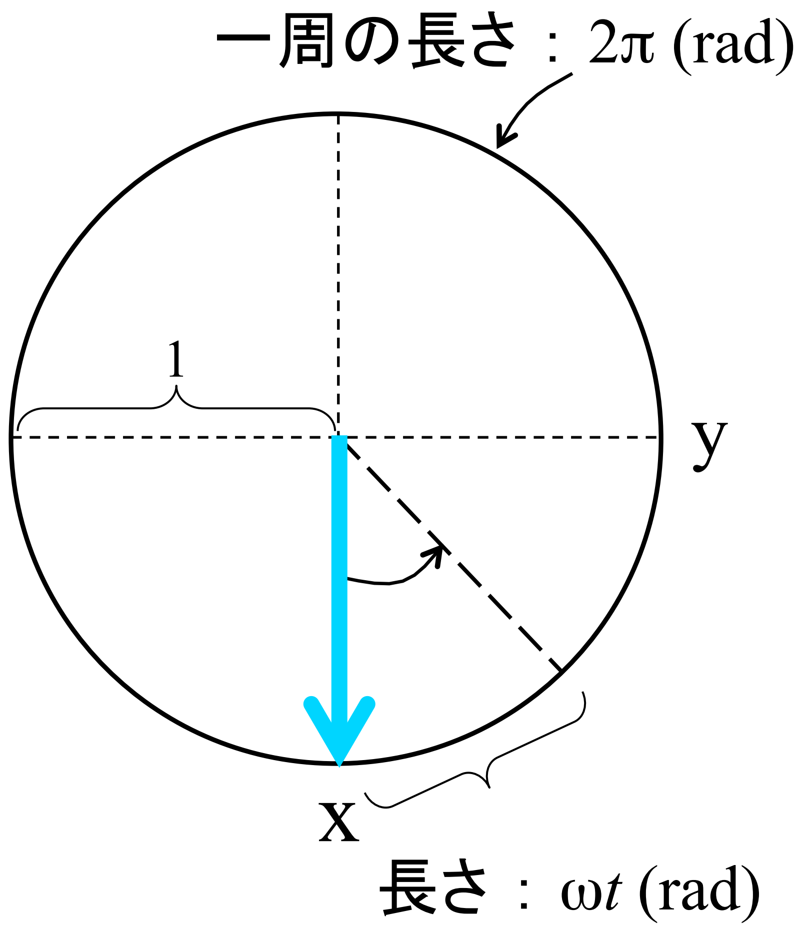
大阪大学蛋白質研究所
構造プロテオミクス研究系
池上貴久

化学シフトの直積演算子
(product-operator)

$$I_x \;\Rightarrow\; I_x \cos(\omega t) + I_y sin(\omega t)$$

ω：角速度(rad/s)

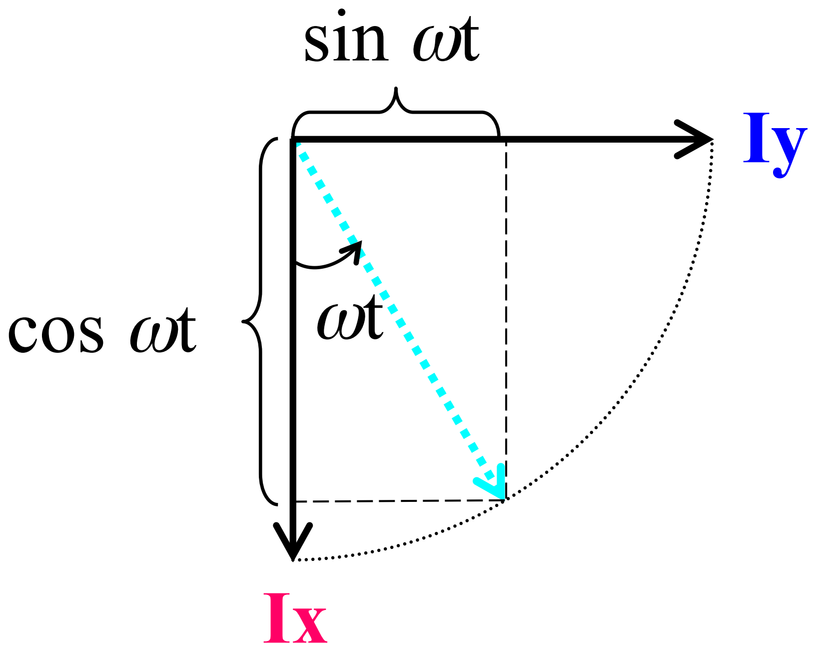




$$\omega = 2\pi\nu$$

角速度 (rad/s)　　周波数 (Hz = /s)

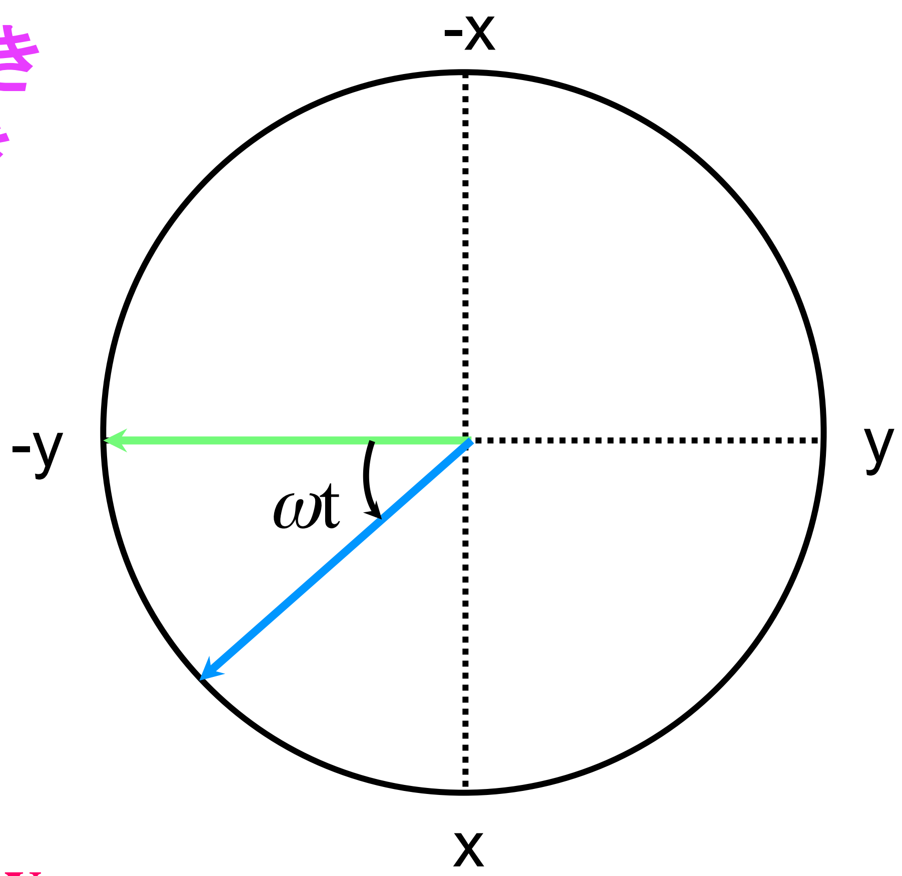
化学シフト = Z 軸周りの回転



$$Ix \xrightarrow{(\omega t)\ z} \begin{cases} Ix \\ Iy \end{cases}$$

$$Ix \xrightarrow{(\omega t)\ z} Ix \cos(\omega t) + Iy \sin(\omega t)$$

前の項：そのままの向き
後の項：90 度先の向き



$$\mathbf{I}_{-y} \xrightarrow{(\omega t)\,z} \begin{cases} \mathbf{I}_{-y} \\ \mathbf{I}_{x} \end{cases}$$

$\mathbf{I}_{x}$ ← 90 度進んだ先の向き

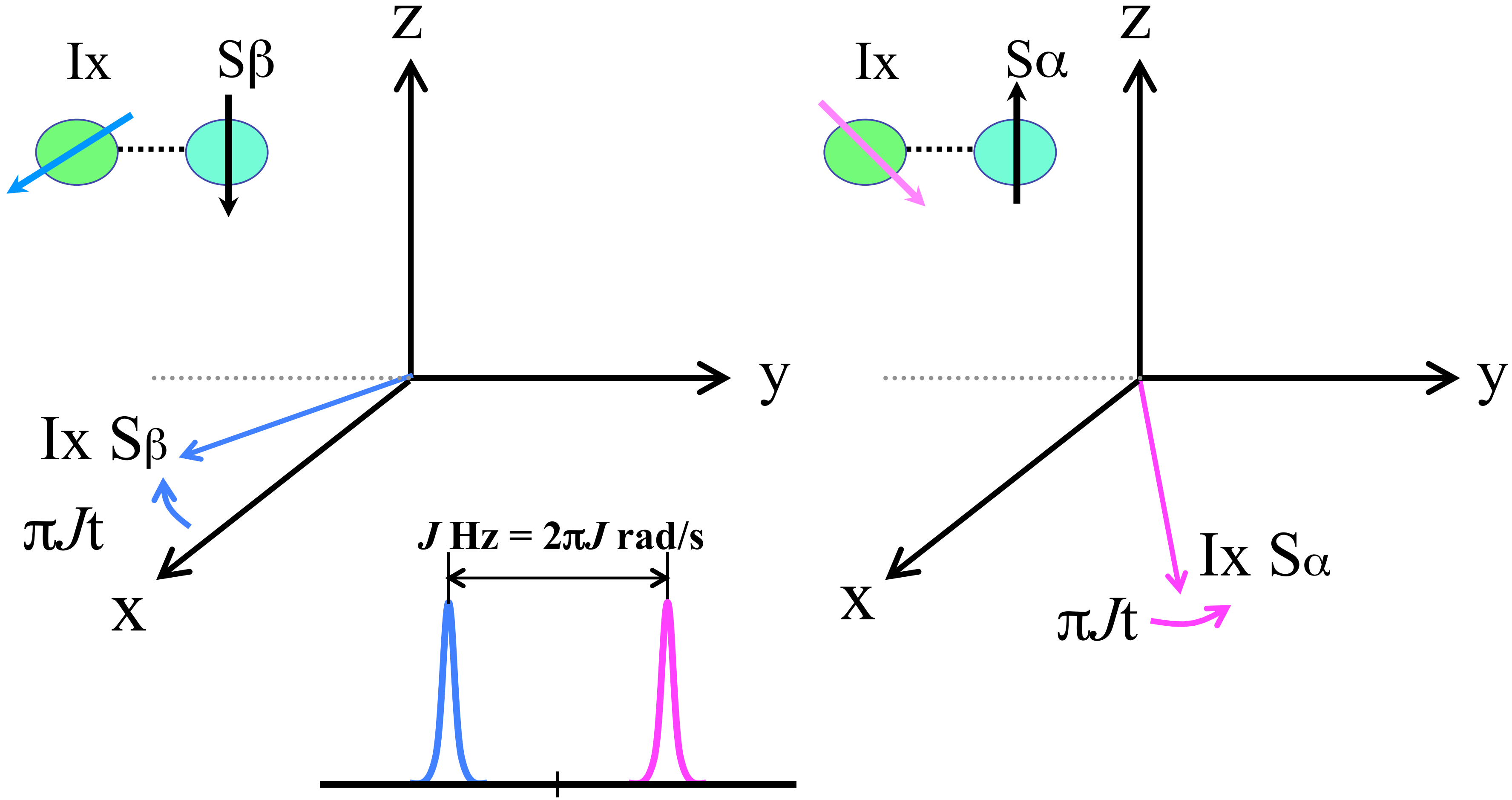
$$\mathbf{I}_{-y} \xrightarrow{(\omega t)\,z} \mathbf{I}_{-y}\cos(\omega t) + \mathbf{I}_{x}\sin(\omega t)$$

J-スピンスピン結合の直積演算子

$$I_x \;\Rightarrow\; I_x \cos(\pi J t) + 2 I_y S_z sin(\pi J t)$$

2 種類の I スピン

$$\pm\frac{J}{2}(Hz) \;=\; \pm\,\pi J\;\left(\frac{rad}{s}\right)$$



IxSβ $\longrightarrow$

IxSβ · cos (πJt) – IySβ · sin (πJt)

IxSα $\longrightarrow$

IxSα · cos (πJt) + IySα · sin (πJt)

J - 結合の直積演算子

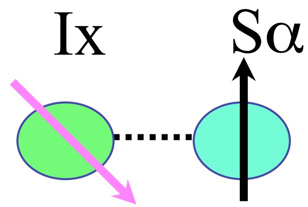
$$\mathrm{Ix}\ \mathrm{S}\alpha \longrightarrow \mathrm{Ix}\ \mathrm{S}\alpha \cos(\pi Jt) + \mathrm{Iy}\ \mathrm{S}\alpha \sin(\pi Jt)$$

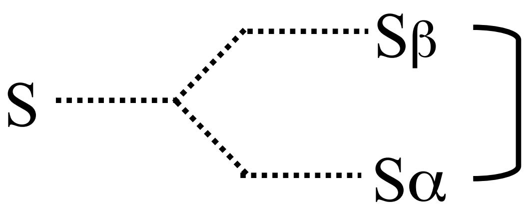
$$+)\quad \mathrm{Ix}\ \mathrm{S}\beta \longrightarrow \mathrm{Ix}\ \mathrm{S}\beta \cos(\pi Jt) - \mathrm{Iy}\ \mathrm{S}\beta \sin(\pi Jt)$$

$$\mathrm{Ix}\ (\mathrm{S}\alpha + \mathrm{S}\beta) \longrightarrow \mathrm{Ix}\ (\mathrm{S}\alpha + \mathrm{S}\beta) \cos(\pi Jt) + \mathrm{Iy}\ (\mathrm{S}\alpha - \mathrm{S}\beta) \sin(\pi Jt)$$

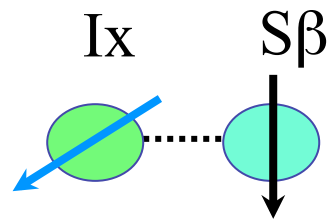
$$\mathrm{S}\alpha + \mathrm{S}\beta = 1$$
$$\mathrm{S}\alpha - \mathrm{S}\beta = 2\ \mathrm{Sz}$$

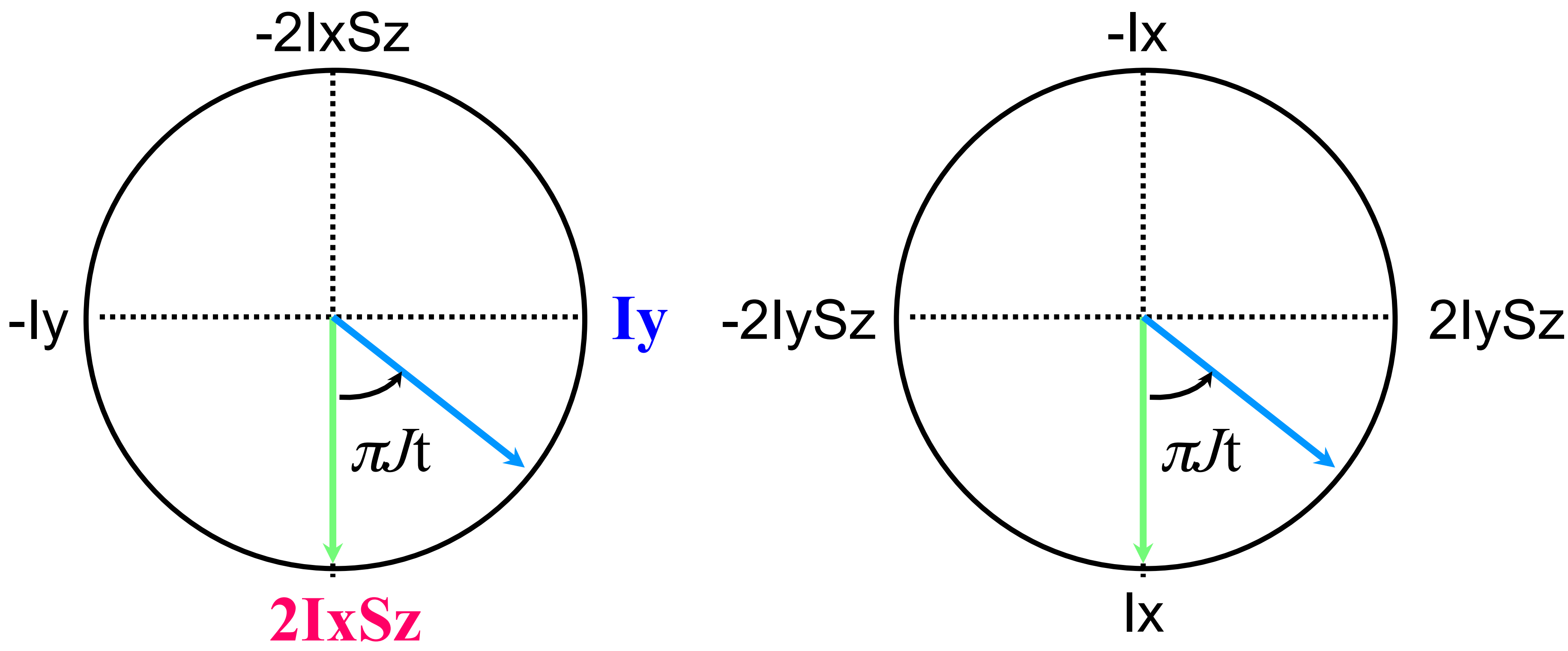
$$\mathrm{Ix} \longrightarrow \mathrm{Ix} \cos(\pi Jt) + 2\ \mathrm{Iy}\ \mathrm{Sz} \sin(\pi Jt)$$





和 = 1
差 = 2 Sz（S の z 磁化）





$$2I_xS_z \xrightarrow{(\pi J t)\ 2I_zS_z} \begin{cases} 2I_xS_z \\ I_y \end{cases}$$

Iy ← 90 度進んだ先の向き

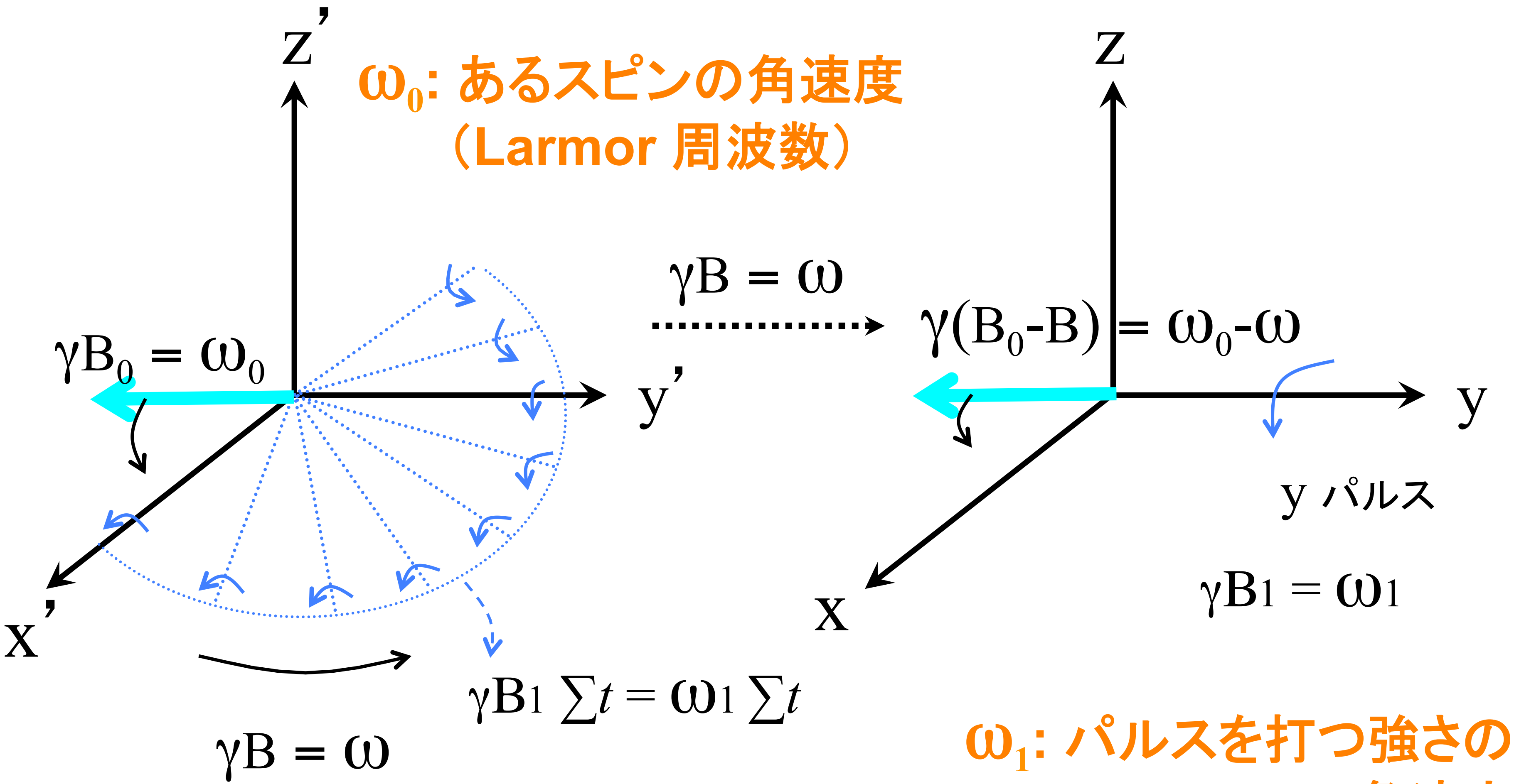
$$2I_xS_z \xrightarrow{(\pi J t)\ 2I_zS_z} 2I_xS_z \cos(\pi J t) + I_y \sin(\pi J t)$$

パルスを打っている最中のスピンの挙動

$$\wp = \wp_z + \wp_{rf}$$
$$= \omega_0 I_z + \omega_1 \left[I_x \cos(\omega t + \phi) + I_y \sin(\omega t + \phi) \right]$$

パルス

実験室座標系　　回転座標系



ω_0: あるスピンの角速度（Larmor 周波数）

ω: パルスを打つ向きの角速度

ω_1: パルスを打つ強さの角速度

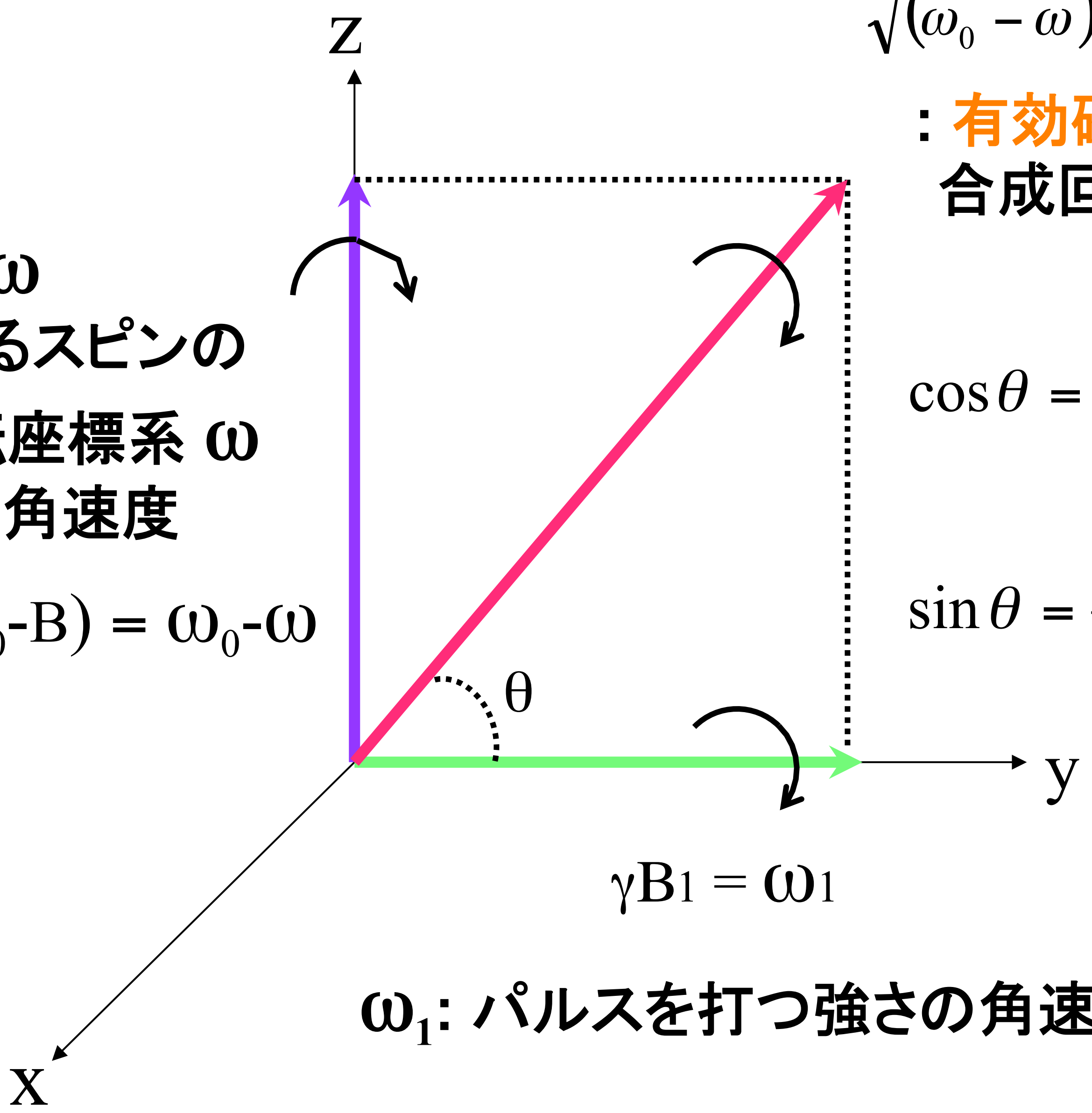
$$\sqrt{(\omega_0-\omega)^2+\omega_1^2}$$

：**有効磁場の周りの合成回転の角速度**

ω_0-ω

：あるスピンの回転座標系 ω での角速度

$\gamma(B_0-B) = \omega_0-\omega$



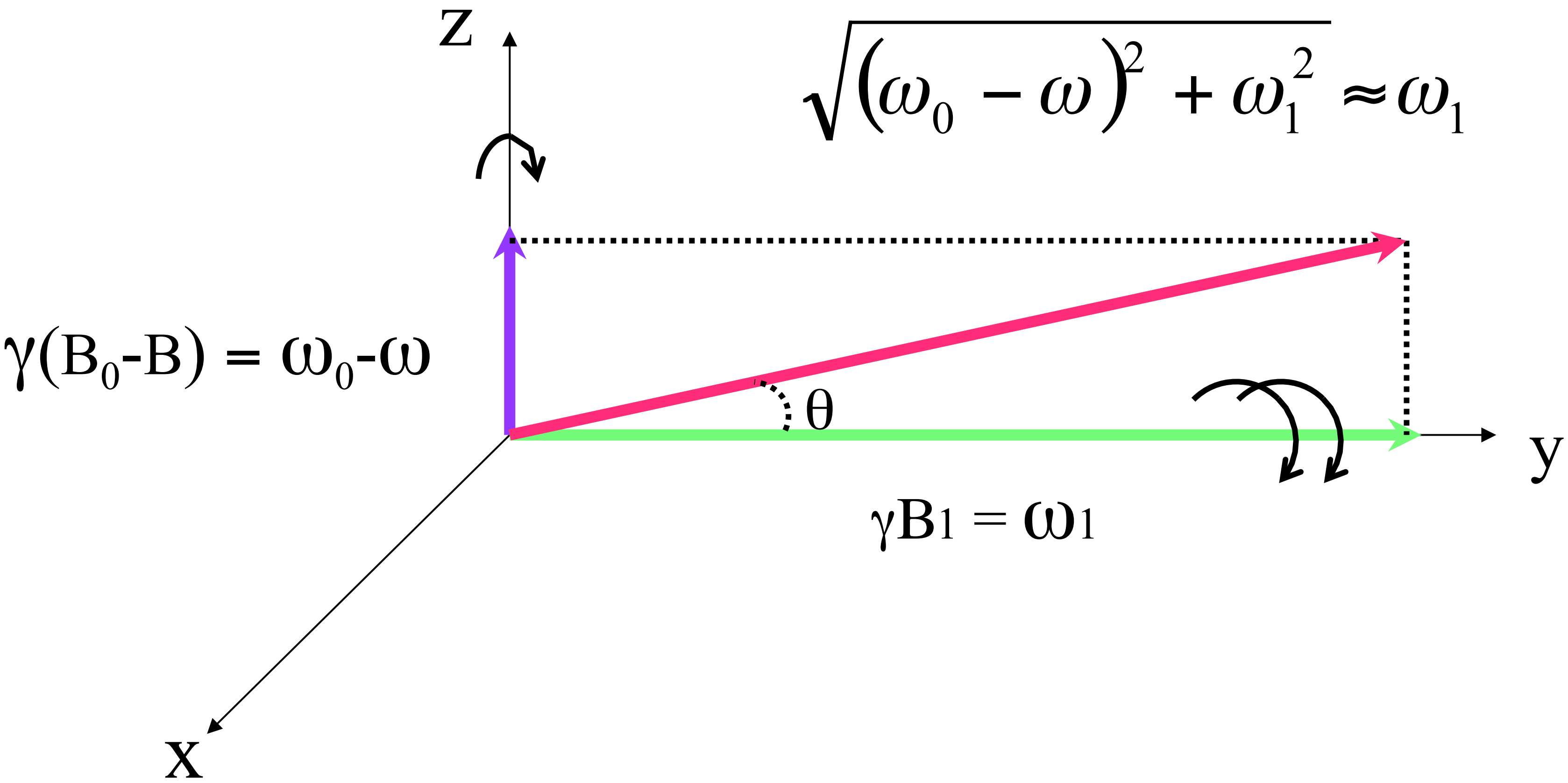
$$\cos\theta = \frac{\omega_1}{\sqrt{(\omega_0-\omega)^2+\omega_1^2}}$$

$$\sin\theta = \frac{\omega_0-\omega}{\sqrt{(\omega_0-\omega)^2+\omega_1^2}}$$

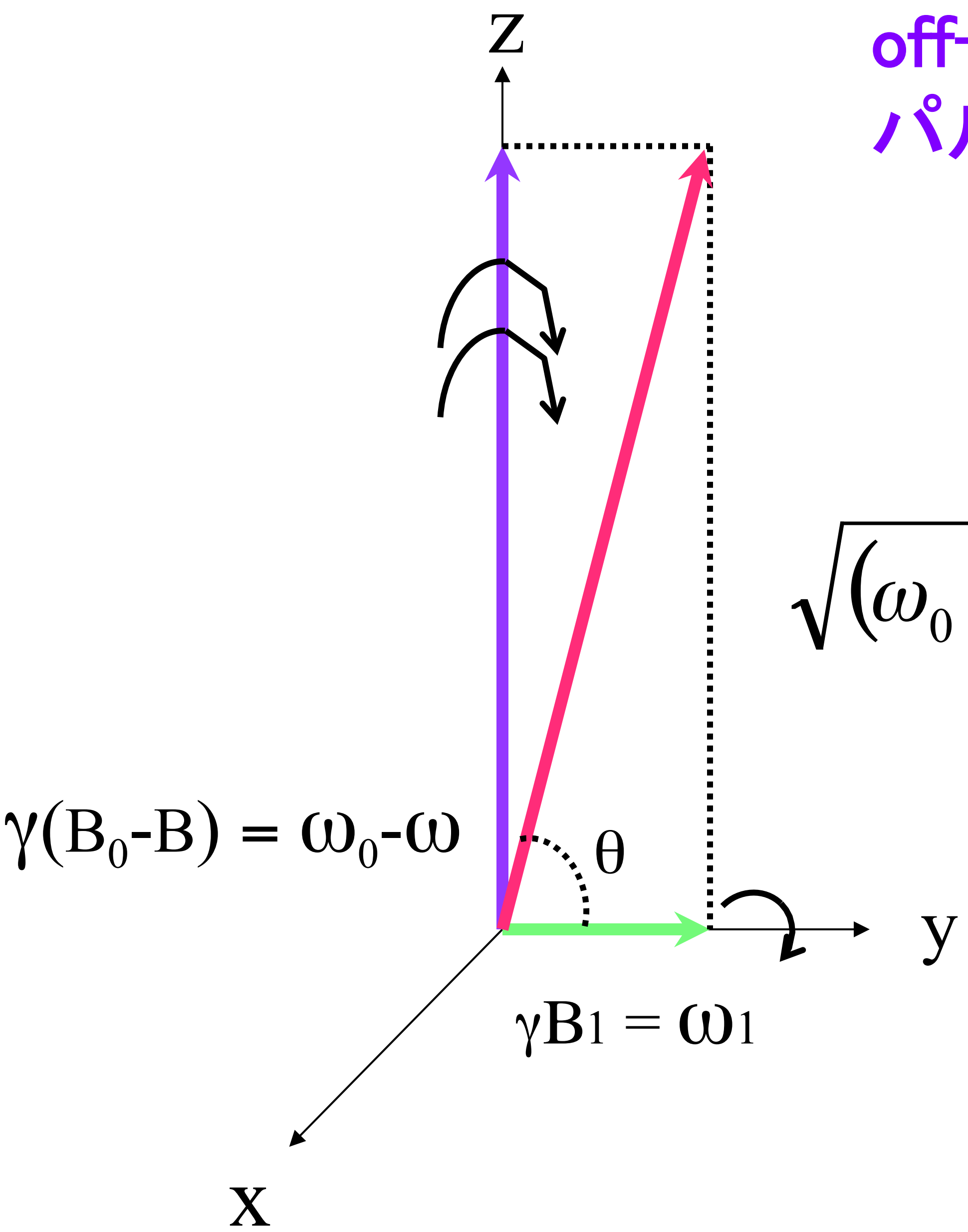
$\gamma B_1 = \omega_1$

ω_1: パルスを打つ強さの角速度

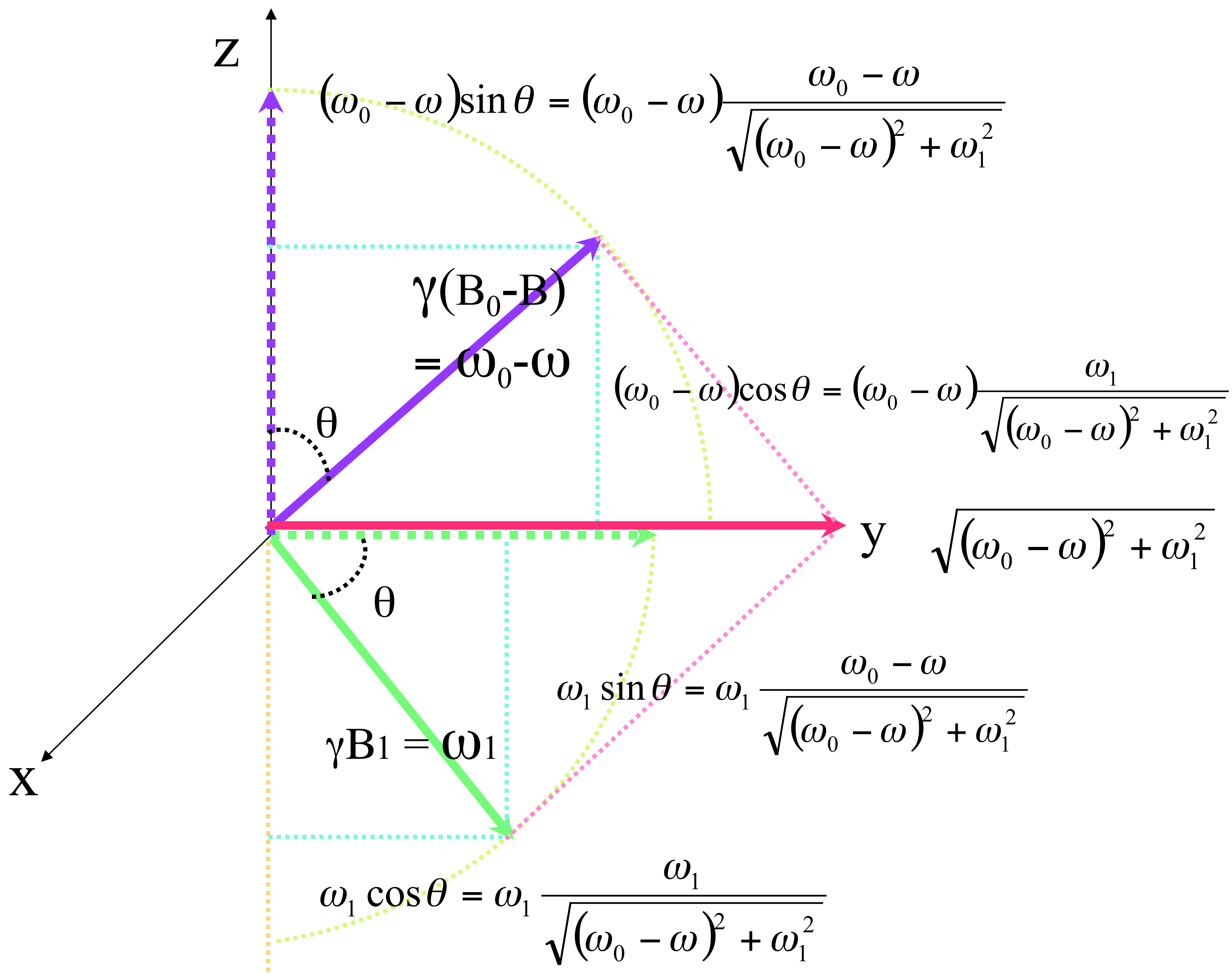
on-resonance に近い場合
パルスの強度が強い場合



off-resonance の場合
パルスの強度が弱い場合

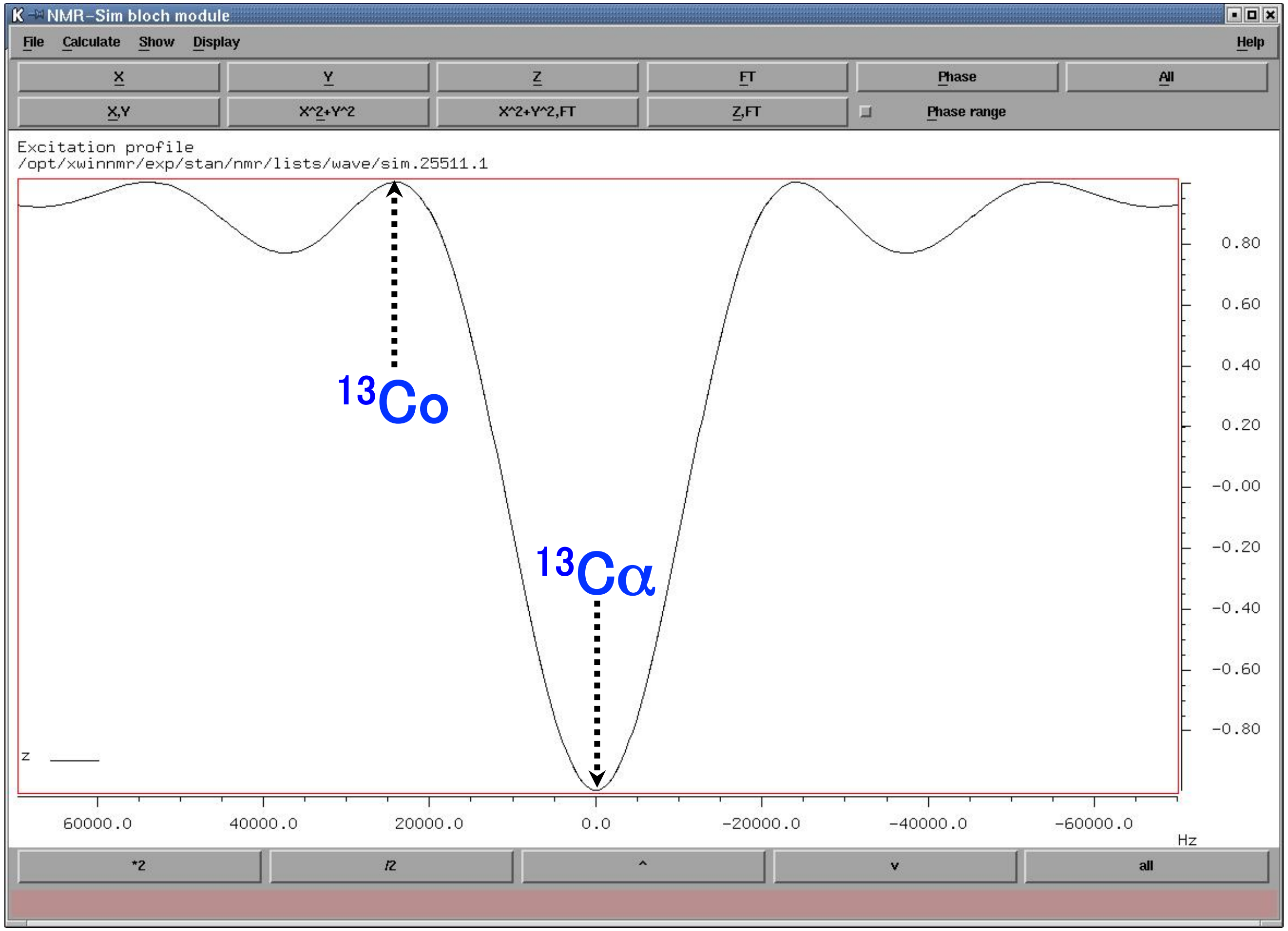


$$\sqrt{(\omega_0 - \omega)^2 + \omega_1^2} \approx \omega_0 - \omega$$



z
$(\omega_0 - \omega)\sin\theta = (\omega_0 - \omega)\frac{\omega_0 - \omega}{\sqrt{(\omega_0 - \omega)^2 + \omega_1^2}}$
γ(B0-B)
= ω0-ω
$(\omega_0 - \omega)\cos\theta = (\omega_0 - \omega)\frac{\omega_1}{\sqrt{(\omega_0 - \omega)^2 + \omega_1^2}}$
θ
y
$\sqrt{(\omega_0 - \omega)^2 + \omega_1^2}$
θ
$\omega_1 \sin\theta = \omega_1 \frac{\omega_0 - \omega}{\sqrt{(\omega_0 - \omega)^2 + \omega_1^2}}$
γB1 = ω1
x
$\omega_1 \cos\theta = \omega_1 \frac{\omega_1}{\sqrt{(\omega_0 - \omega)^2 + \omega_1^2}}$

^{13}Co になるべく影響を与えないような 180° 矩形波 ^{13}Cα パルス

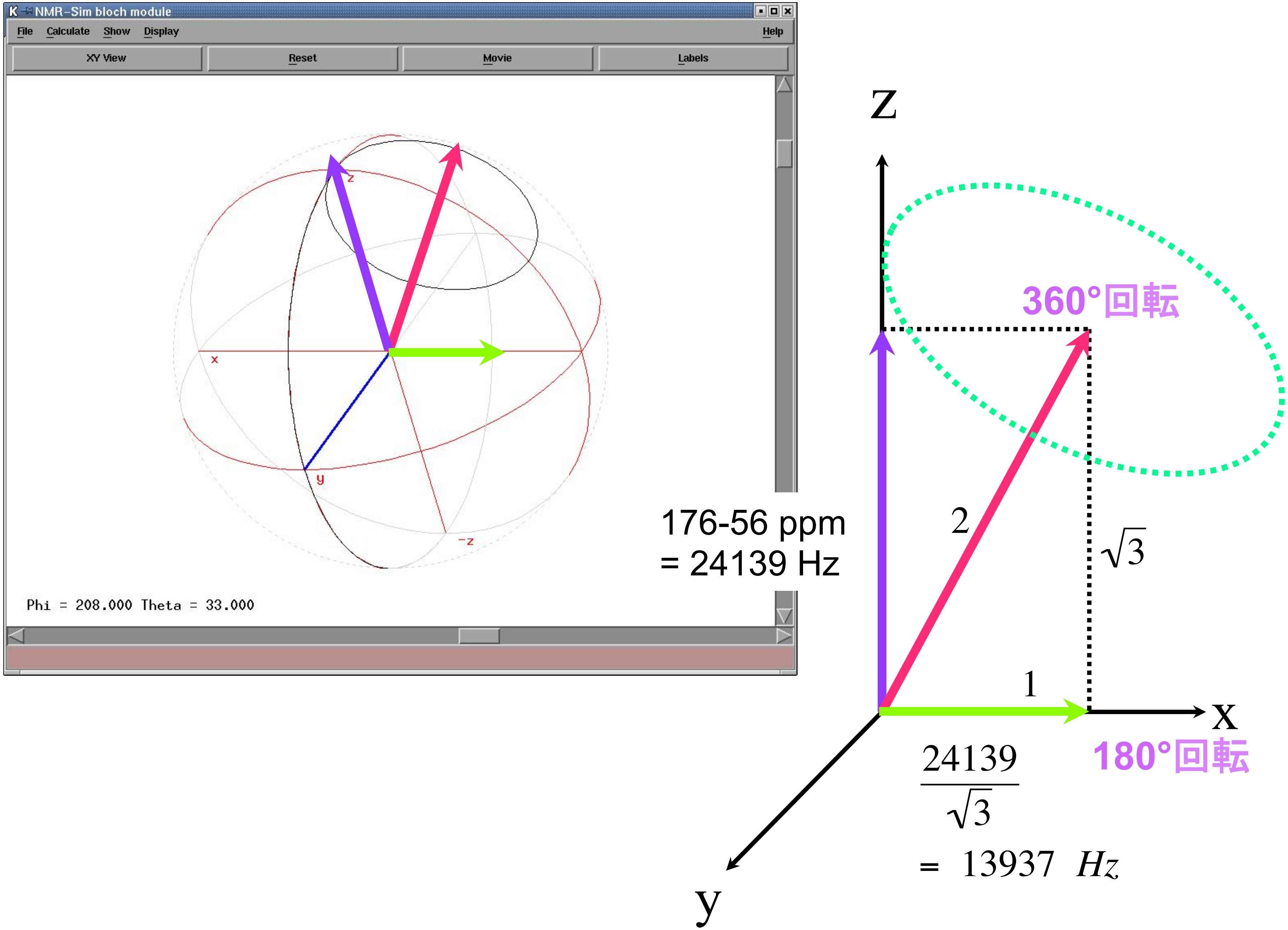


800 MHz NMR の場合 Co (176 ppm) と Cα (56 ppm) の間は、

800 * 0.25144953 * (176-56) = 24139 Hz

パルスの強度は、 $\dfrac{24139}{\sqrt{3}} = 13937 \ \ Hz$

したがって、180° 矩形波パルスの長さは、 $\dfrac{10^6}{13937} \times \dfrac{1}{2} = 35.9 \ \ \mu s$


NMR-Sim bloch module
File Calculate Show Display Help
XY View Reset Movie Labels
z
x
y
-z
Phi = 208.000 Theta = 33.000
176-56 ppm
= 24139 Hz
z
360°回転
2
$\sqrt{3}$
1
x
180°回転
$\frac{24139}{\sqrt{3}}$
= 13937 Hz
y

二次元スペクトル
--- HSQC を例として ---

$$I_0 \exp(i\omega_I t_2)\ \exp(i\omega_S t_1)$$

$$= I_0\{\ \cos(\omega_I t_2) + i sin(\omega_I t_2)\}\{\ \cos(\omega_S t_1) + i sin(\omega_S t_1)\}$$

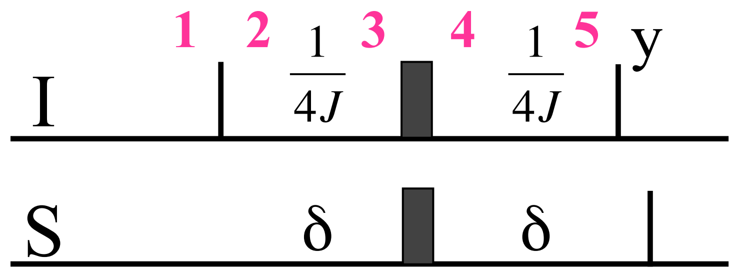
$$= I_0\{\ \cos(\omega_I t_2) + i sin(\omega_I t_2)\}\ \cos(\omega_S t_1)$$

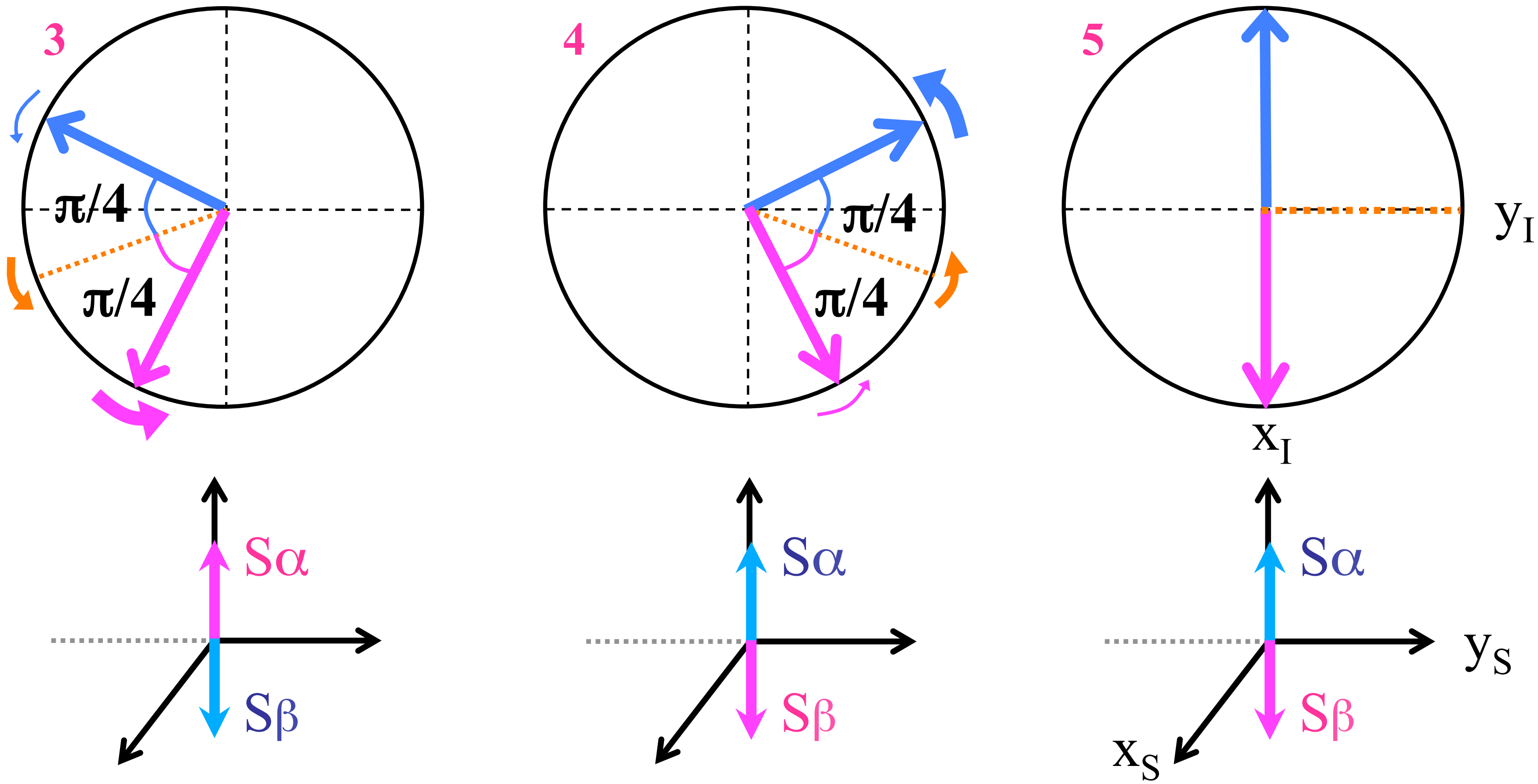
$$+ i I_0\{\ \cos(\omega_I t_2) + i sin(\omega_I t_2)\}\ sin(\omega_S t_1)$$

INEPT

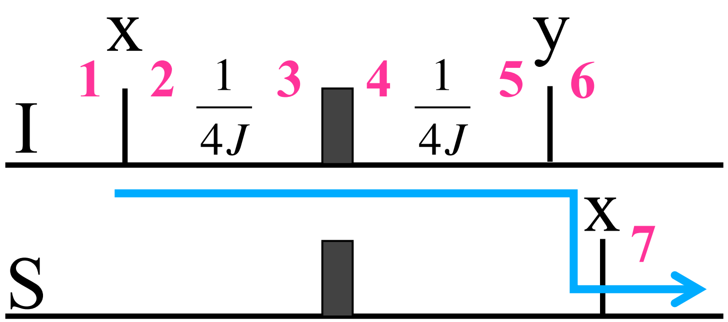
$$(\omega - \pi J)\,\delta = \omega\delta - \pi/4$$

$$(\omega + \pi J)\,\delta = \omega\delta + \pi/4$$

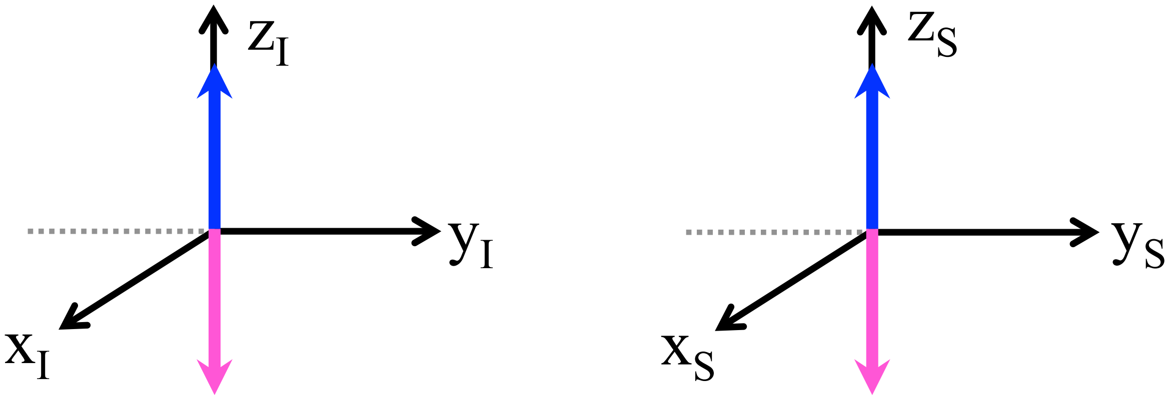




$-2IxSz \sin(\pi J 2\delta)$



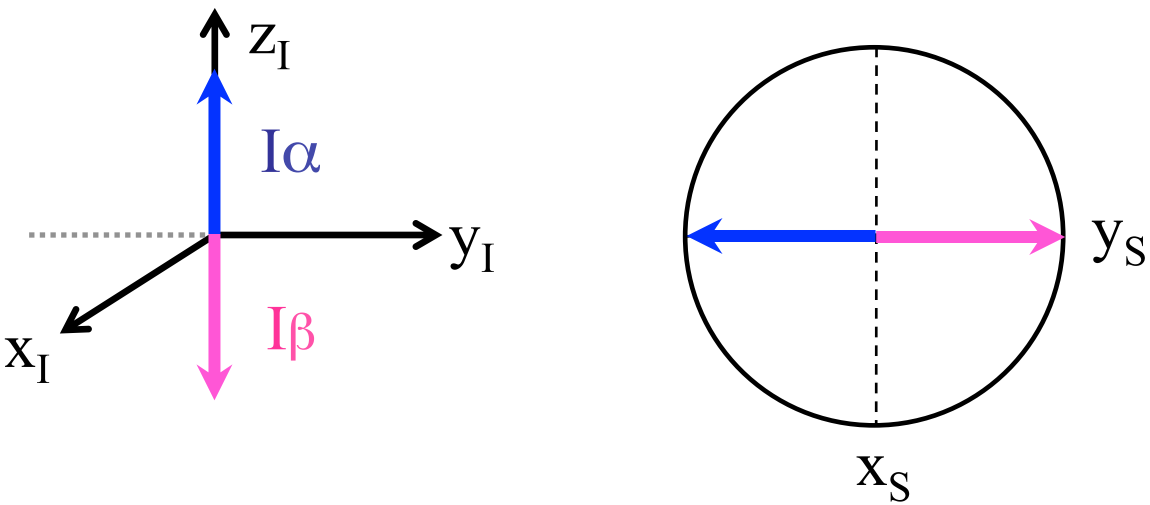
6



2-spin-order
磁化移動
の分岐点

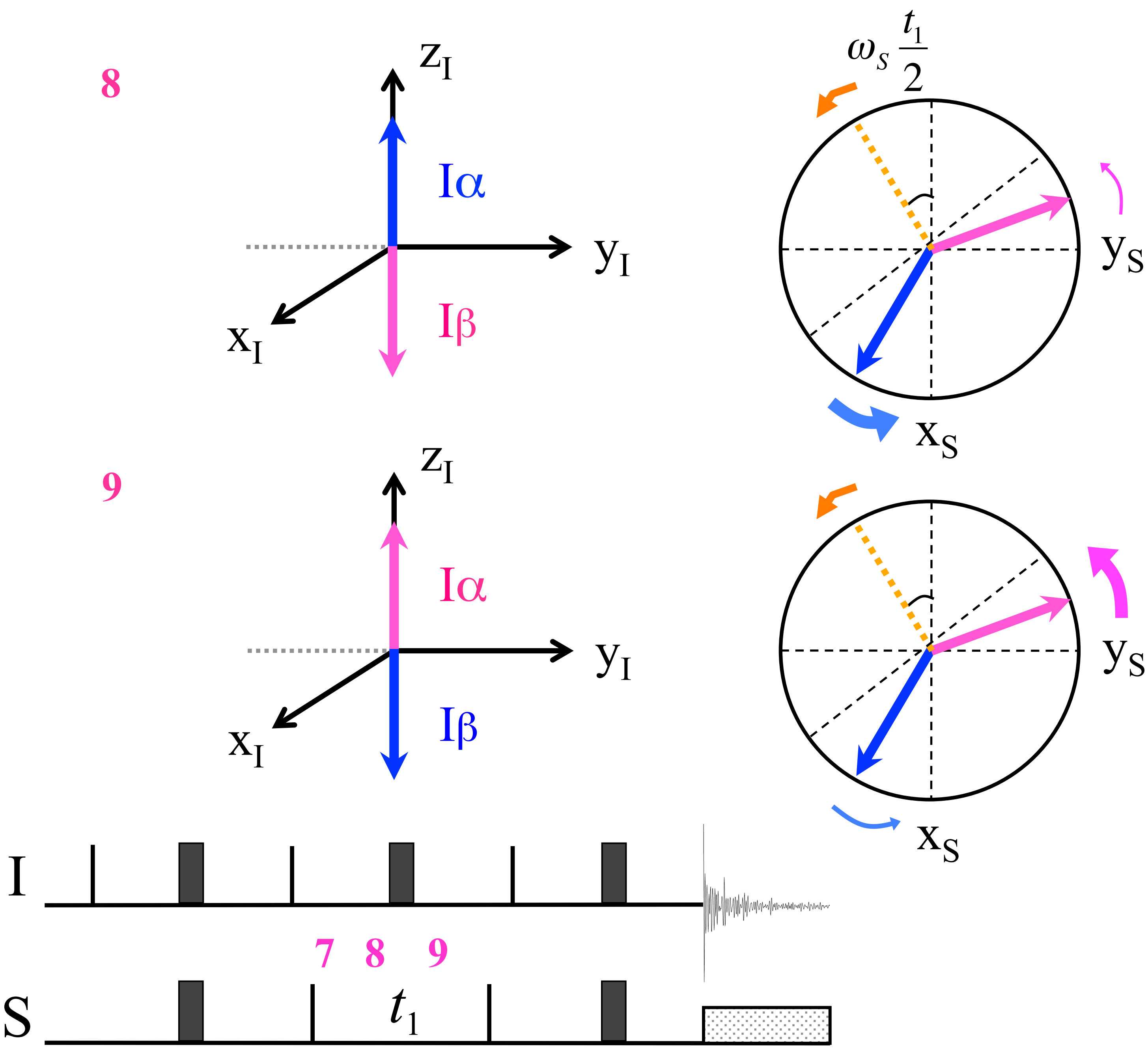
2IzSz

7



5 とは
I と S が逆

-2IzSy

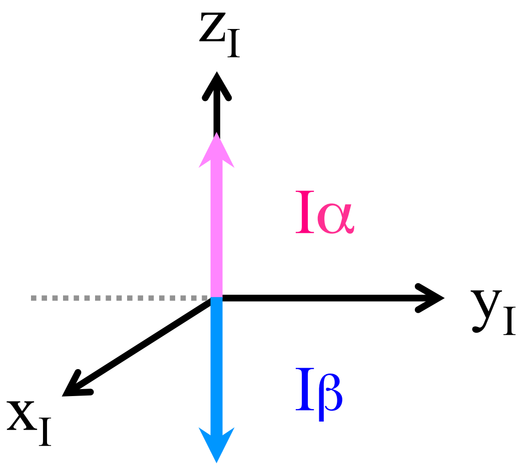


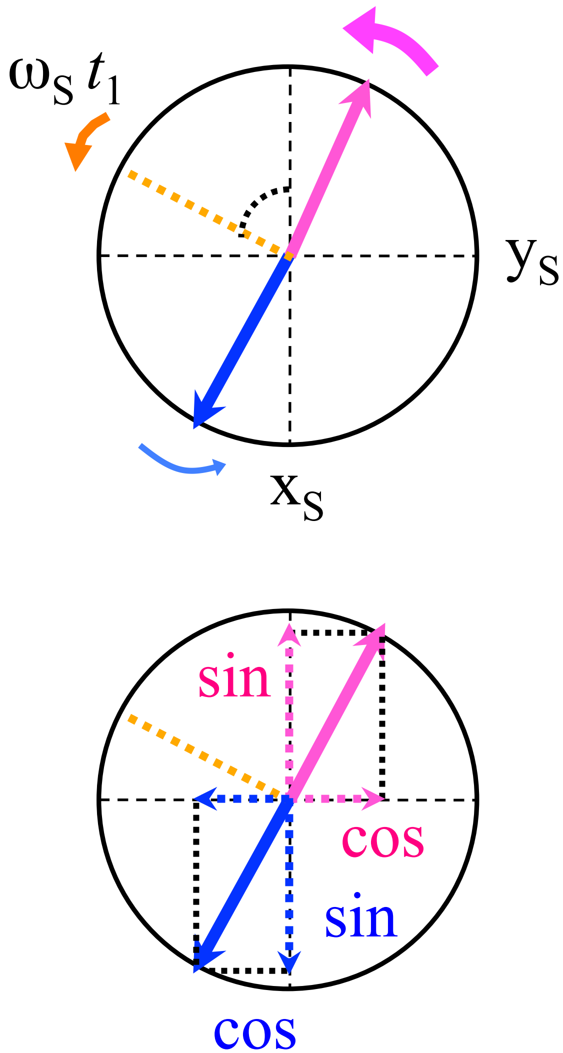
8
z_I
$I\alpha$
y_I
$I\beta$
x_I
$\omega_S \frac{t_1}{2}$
y_S
x_S
9
z_I
$I\alpha$
y_I
$I\beta$
x_I
y_S
x_S
I
7 8 9
S
t_1

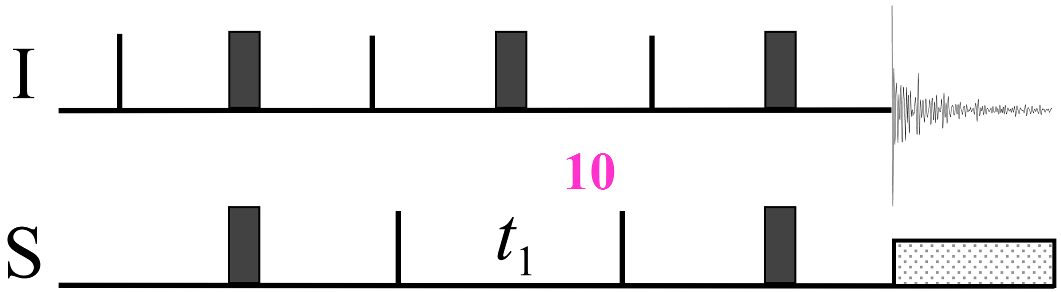
$$2I_zS_y \cos(\omega_S t_1) = (I\alpha - I\beta)S_y \cos(\omega_S t_1)$$

$$-2I_zS_x \sin(\omega_S t_1) = (I\beta - I\alpha)S_x \sin(\omega_S t_1)$$

10

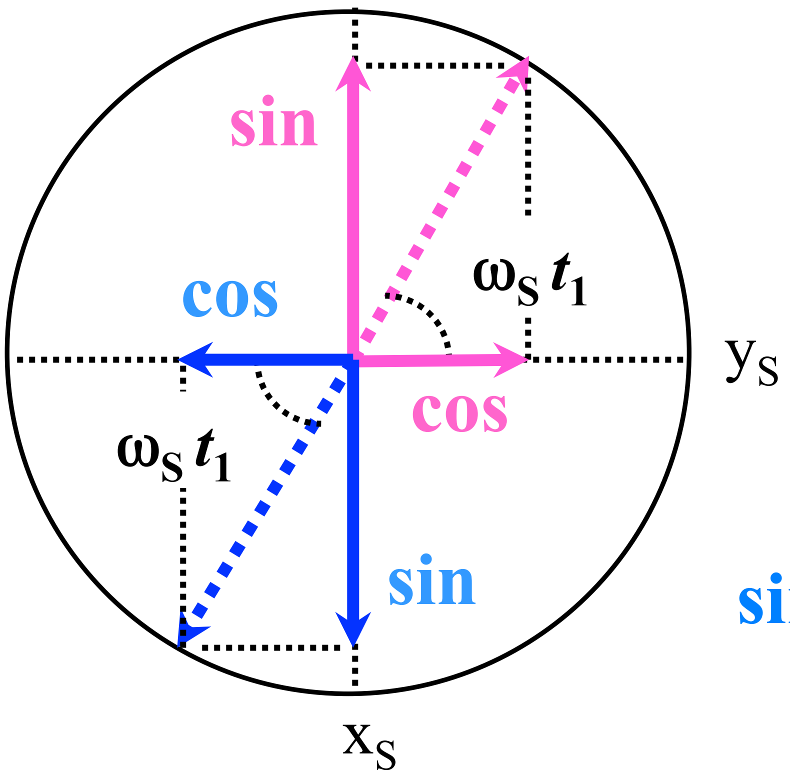


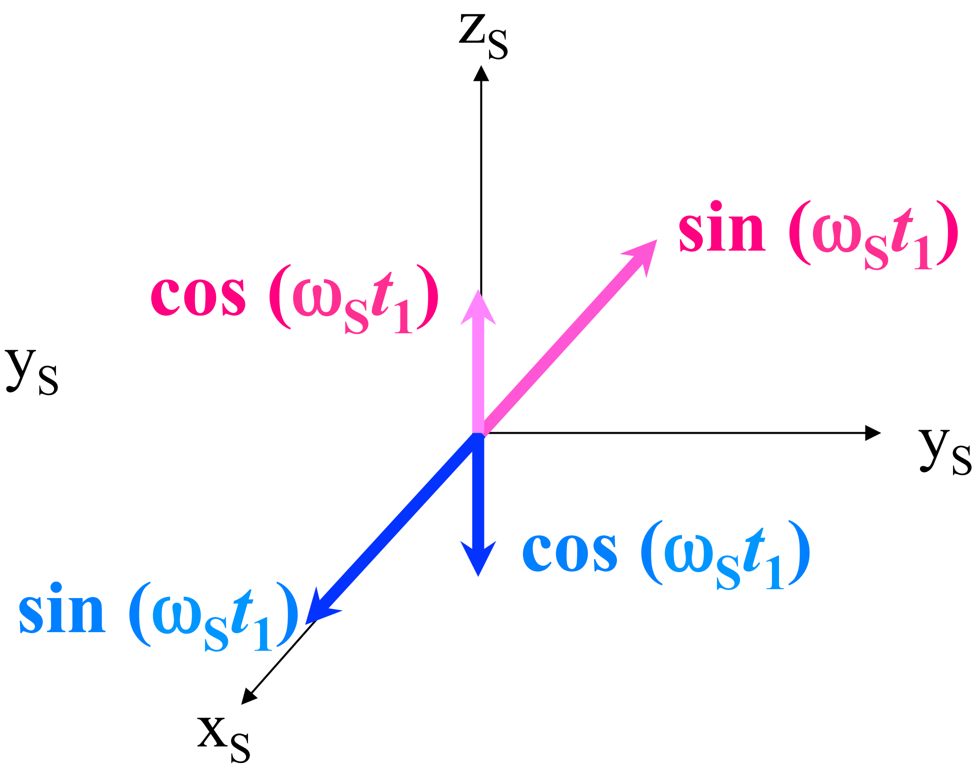


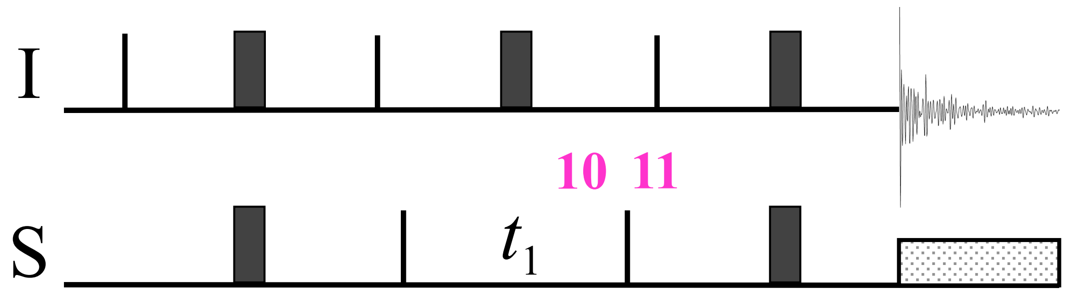


10 $2I_zS_y \cos(\omega_S t_1)$
$-2I_zS_x \sin(\omega_S t_1)$

11 $2I_zS_z \cos(\omega_S t_1)$
$-2I_zS_x \sin(\omega_S t_1)$



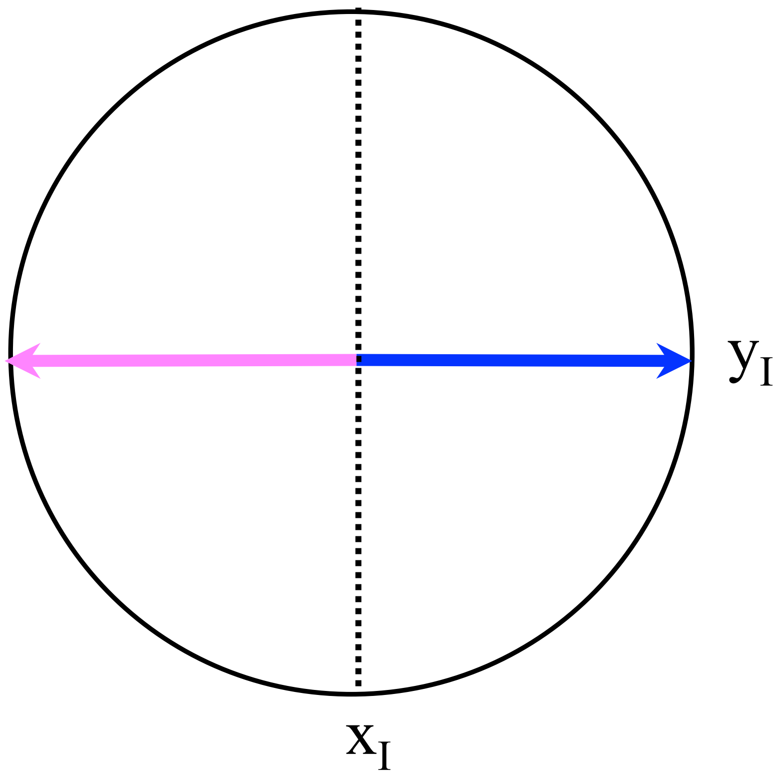


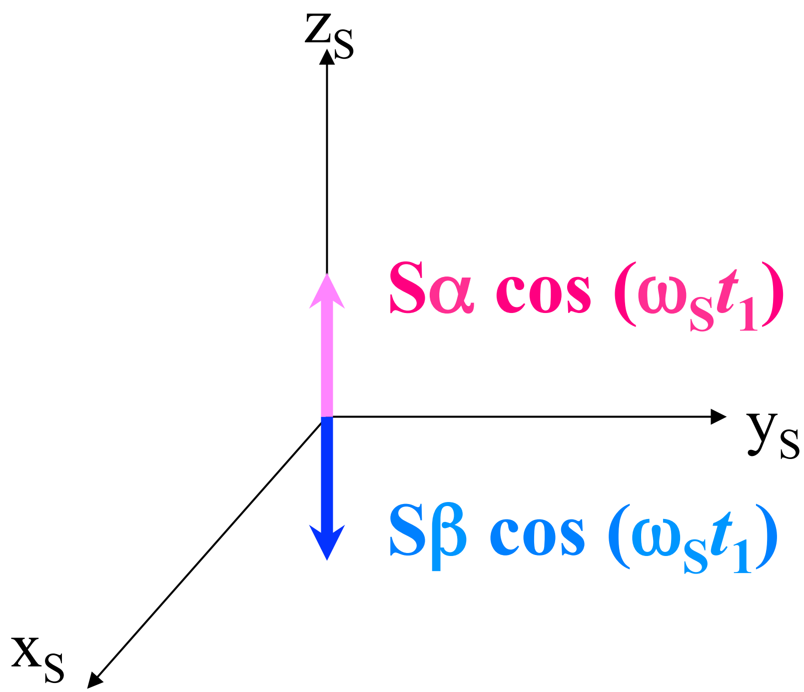


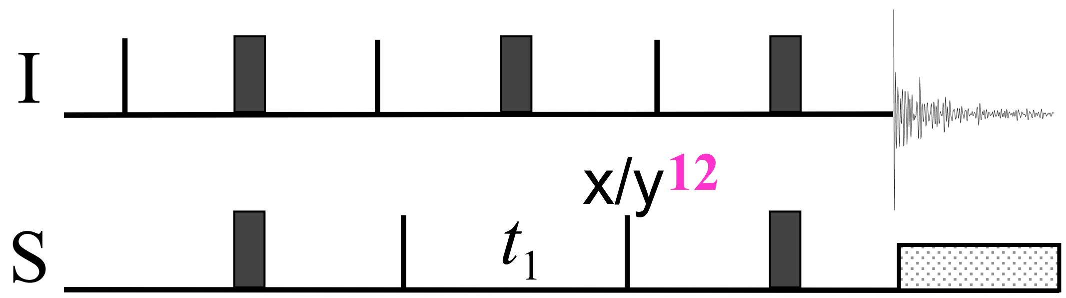
12 $-2I_yS_z \cos(\omega_S t_1)$

$\cancel{+2I_yS_x \sin(\omega_S t_1)}$

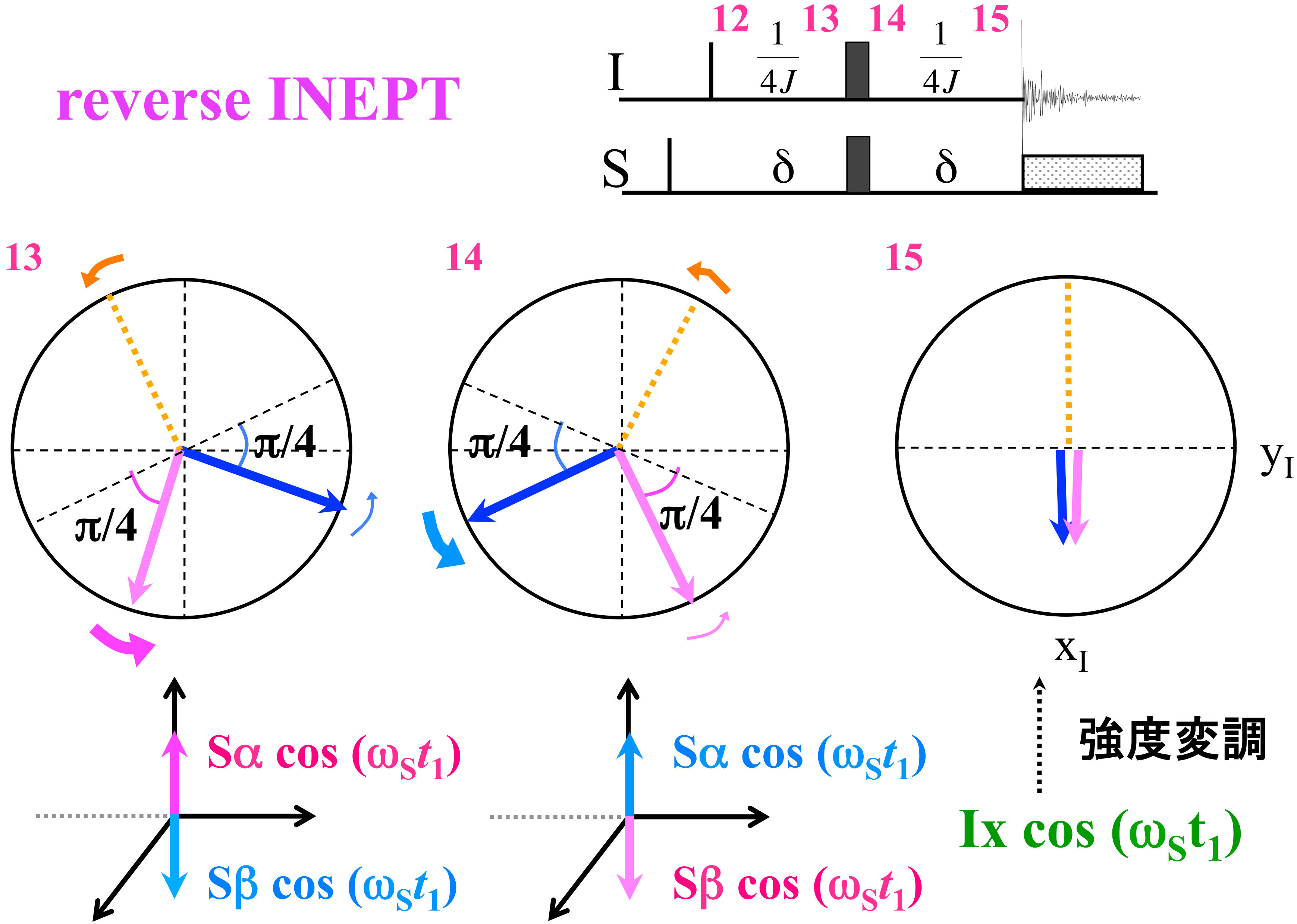
MQ なので観測出来ない
位相回しなどで消してしまう
次は S への 90y パルスで選択する







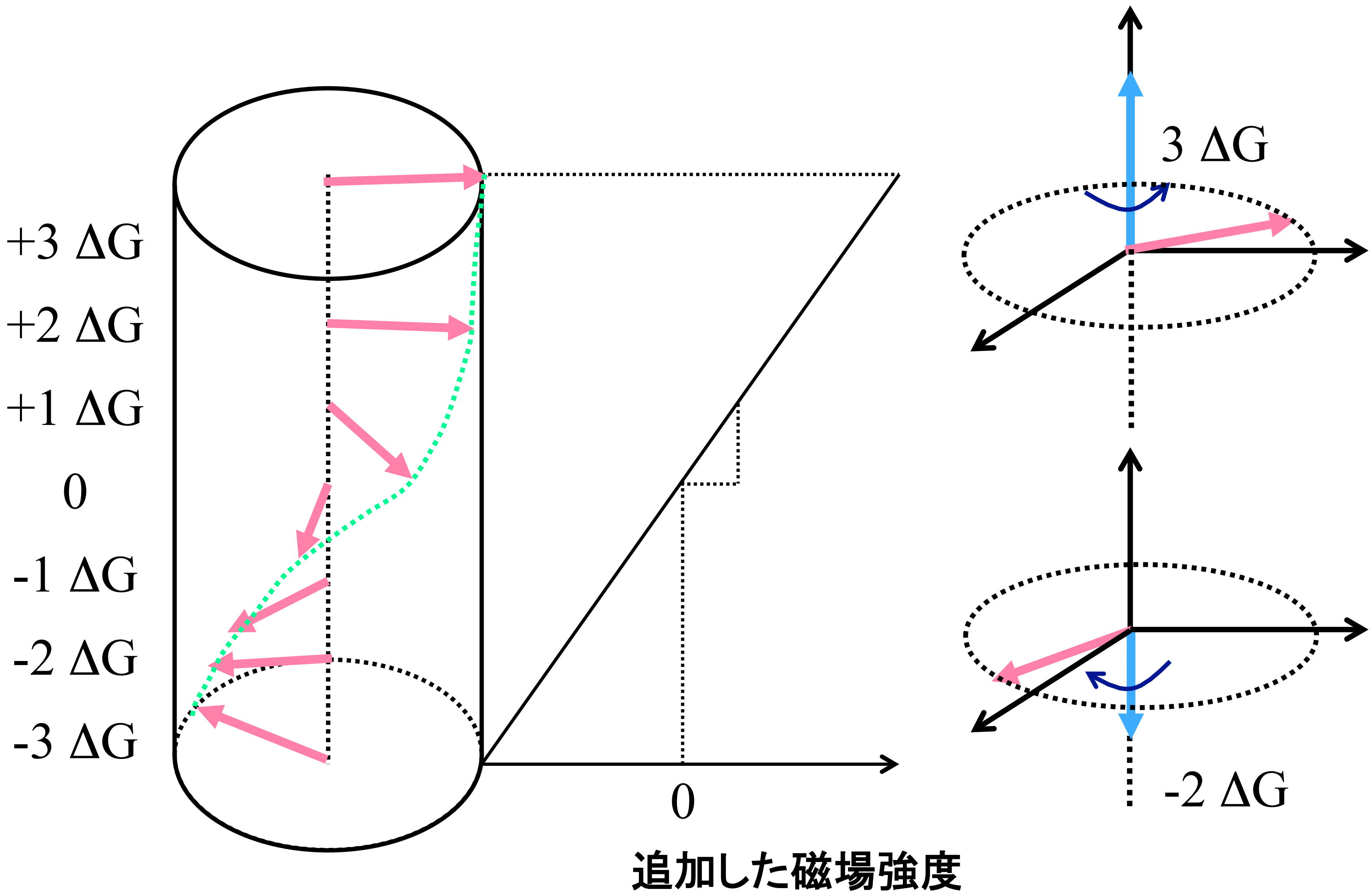
reverse INEPT



傾斜磁場勾配パルス
--- pulsed field gradient ---

$$\phi(t) = \gamma B_0 t \;+\; \gamma \int_0^t G(\tau) z(\tau) d\tau$$

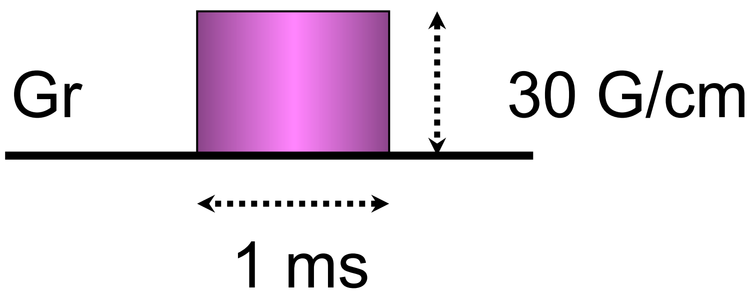
Z 方向沿いのパルス - gradient -

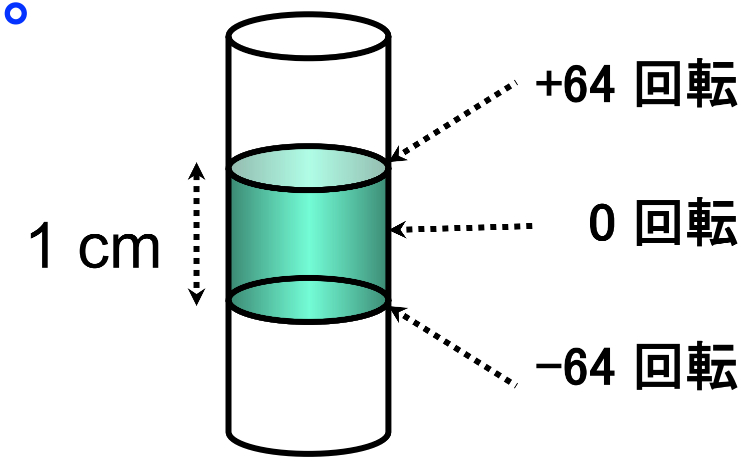


（例）傾斜磁場勾配(gradient)パルスをかける

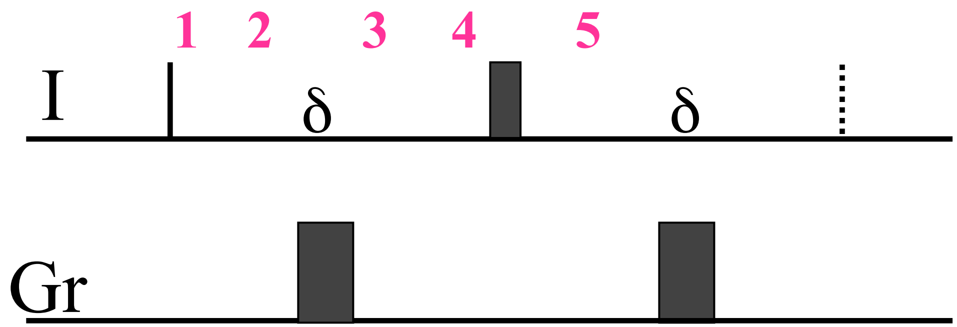
30 G/cm for 1 ms (矩形波パルス)
30 G = 0.003 T
0.003 T * (100 MHz / 2.34866 T) = 0.1277 MHz (^{1}H)
0.1277 MHz * 1 ms = 128 回転 (/cm)

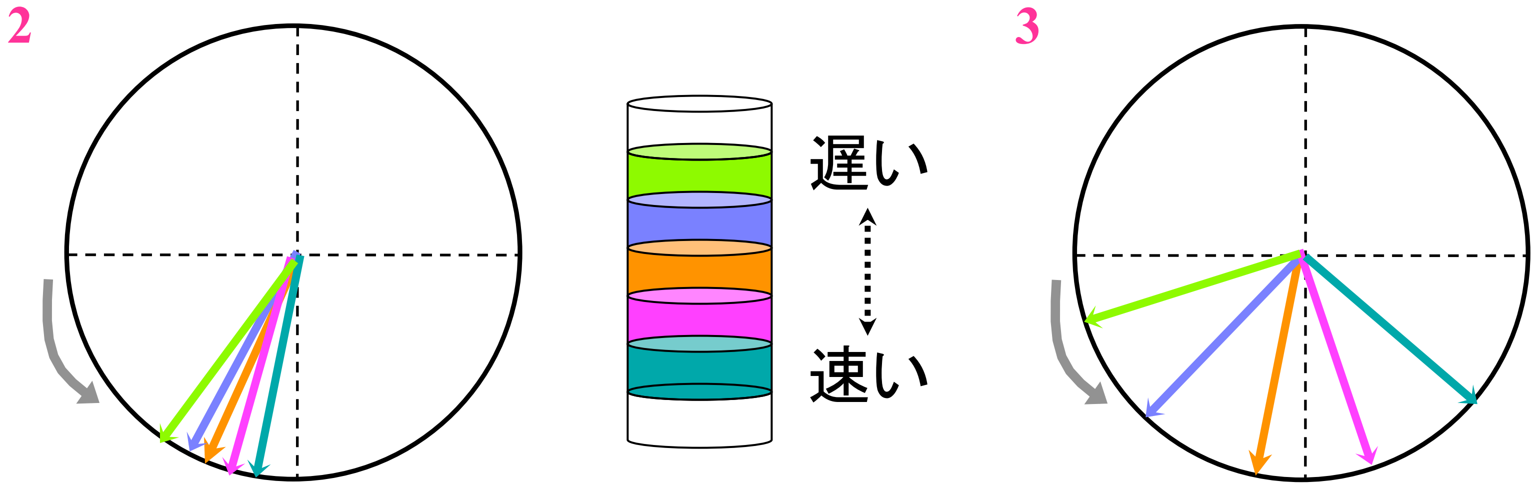
1 ミリ秒後には、試料管の上下 1cm の間で、
128 回転の差が出来ている。





Gradient-echo (1)

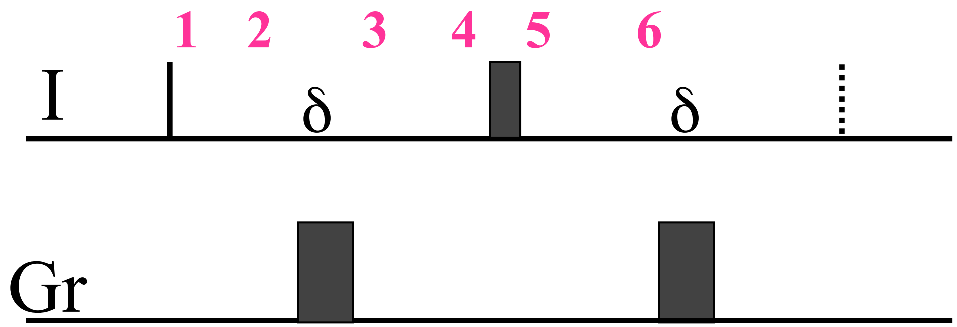


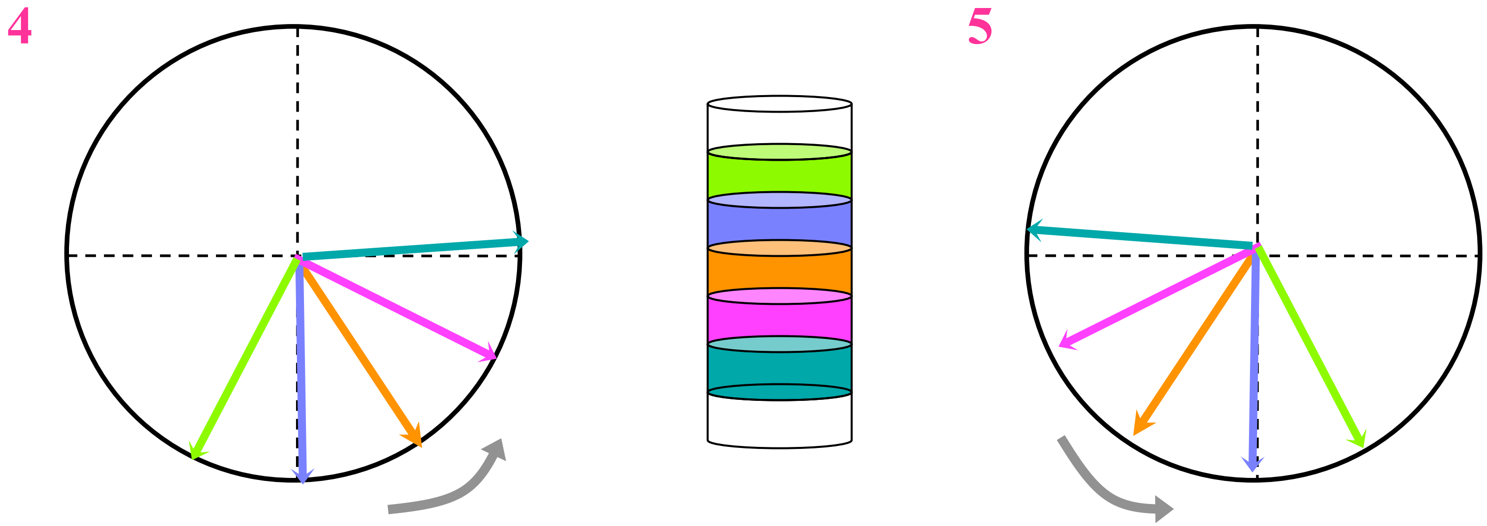


実際は揃っているとする

同じ共鳴の磁化でも
扇のように広がってしまう。

Gradient-echo (2)

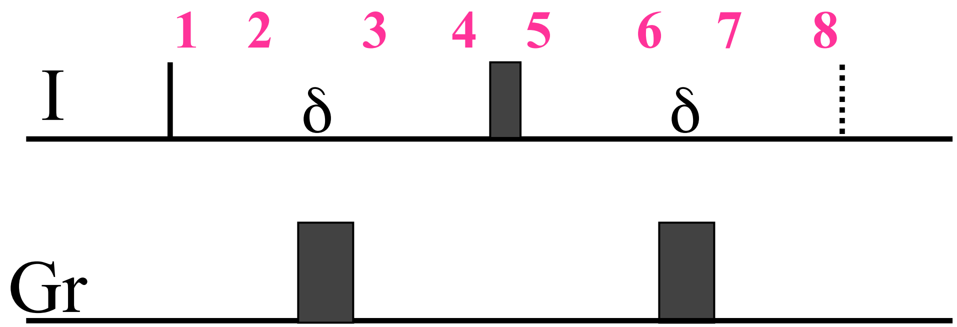


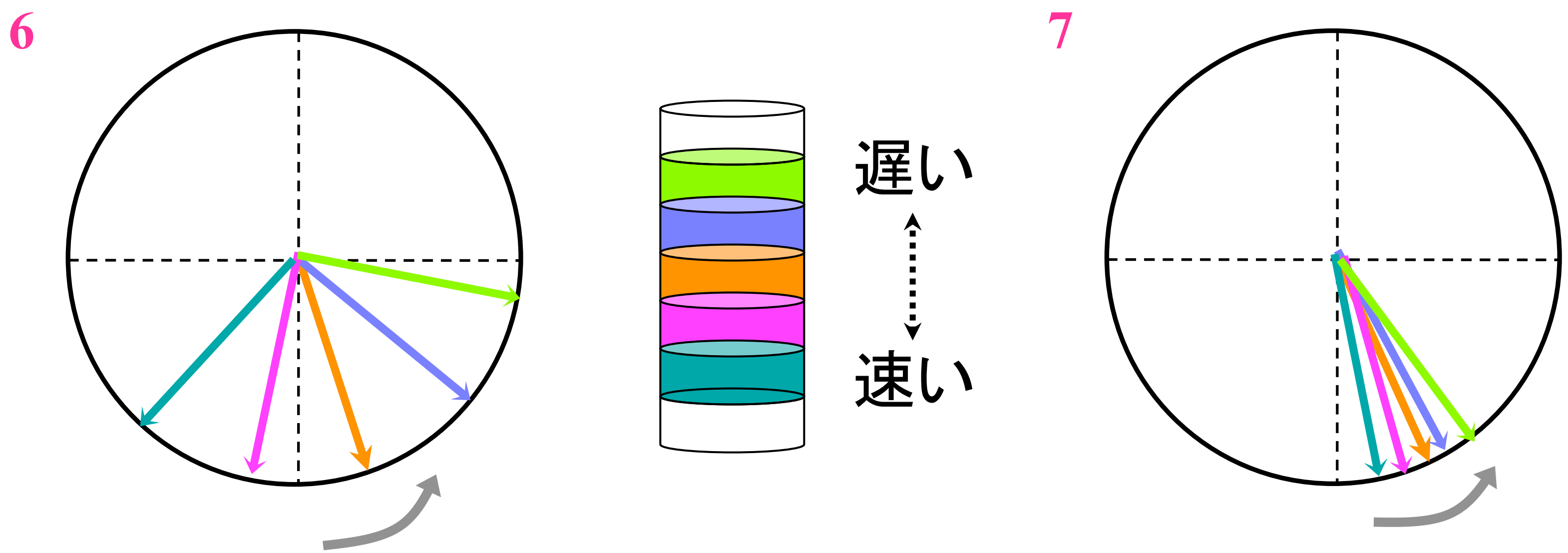


扇の広がり度合いは固定したまま
化学シフトで展開する。

反転する。

Gradient-echo (3)

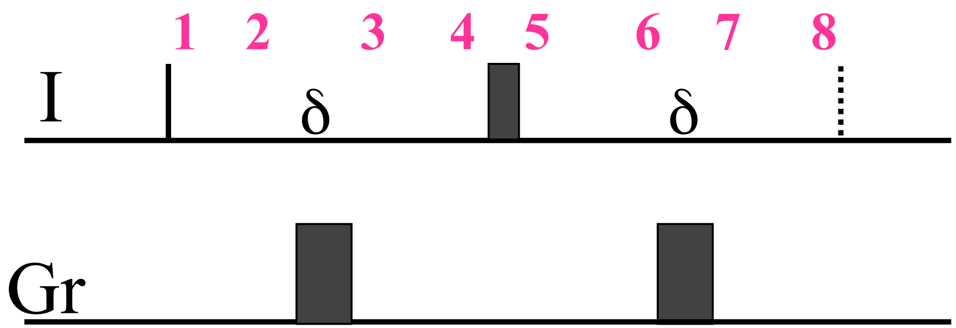


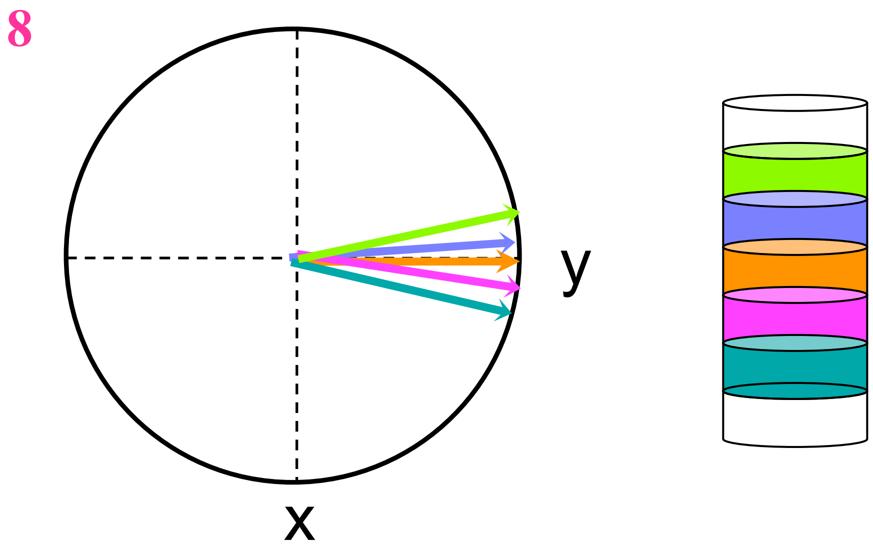


扇の広がり程度は固定したまま
化学シフトで展開する。

扇の広がりが閉じる。

Gradient-echo (4)





δ の中のどの時間に
Gr を打ってもよい。

磁化が揃ったまま +y 方向に行き着く。

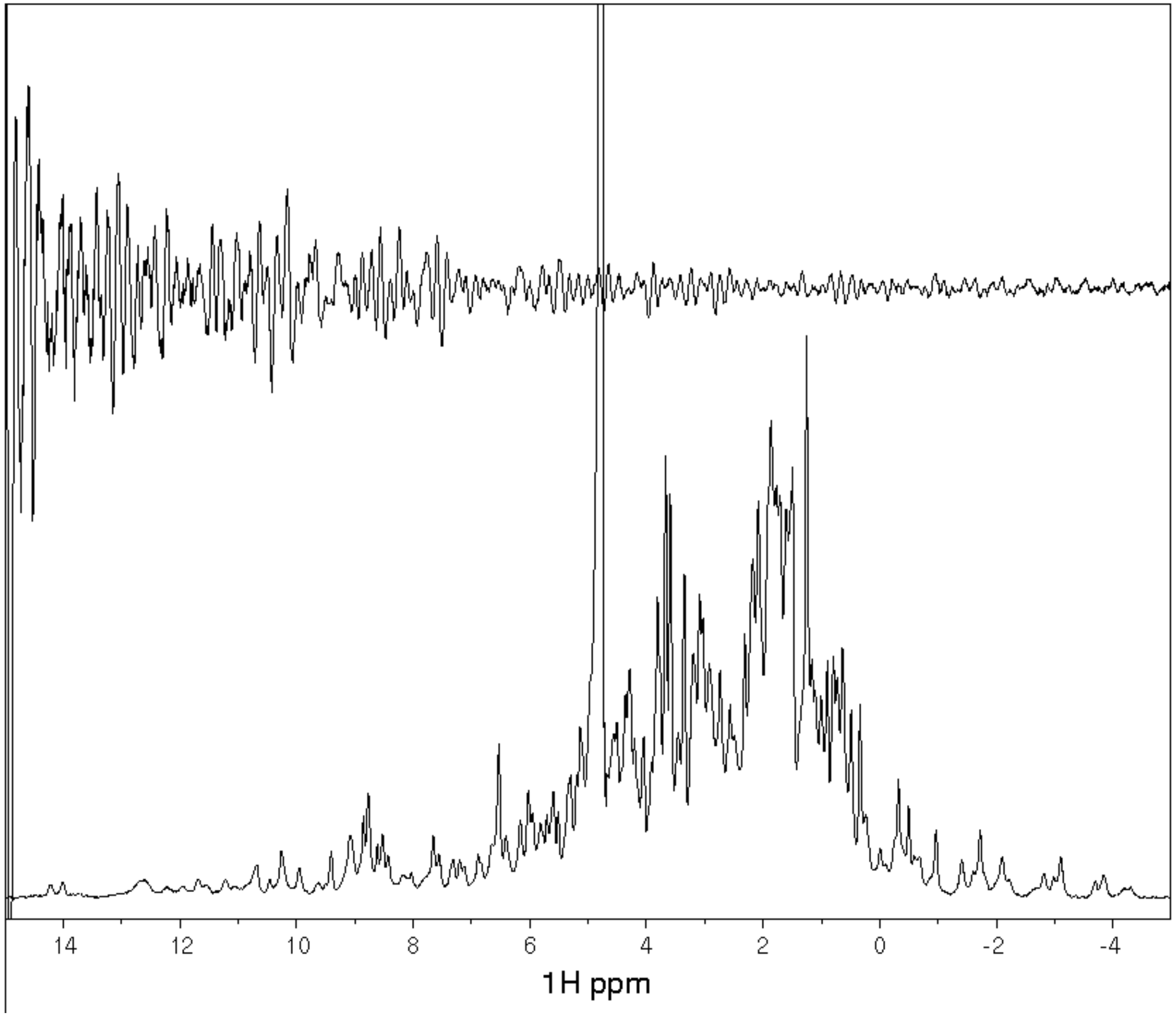
フーリエ変換

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t)\exp(-i\omega t)dt$$

1768-1830 フランスの数学、物理学者

1789年 フランス革命に遭遇
ナポレオンに随行してエジプトに遠征
ロゼッタ・ストーンを発見

FID をフーリエ変換すると、NMR スペクトルになる

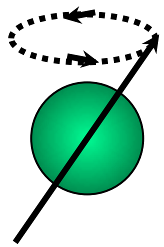


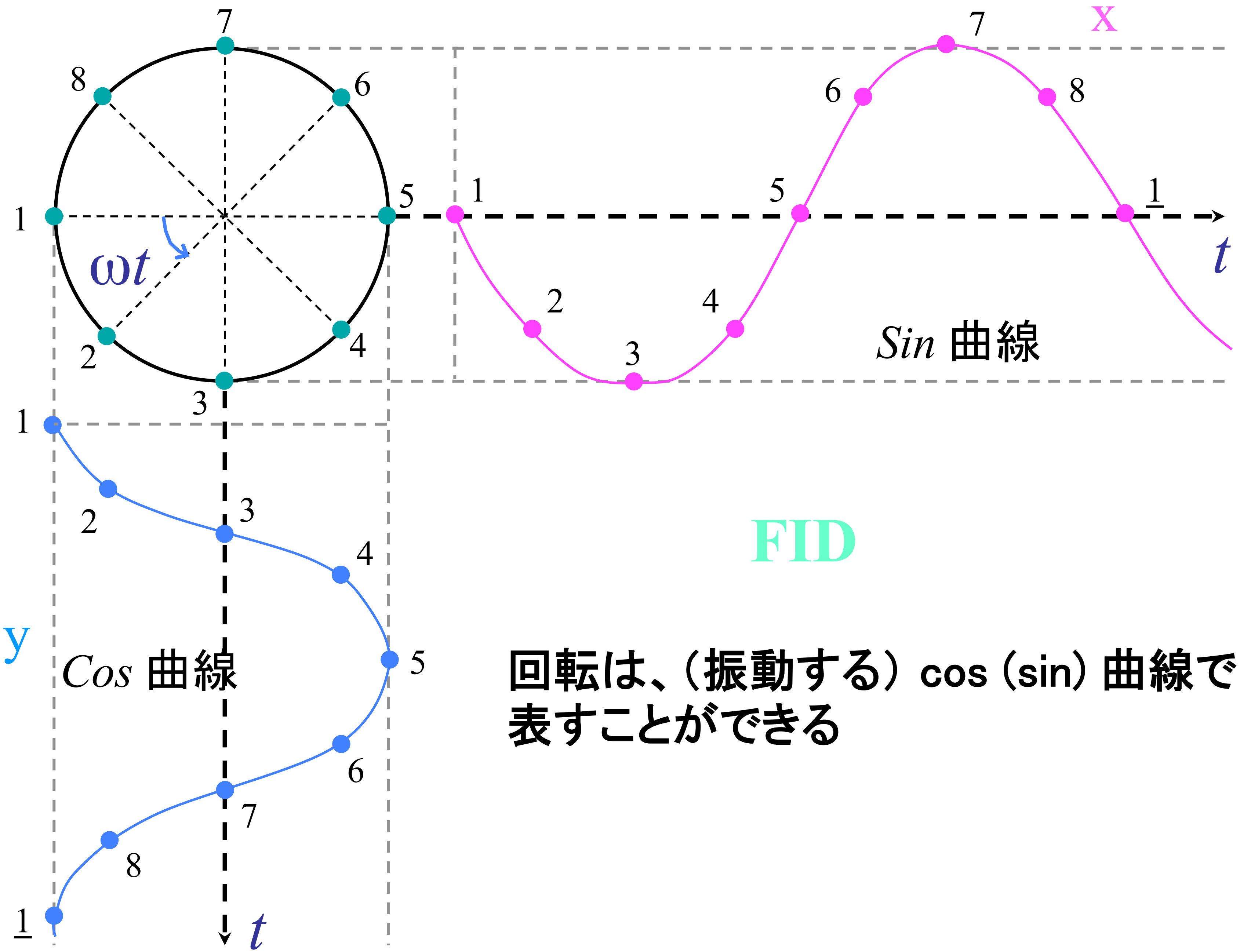
FID
（時間軸データ）

フーリエ変換後

スペクトル
（周波数軸データ）

^{1}H スピンの回転速度を表す

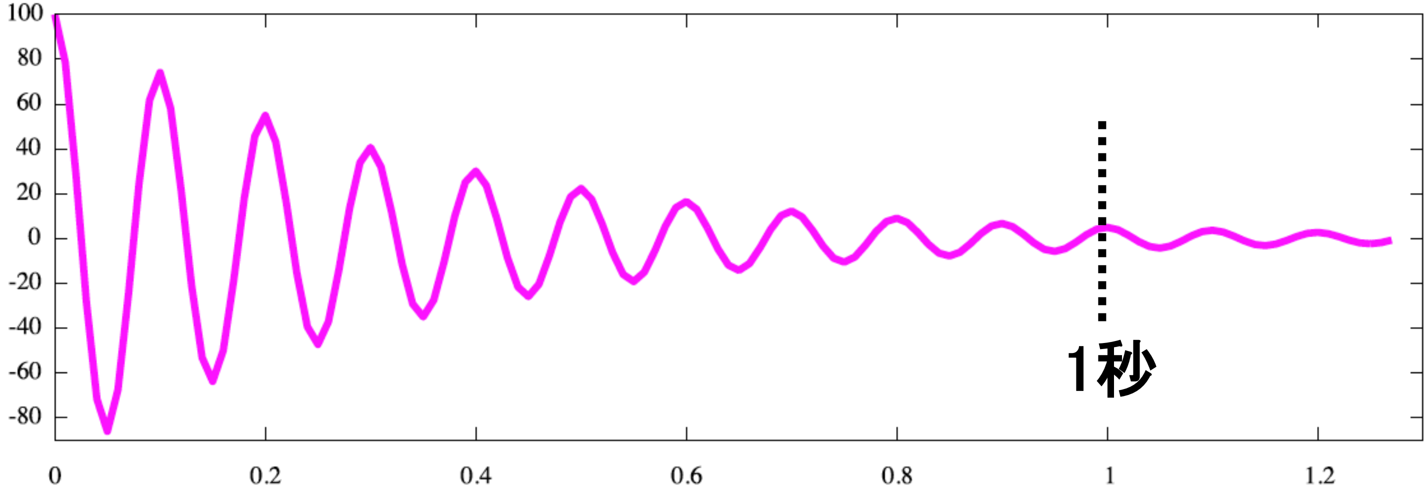


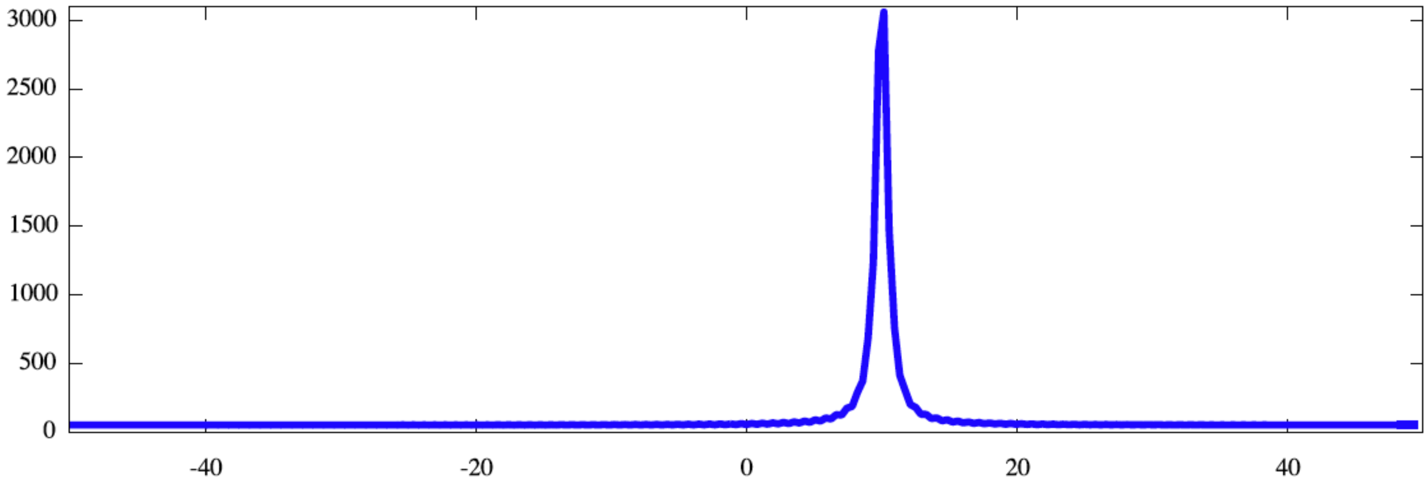


FID

回転は、（振動する）cos（sin）曲線で表すことができる

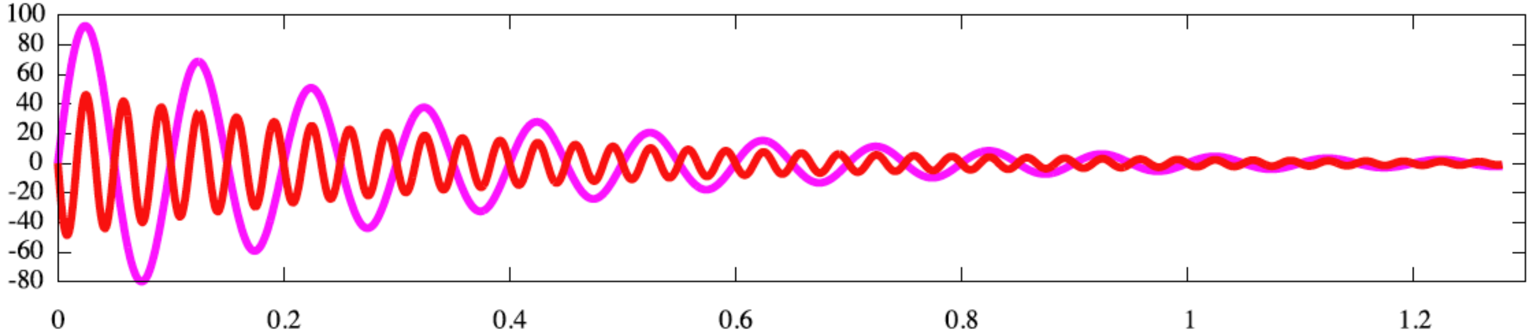
1秒間に 10 回転していたら ....

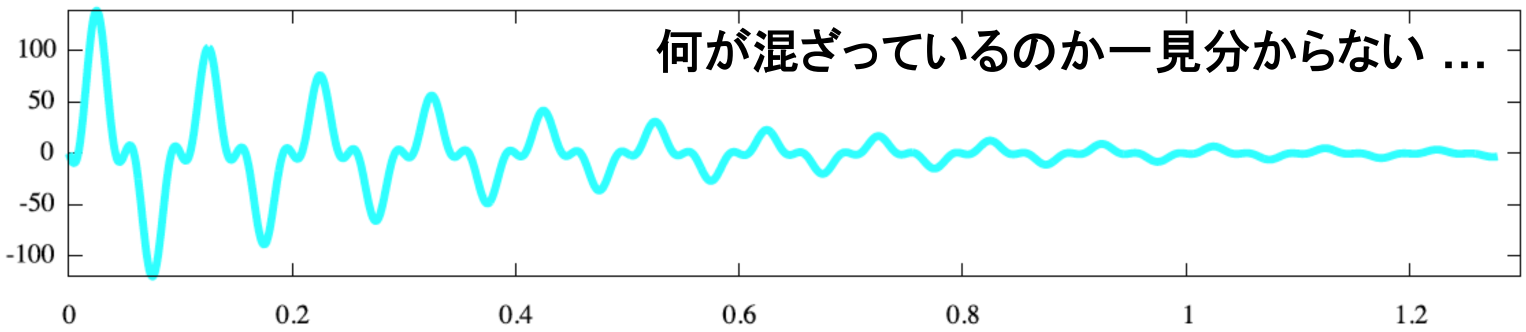


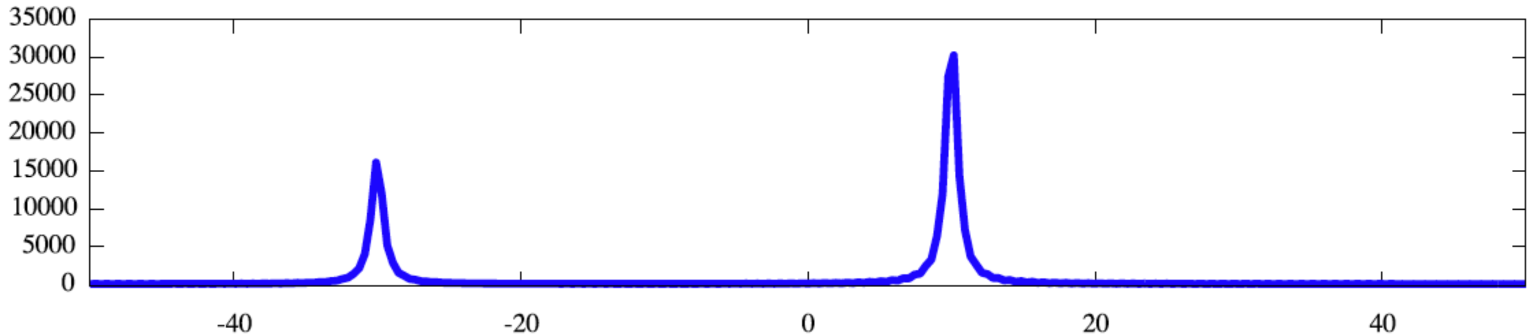


10 Hz の位置にピークが出た。

もう一つ、1秒間に 30 回、しかも、逆向きに回転していたら ....



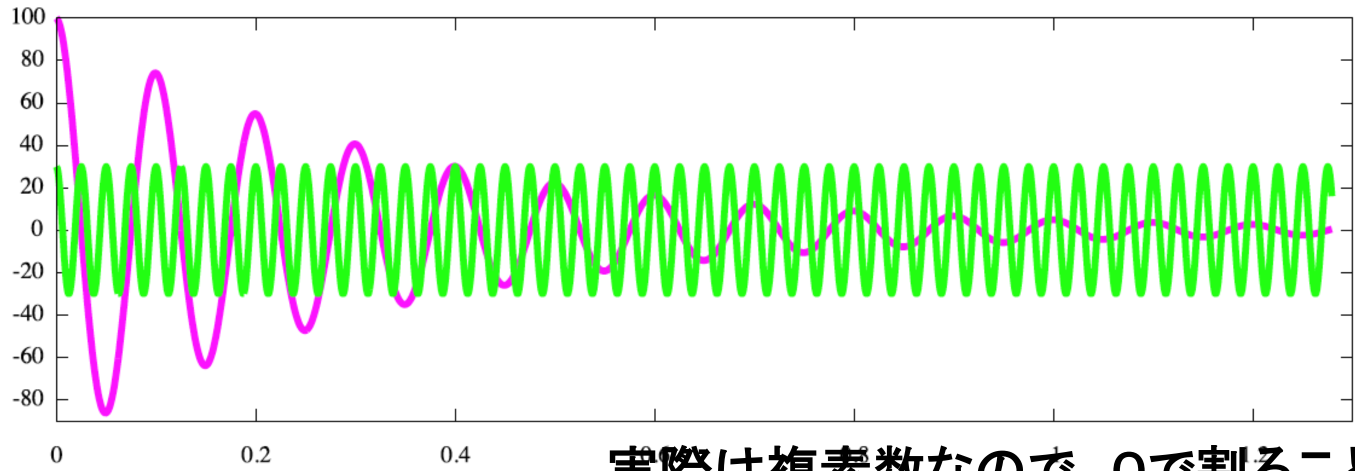




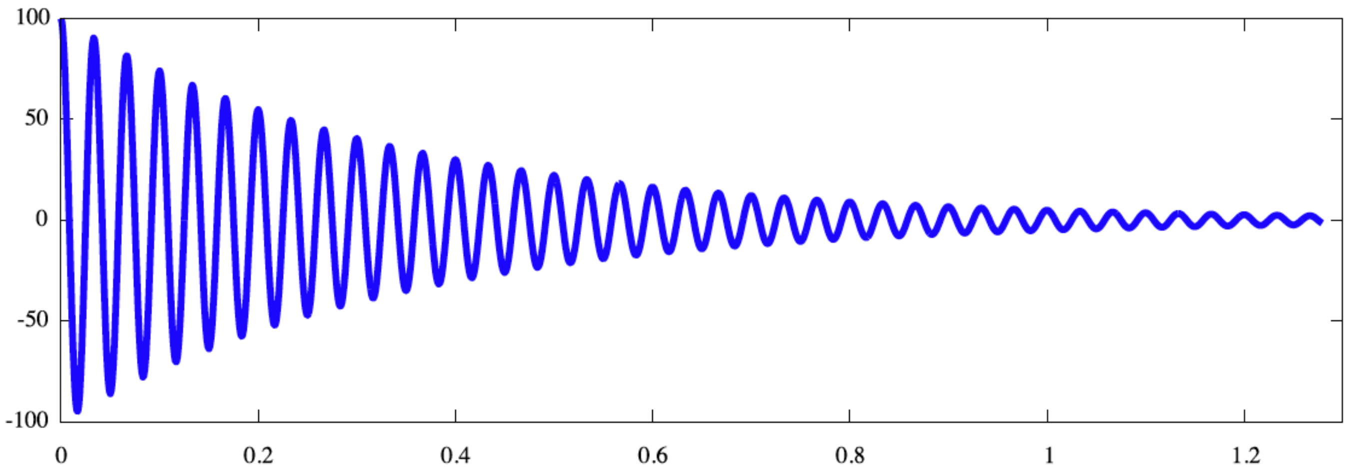
10 Hz と −30Hz の位置にピークが出た。
周波数だけでなく、大きさまで、きっちりと分けれた！

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t)\exp(-i\omega t)\,dt = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{S(t)}{\exp(i\omega t)}\,dt$$

では、試しに *exp* (*i* ∗ 40 ∗ *t*) で割ってみよう。



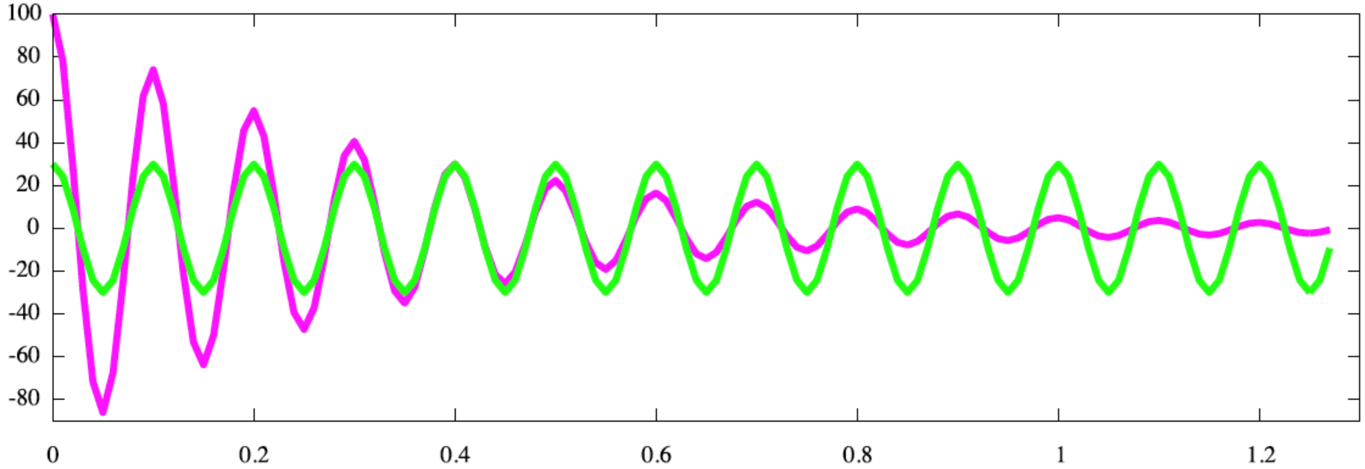
実際は複素数なので、0で割ることはない。

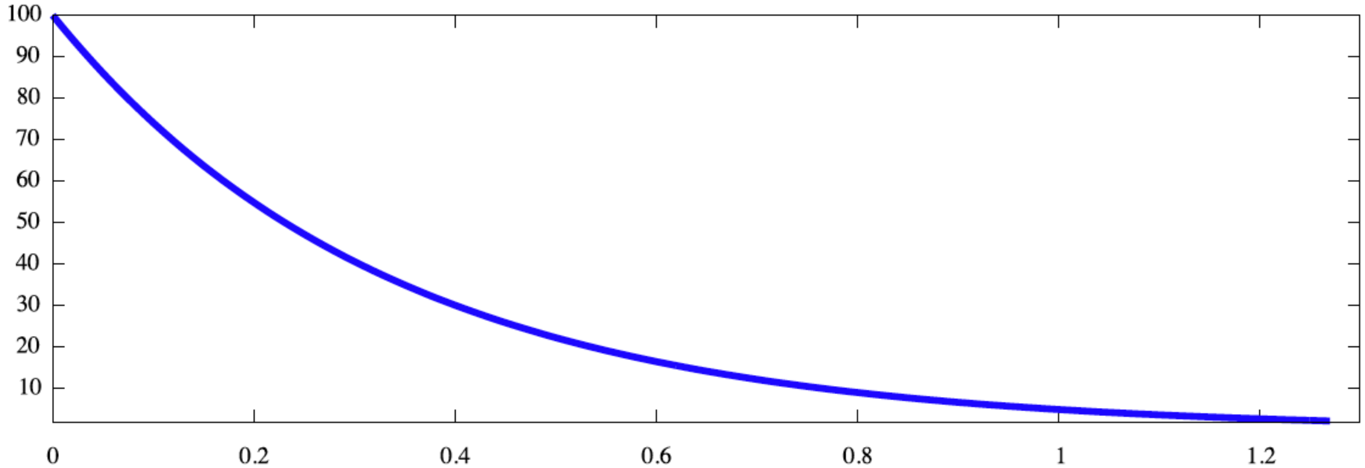


端から端まで足し合わせると0になるから、40 Hz は間違いのようだ。

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t)\exp(-i\omega t)\,dt = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{S(t)}{\exp(i\omega t)}\,dt$$

今度は、実際に *exp* (*i* ∗ 10 ∗ *t*) で割ってみよう。

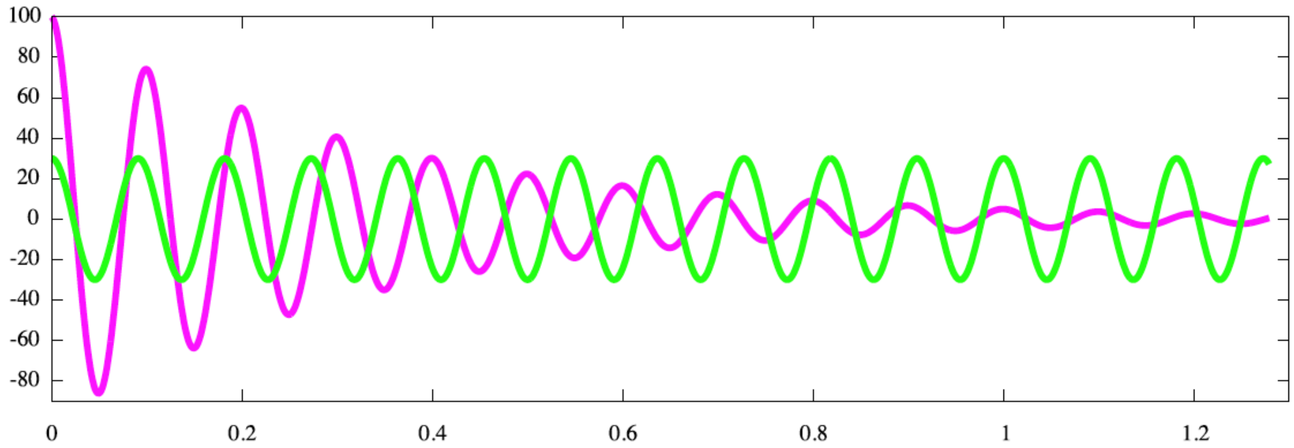


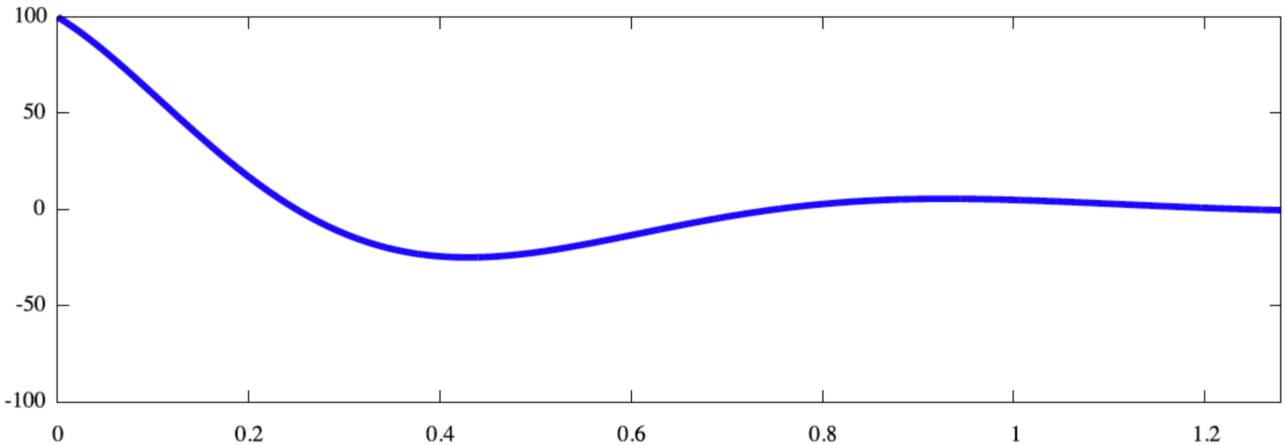


端から端まで足し合わせても0ではないから、10 Hz が正しいようだ。

$$S(\omega)=\int_{-\infty}^{\infty}S(t)\exp(-i\omega t)dt=\int_{-\infty}^{\infty}\frac{S(t)}{\exp(i\omega t)}dt$$

では、*exp* (*i* ∗ 11 ∗ *t*) で割ったら、どうなるのだろう？

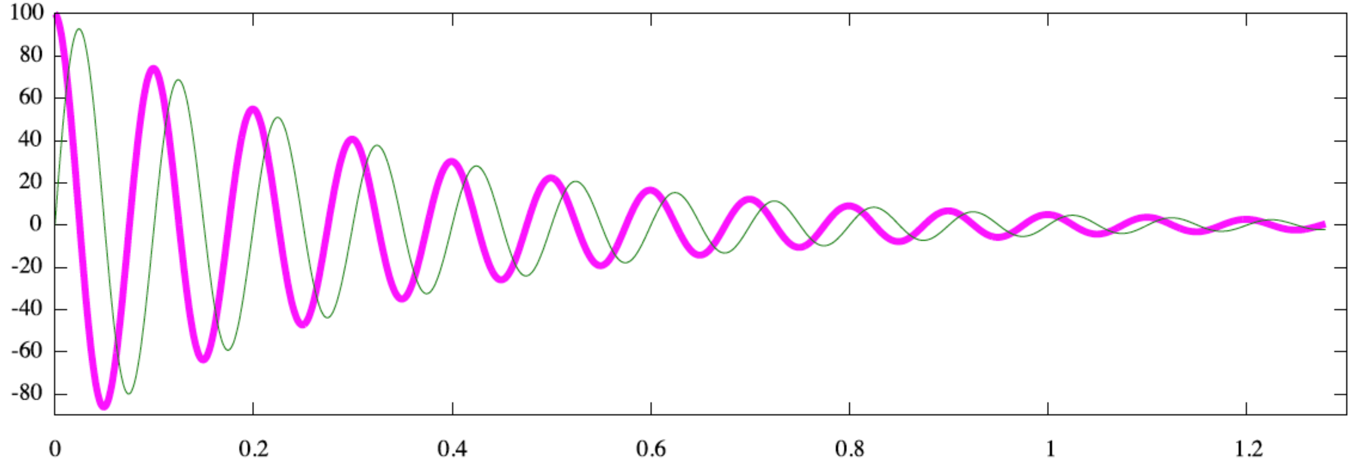


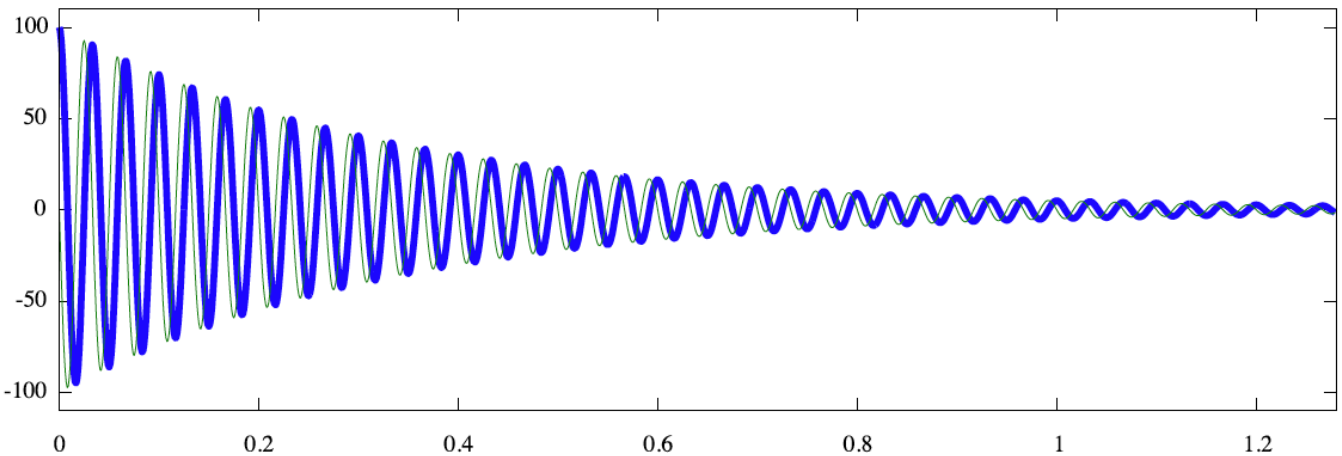


微妙 … 減衰していなければ0になるのだが。

$$S(\omega)=\int_{-\infty}^{\infty}S(t)\exp(-i\omega t)dt=\int_{-\infty}^{\infty}S(t)\exp(i(-\omega)t)dt$$

それでは、毎秒 40 回転で巻き戻してみよう。

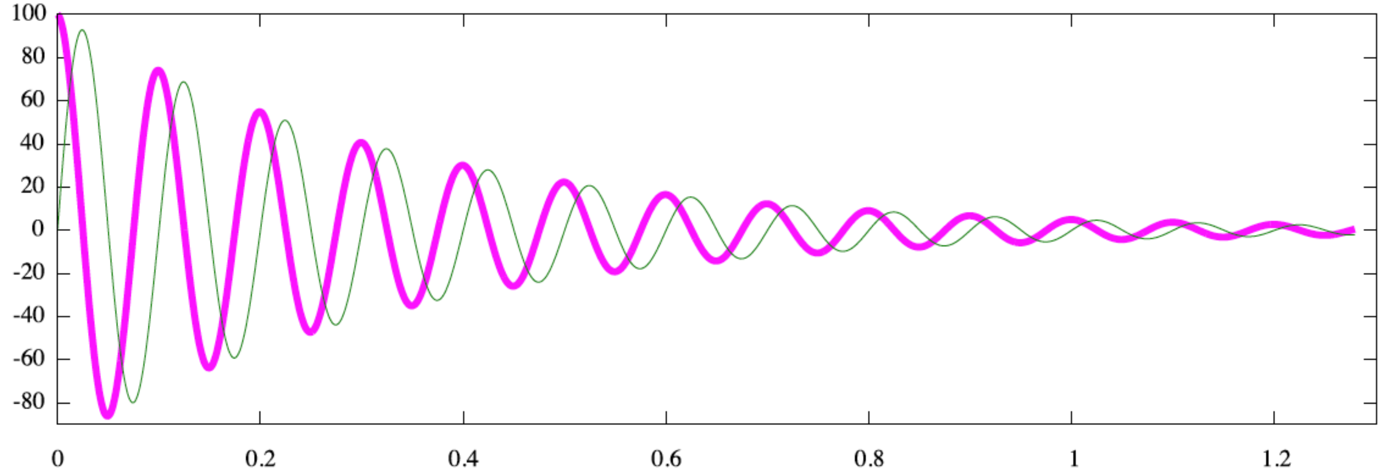


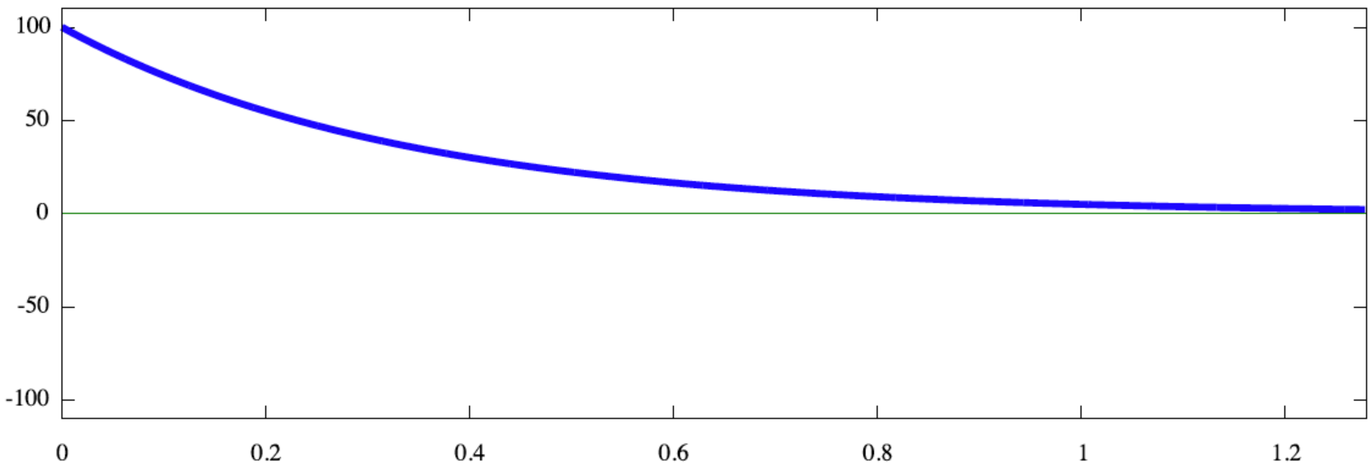


***exp* (*i* ∗ 40 ∗ *t*) で割ることは、40 Hz で巻き戻すことと同じだ。**

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t)\exp(-i\omega t)dt = \int_{-\infty}^{\infty} S(t)\exp(i(-\omega)t)dt$$

毎秒 10 回転で巻き戻してみれば …





振動が消え去って、積分値（面積）は0でなくなった。

双曲子双曲子相互作用のハミルトニアン

$$\wp_d = \frac{\gamma_I \gamma_S \hbar^2}{r^3}\left(A + B + C + D + E + F\right)$$

$$A = I_Z S_Z \left(1 - 3\cos^2\theta\right)$$

$$B = -\frac{1}{4}\left(I^+ S^- + I^- S^+\right)\left(1 - 3\cos^2\theta\right)$$

$$C = -\frac{3}{2}\left(I^+ S_Z + I_Z S^+\right) sin\theta \cos\theta \exp\left(-i\varphi\right)$$

$$D = -\frac{3}{2}\left(I^- S_Z + I_Z S^-\right) sin\theta \cos\theta \exp\left(+i\varphi\right)$$

$$E = -\frac{3}{4} I^+ S^+ sin^2\theta \exp\left(-2i\varphi\right)$$

$$F = -\frac{3}{4} I^- S^- sin^2\theta \exp\left(+2i\varphi\right)$$

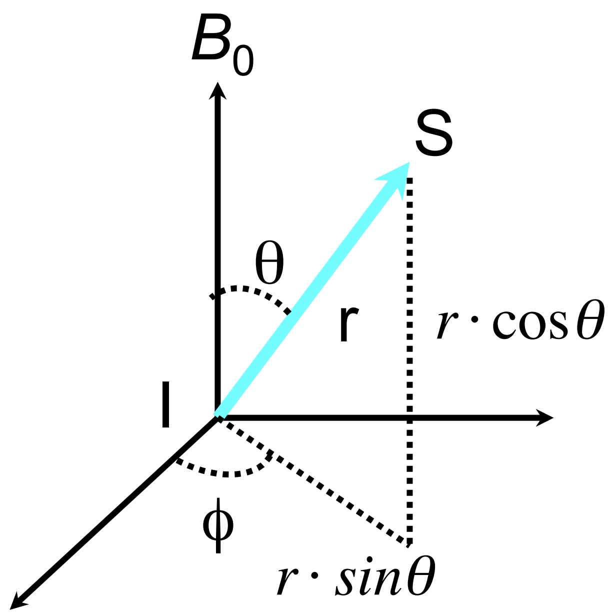
$$\wp_d = \left[\frac{\vec{\mu}_I}{r^3} - \frac{3(\vec{\mu}_I \cdot \vec{r})\vec{r}}{r^5}\right]\vec{\mu}_S$$

$$\vec{\mu}_I = \gamma_I \hbar \vec{I} = \gamma_I \hbar (I_X,\ I_Y,\ I_Z) = \gamma_I \hbar \left(\frac{I^+ + I^-}{2},\ \frac{I^+ - I^-}{2i},\ I_Z\right)$$

$$\vec{r} = (r \cdot sin\theta \cdot \cos\varphi,\ r \cdot sin\theta \cdot sin\varphi,\ r \cdot \cos\theta)$$

$$I^+ = I_X + iI_Y$$

$$I^- = I_X - iI_Y$$

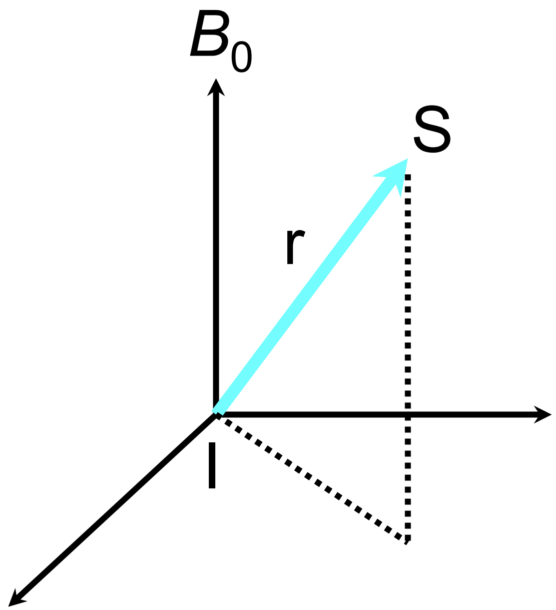


$$\wp_d = \frac{\gamma_I \gamma_S \hbar^2}{r^3}(A + B + C + D + E + F)$$

Zeeman 相互作用の場合は

$$\wp_z = -\vec{B}_0 \bullet \vec{\mu}_S$$

μ_s は B_o の周りを歳差運動する



同様に、dipole−dipole 相互作用の場合は

$$\wp_d = -\left[-\frac{\vec{\mu}_I}{r^3} + \frac{3(\vec{\mu}_I \cdot \vec{r})\vec{r}}{r^5} \right] \bullet \vec{\mu}_S$$

μ_s は、 $D_I = \left[-\frac{\vec{\mu}_I}{r^3} + \frac{3(\vec{\mu}_I \cdot \vec{r})\vec{r}}{r^5} \right]$ の周りを歳差運動する

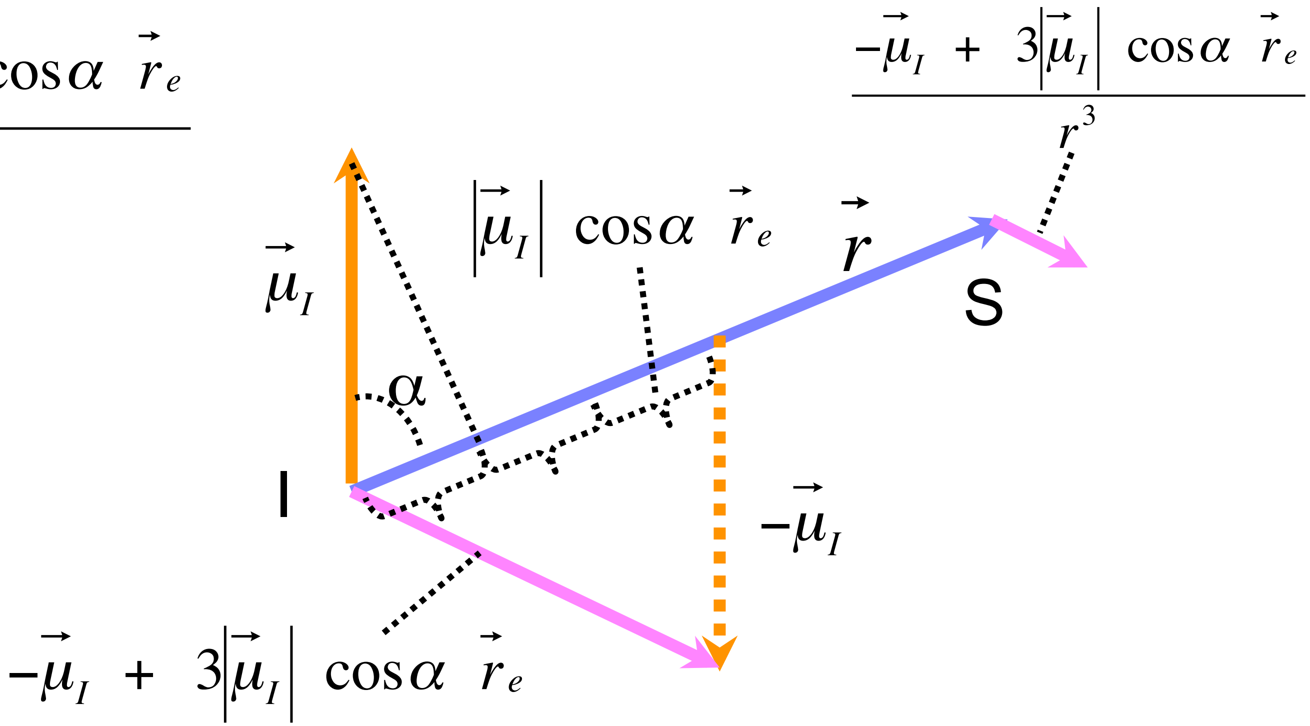
スピン μ_I からの局所磁場の方向

$$D_I = \left[-\frac{\vec{\mu}_I}{r^3} + \frac{3(\vec{\mu}_I \cdot \vec{r})\vec{r}}{r^5} \right]$$

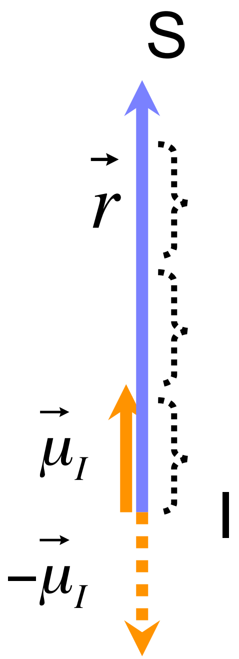
$$= -\frac{\vec{\mu}_I}{r^3} + \frac{3\left(\left|\vec{\mu}_I\right| \; r \; \cos\alpha\right) \; r \; \vec{r}_e}{r^5}$$

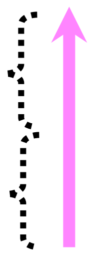
$$= \frac{-\vec{\mu}_I \; + \; 3\left|\vec{\mu}_I\right| \; \cos\alpha \; \; \vec{r}_e}{r^3}$$

実際の大きさは r^3 で割った値



スピン μ_{I} と r が平行の時

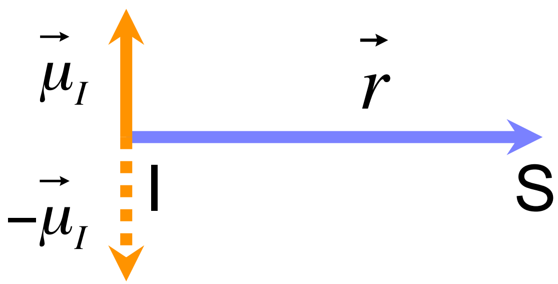


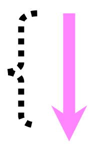


$$-\vec{\mu}_I + 3\left|\vec{\mu}_I\right| \cos\alpha \ \vec{r}_e = 2\vec{\mu}_I$$

$\alpha = 0$

スピン μ_{I} と r が直角の時

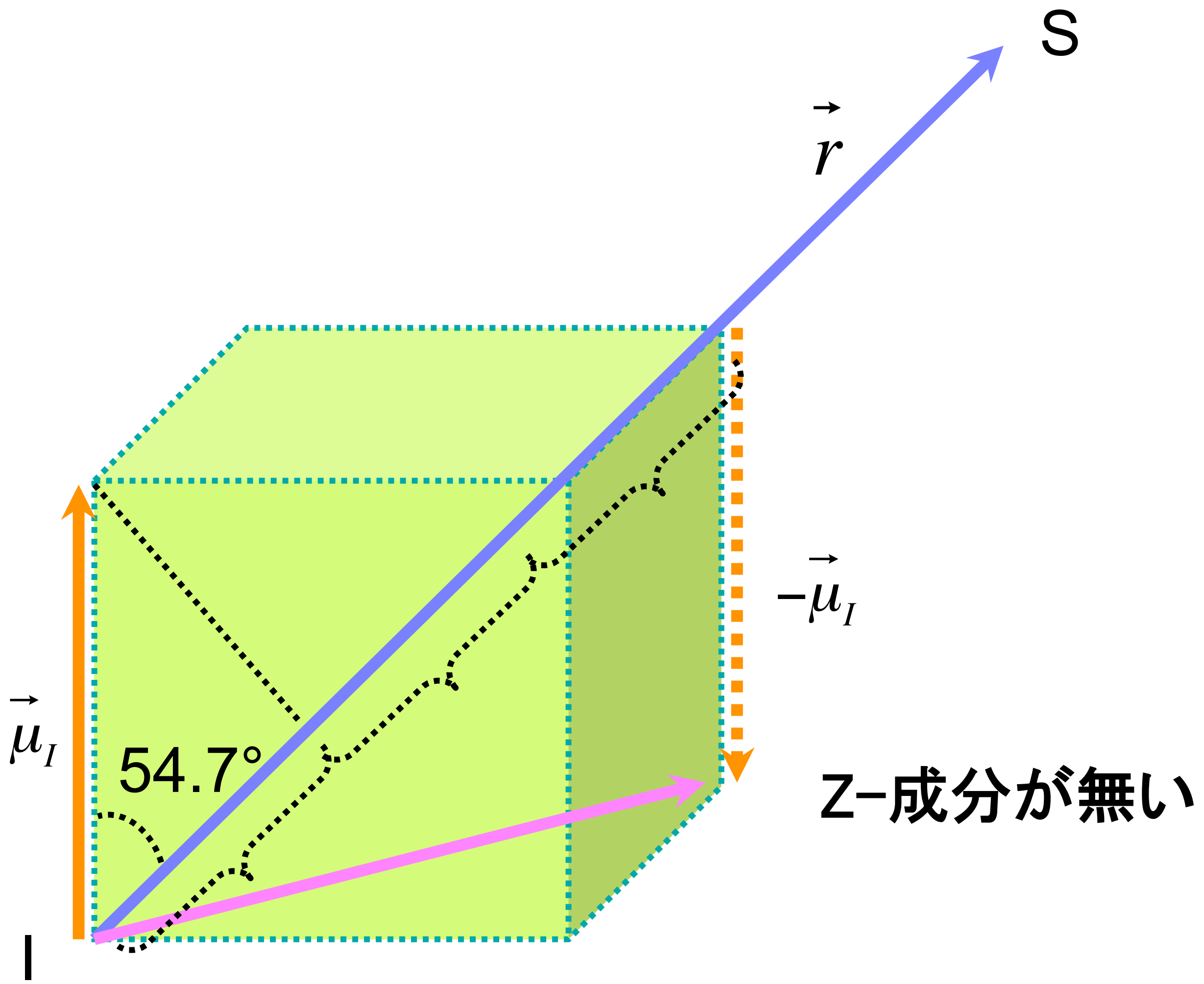




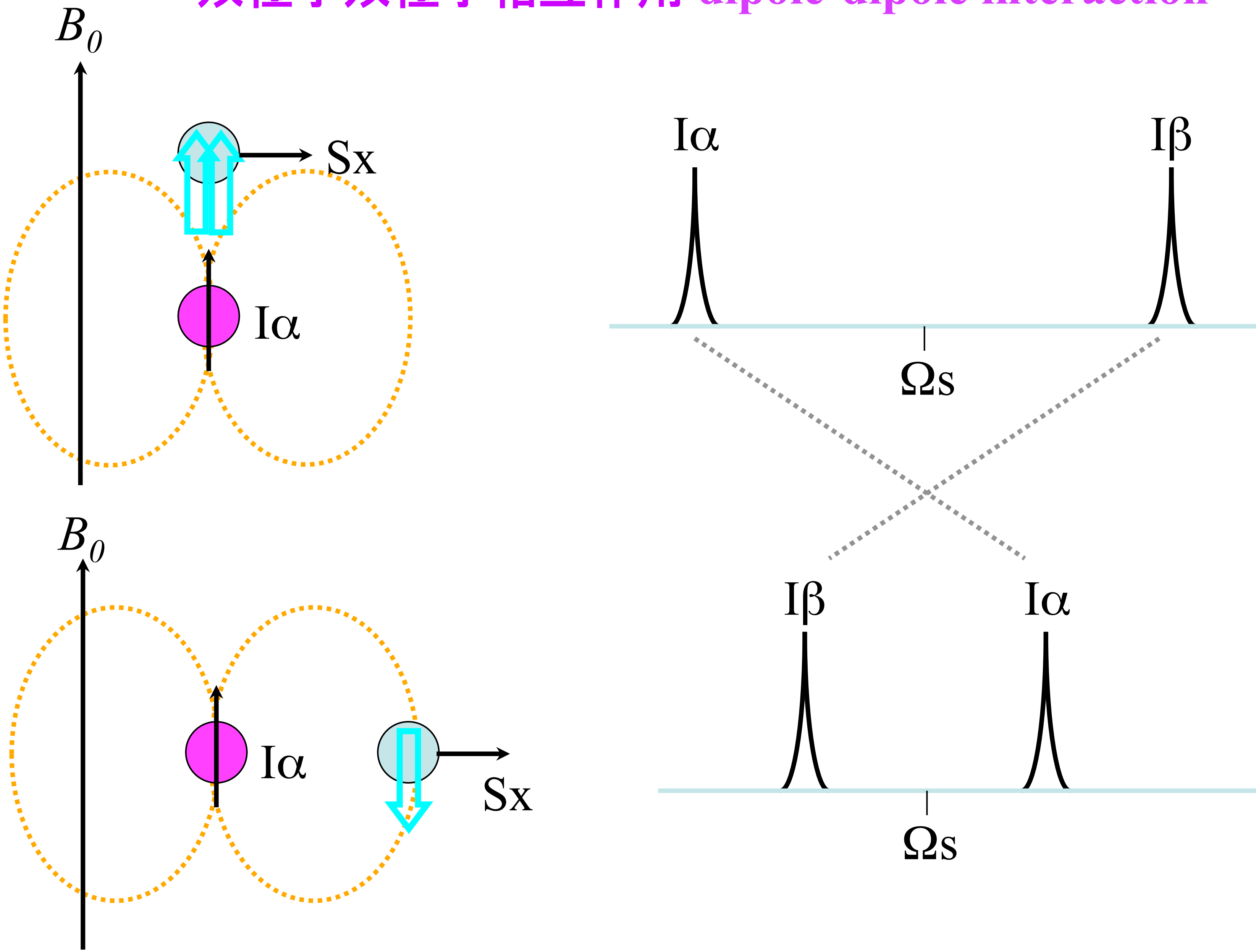
$$-\vec{\mu}_I + 3\left|\vec{\mu}_I\right| \cos\alpha \ \vec{r}_e = -\vec{\mu}_I$$

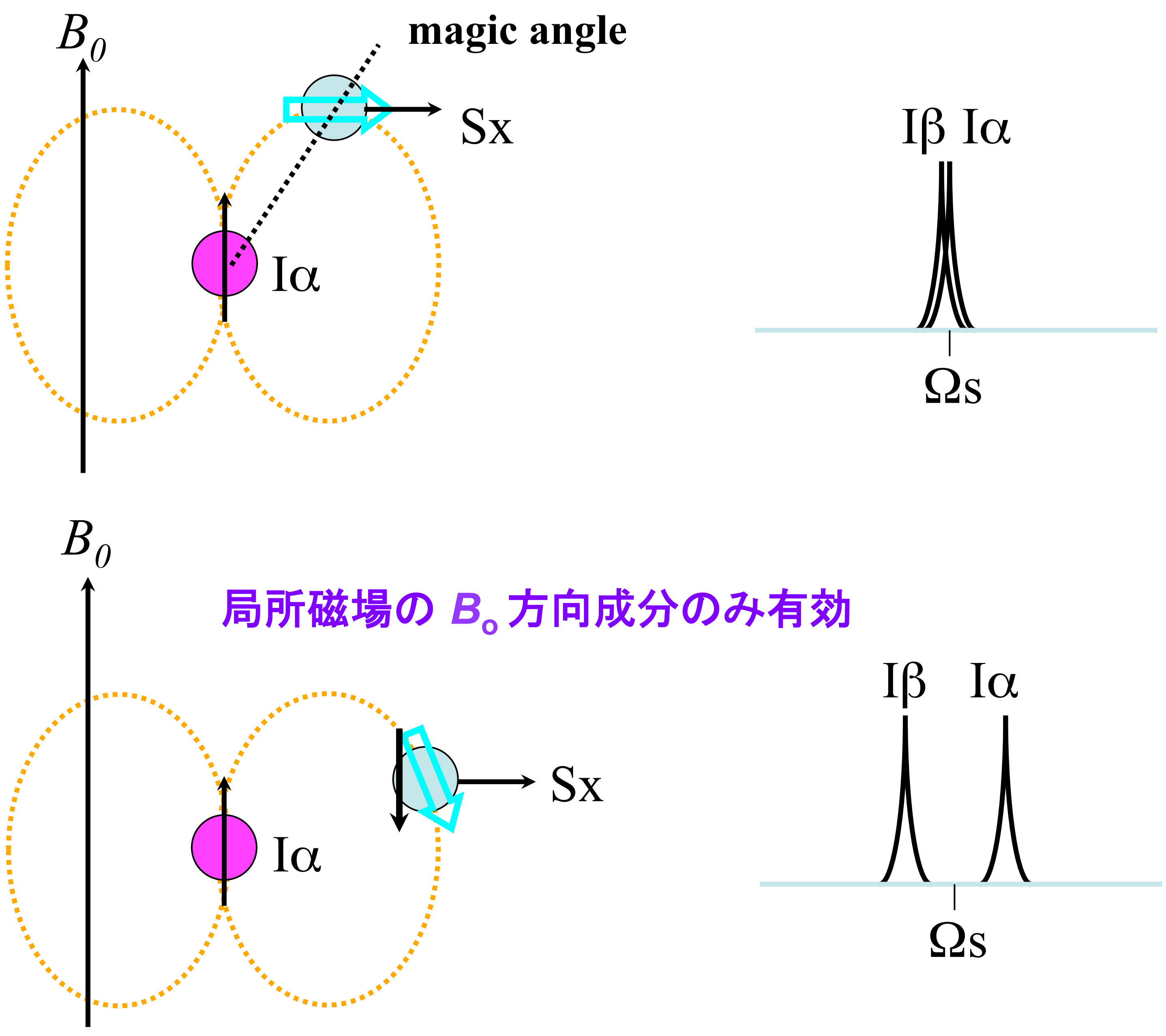
$\alpha = 90^\circ$

スピン μ_{I} と r が magic-角度の時



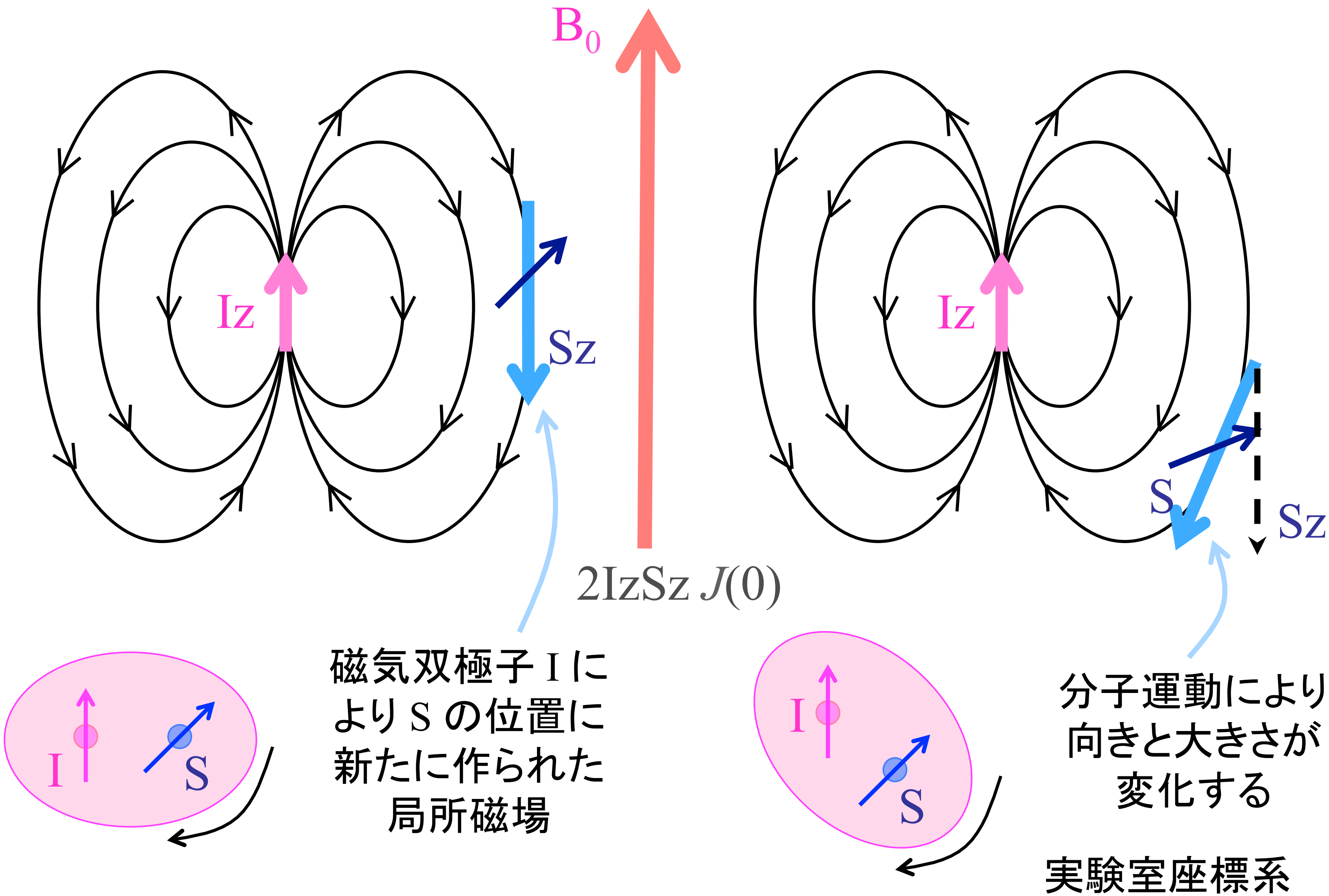
双極子双極子相互作用 dipole-dipole interaction





B0
magic angle
Sx
Iα
Iβ Iα
Ωs
B0
局所磁場の Bo 方向成分のみ有効
Sx
Iα
Iβ Iα
Ωs

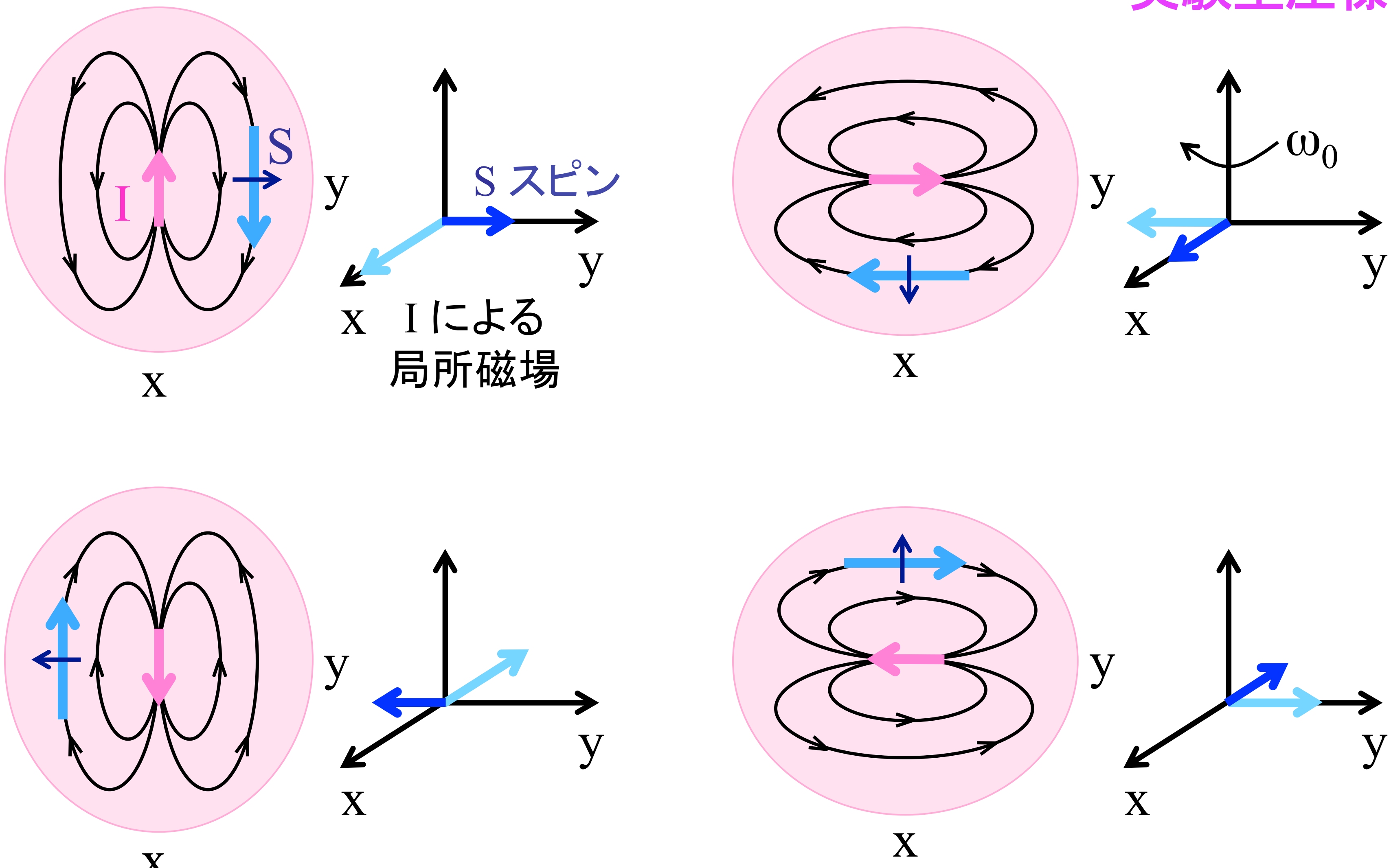
高分子の T_2 が短い（NMR が高分子に弱い）理由



分子があまり高速に回転しない方が T_2 パルスとして効く。

分子、I−スピン、Σ−スピンが同時に ω_0 で回転

実験室座標系



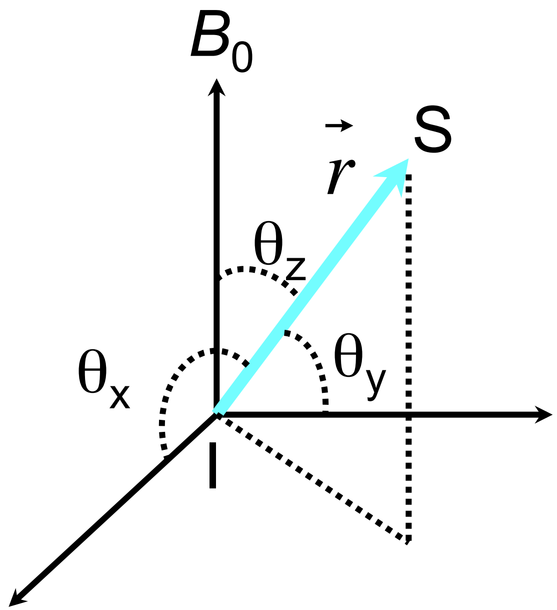
$2I^{+}S^{+}\, J\,(2\omega_0)$

実際は分子アンサンブルとして
の統計を考慮する必要がある。

$$\wp_d = \left[\frac{\vec{\mu}_I}{r^3} - \frac{3(\vec{\mu}_I \cdot \vec{r})\vec{r}}{r^5}\right]\vec{\mu}_S$$

$$\vec{\mu}_I = \gamma_I \hbar \vec{I} = \gamma_I \hbar (I_X,\ I_Y,\ I_Z)$$

$$\vec{r} = (r\cos\theta_X,\ r\cos\theta_Y,\ r\cos\theta_Z)$$



$$\wp_d = \frac{\gamma_I \gamma_S \hbar^2}{r^3}(\dots\dots)$$

$$+I_X S_X + I_Y S_Y + I_Z S_Z$$
$$-3 I_X S_X \cos\theta_X \cos\theta_X$$
$$-3 I_X S_Y \cos\theta_X \cos\theta_Y$$
$$-3 I_X S_Z \cos\theta_X \cos\theta_Z$$
$$-3 I_Y S_X \cos\theta_Y \cos\theta_X$$
$$-3 I_Y S_Y \cos\theta_Y \cos\theta_Y$$
$$-3 I_Y S_Z \cos\theta_Y \cos\theta_Z$$
$$-3 I_Z S_X \cos\theta_Z \cos\theta_X$$
$$-3 I_Z S_Y \cos\theta_Z \cos\theta_Y$$
$$-3 I_Z S_Z \cos\theta_Z \cos\theta_Z$$

注）θx = θy = 90, θz= 0 , Ix = Iy = 0 とすると、Zeeman 相互作用とよく似た式になる。

$$\wp_d = \frac{\gamma_I \gamma_S \hbar^2}{r^3}(\ldots\ldots)$$

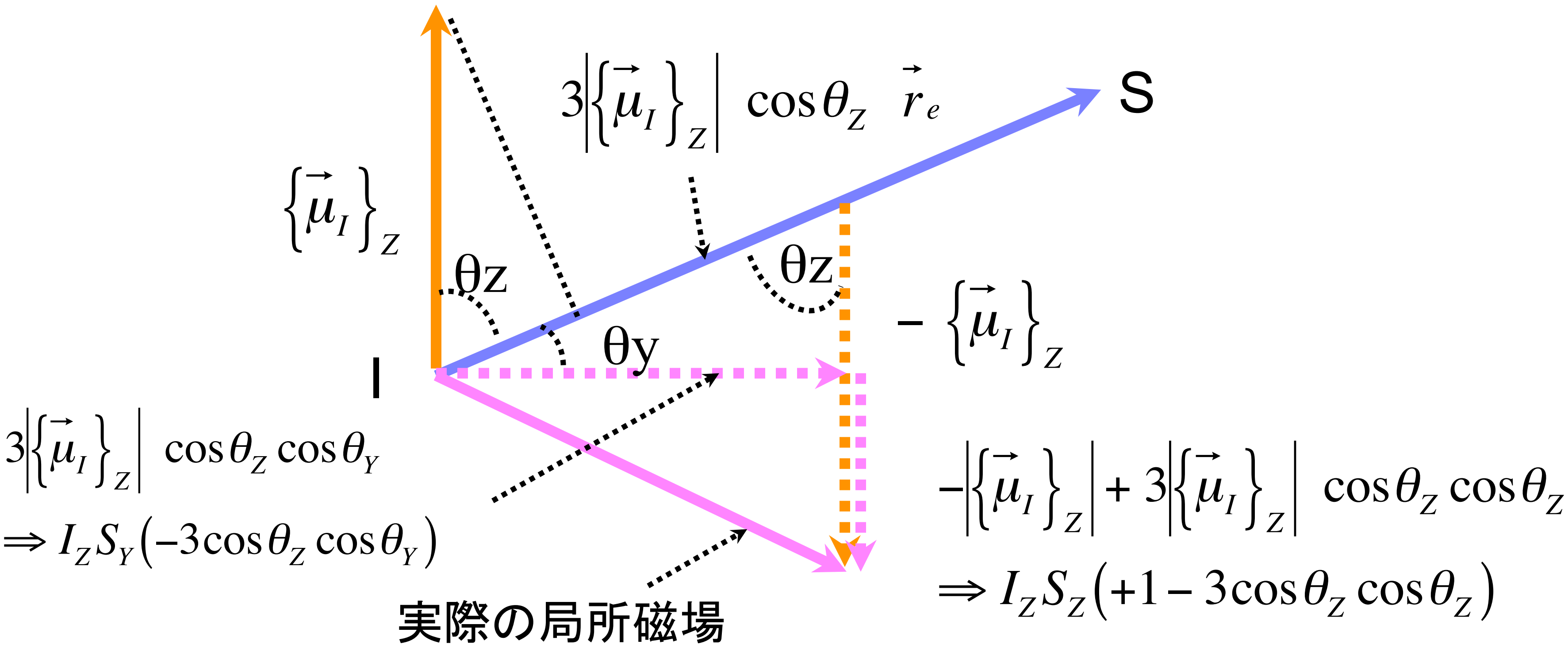
$$+I_X S_X + I_Y S_Y + I_Z S_Z$$

$$\ldots\ldots\ldots$$

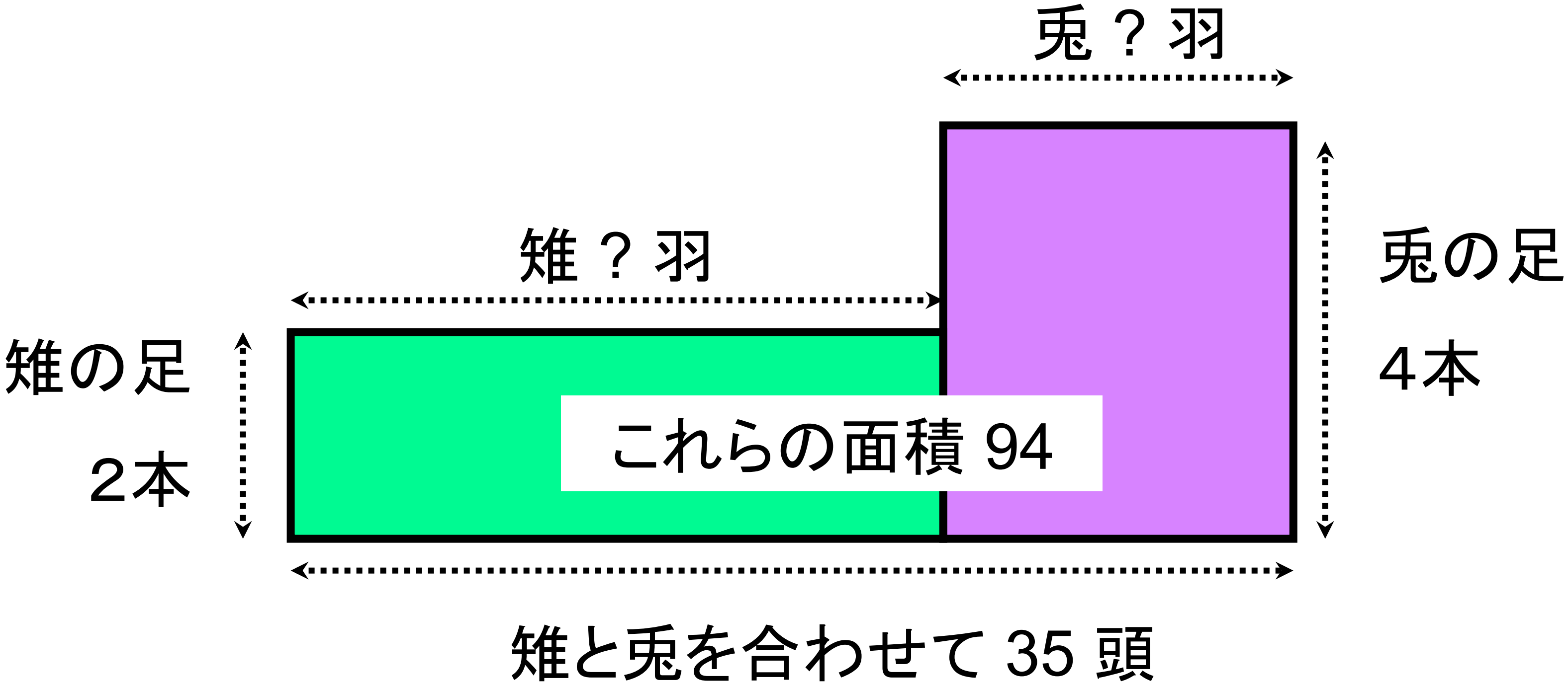
$$-3 I_Z S_Y \cos\theta_Z \cos\theta_Y$$

$$\ldots\ldots\ldots$$

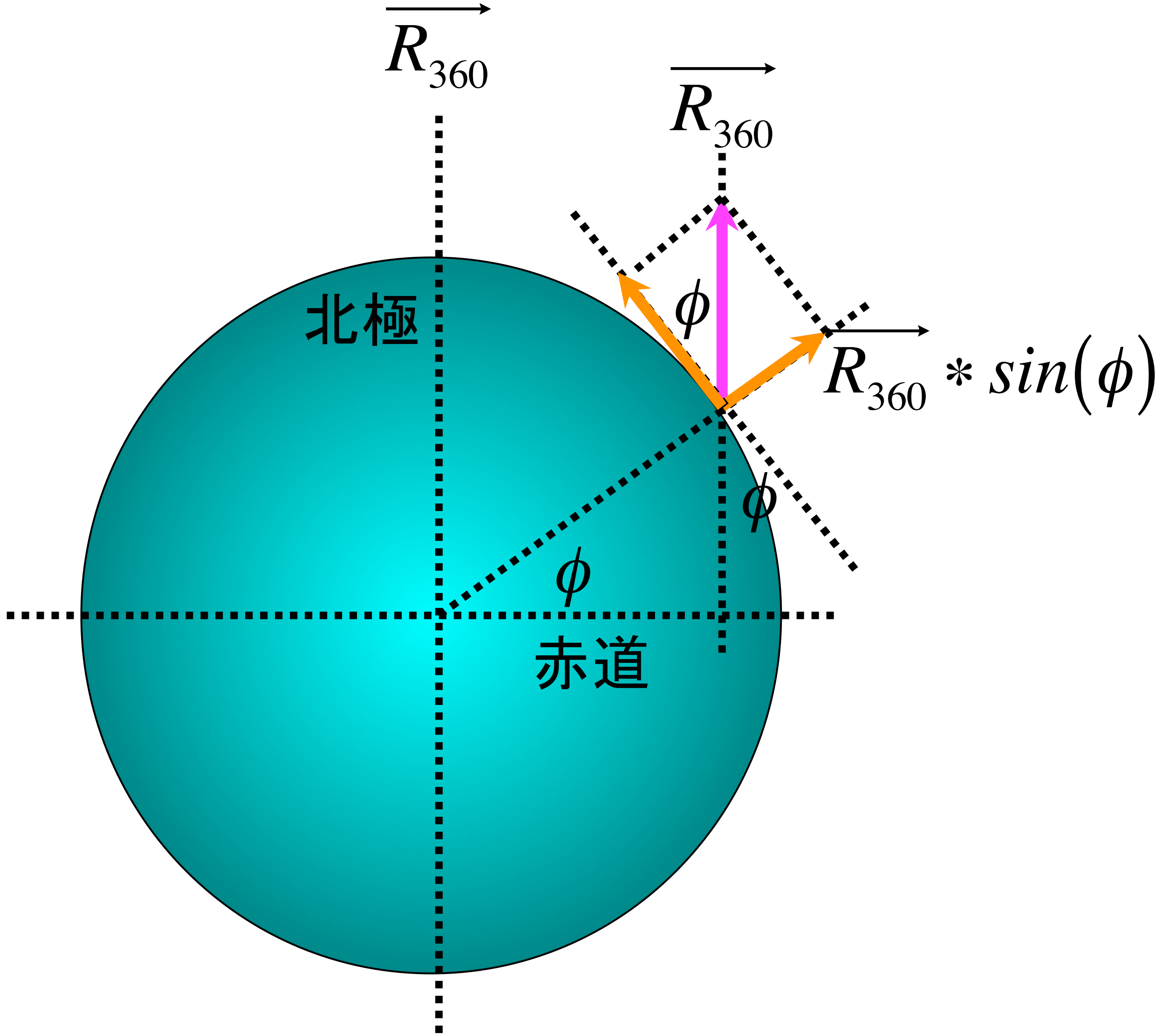
1. スピン μ_I のうち、z 成分が作る（異方的）局所磁場を考える。→ I_Z
2. この局所磁場は、もともと $\cos(\theta z)$ の寄与しかない。
3. この局所磁場のうち、スピン μ_S の位置での y 成分の大きさを考える。→ S_Y
4. この y 成分は、$\cos(\theta y)$ の寄与しかない。



今有雉兎同籠
上有三十五頭
下有九十四足
問雉兎各幾何



答：雉（きじ） 23 羽、兎（うさぎ） 12 羽


$\overrightarrow{R_{360}}$
$\overrightarrow{R_{360}}$
$\overrightarrow{R_{360}} * sin(\phi)$
北極
赤道
ϕ
ϕ
ϕ