

第 61 回 NMR 討論会  
チュートリアルコース

$AX_3$  スピン系は訳分らないけど  
やはり「メチル基」様様

2022 年 11 月 7 日 (月) 12:30 ~ 14:00  
高知県立県民文化ホール オレンジホール

横浜市立大学  
池上貴久

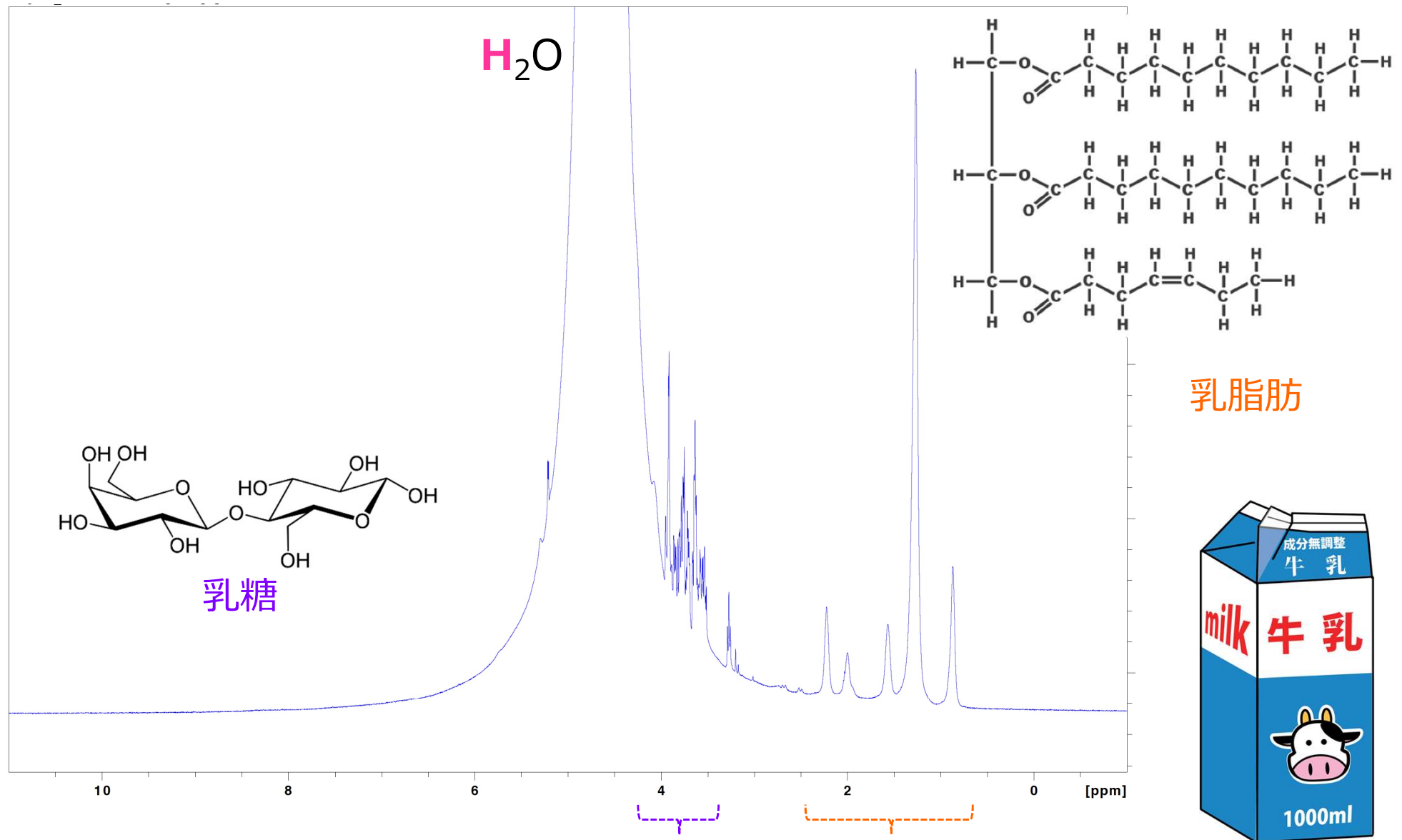
${}^1\text{H} - {}^{13}\text{C}$

I — S

**i**nsensitive

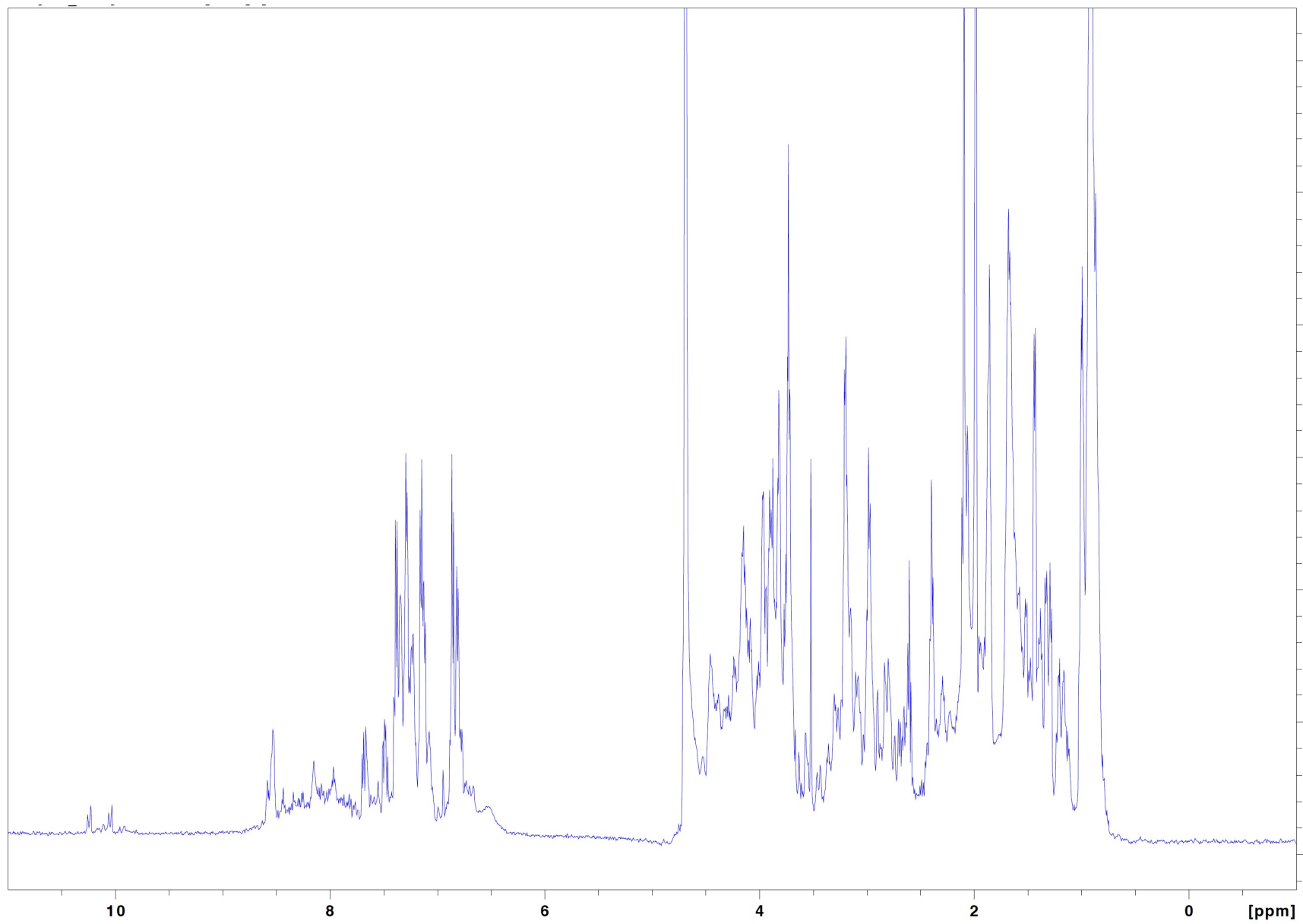
**s**ensitive

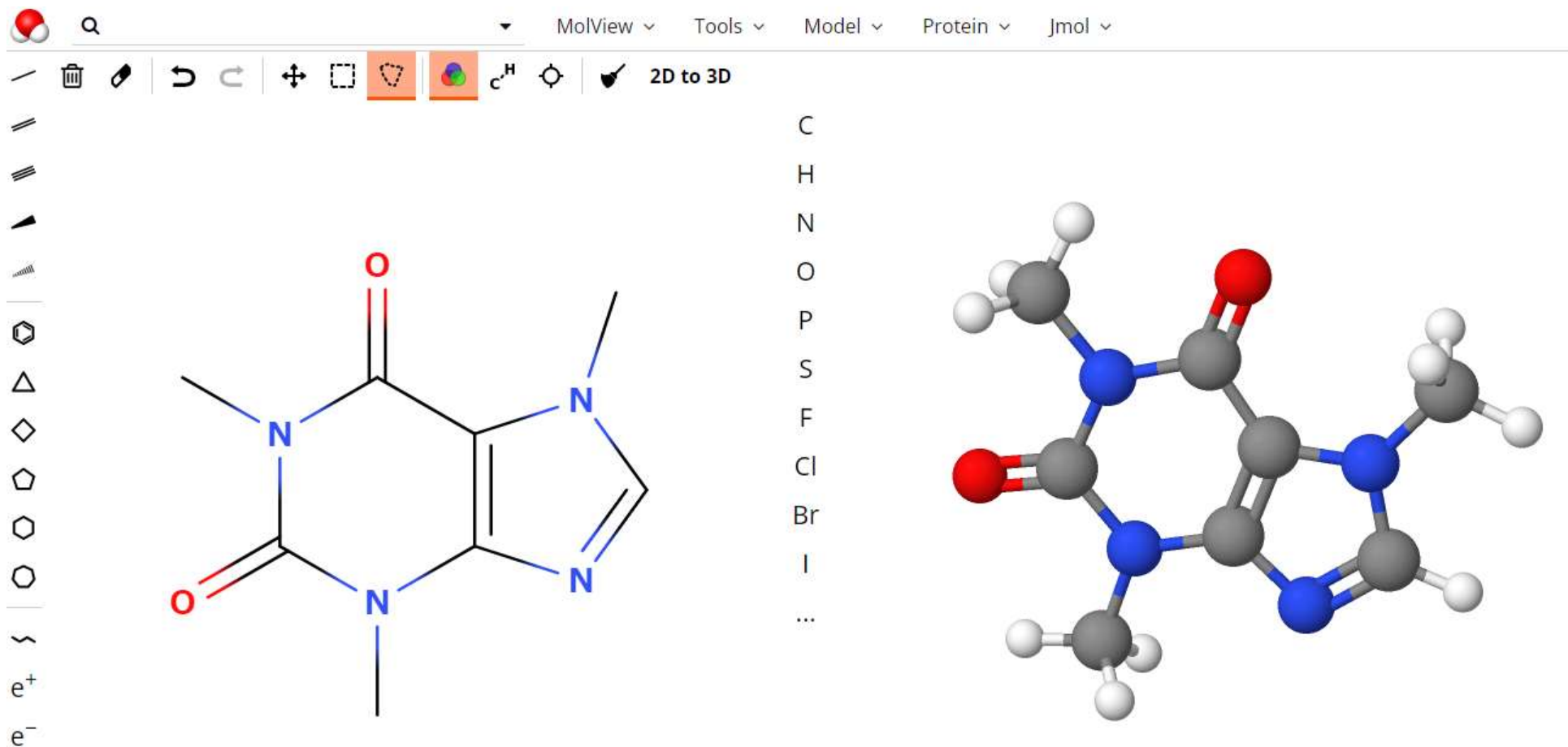
# 牛乳の NMR



メチル基の共鳴値は、水 4.7 ppm から離れている。

# 蛋白質の NMR





チューリップはその軸で高速回転



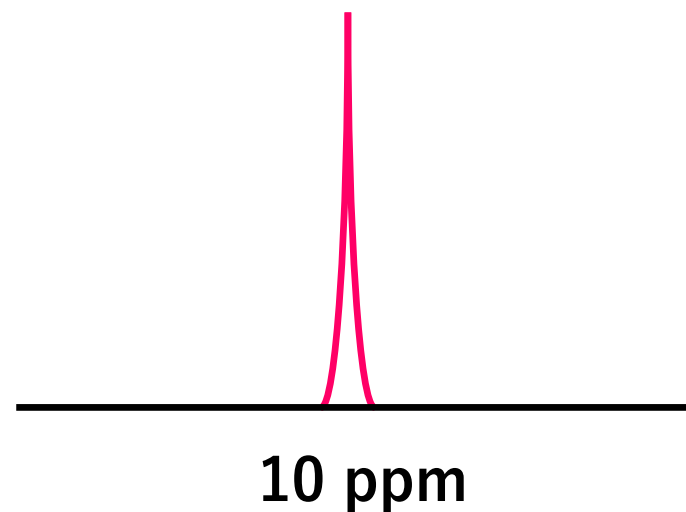
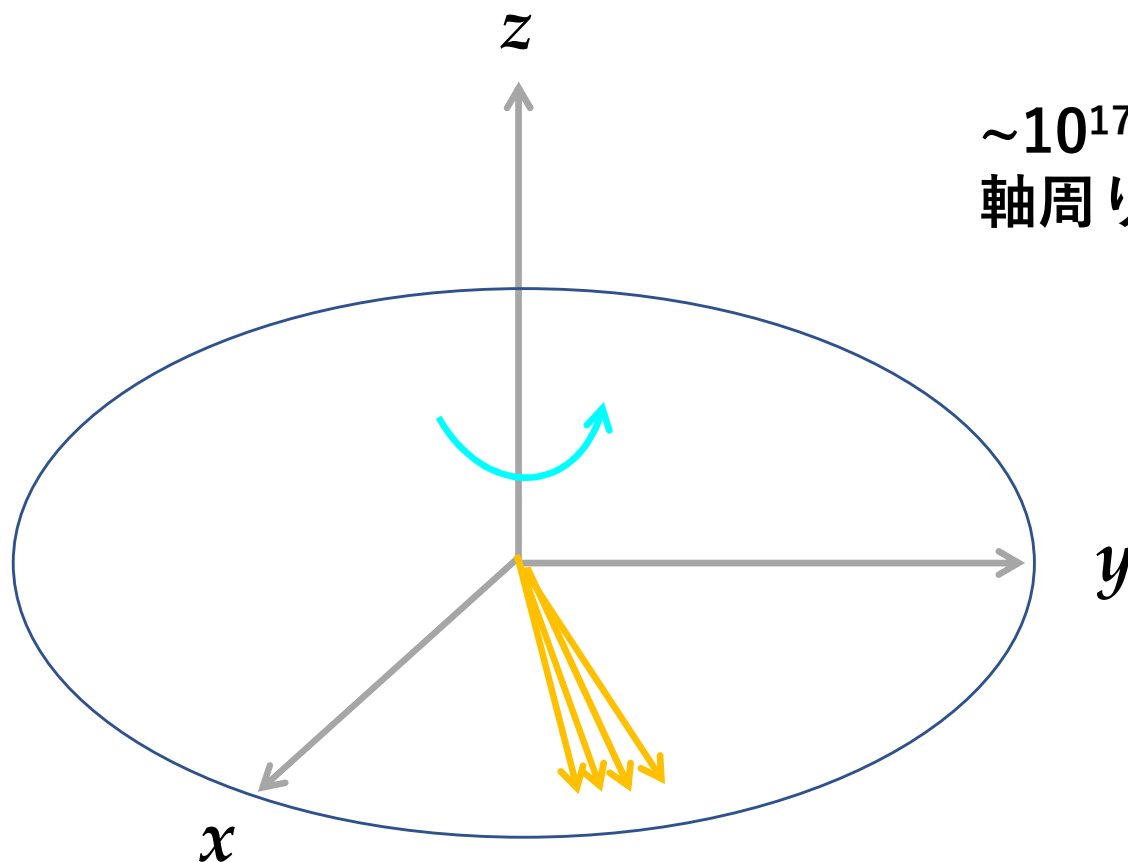
3つの  $^1\text{H}$  は磁氣的等価



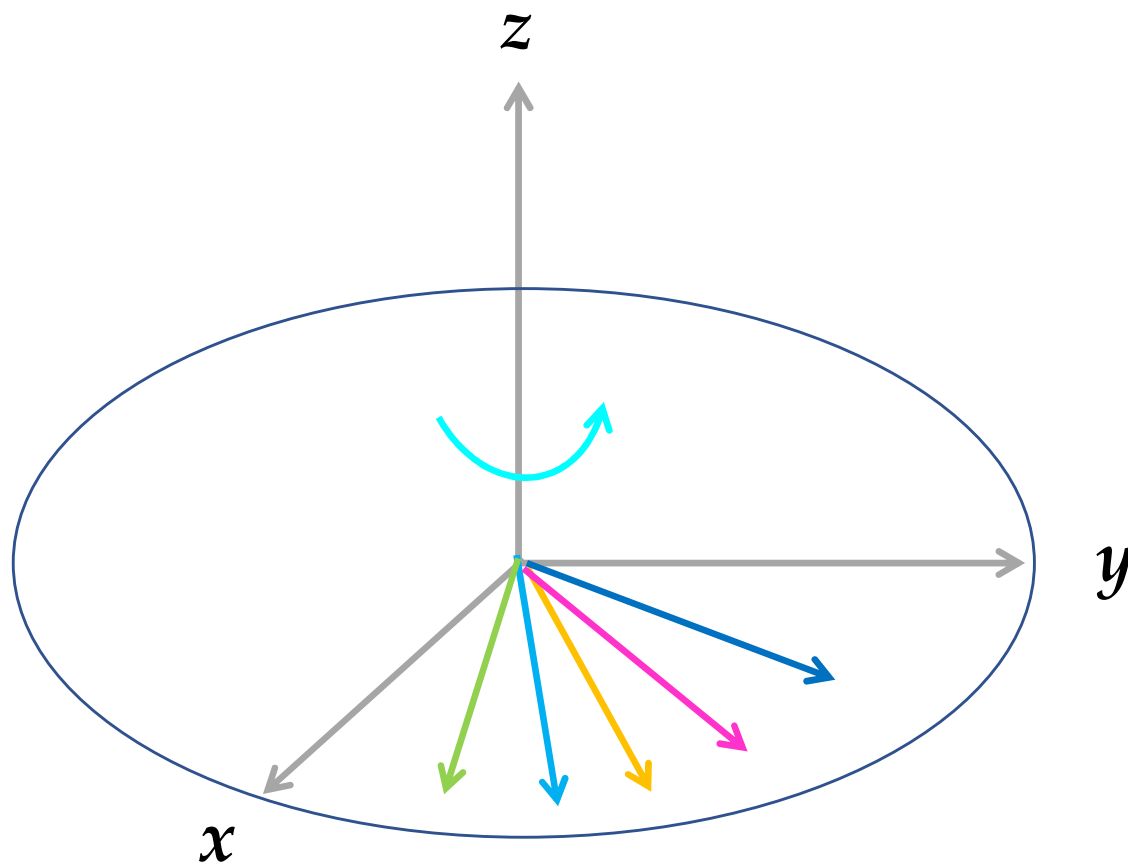
同じ化学シフト値に縮重  $^1J_{\text{HC}}$  はあるがピークは分裂しない。

# 分子の中のある $^{13}\text{C}$ 核スピン (シムが合っている場合)

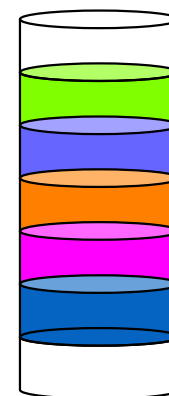
~ $10^{17}$  個ある  $^{13}\text{C}$  スピンの  $z$  軸周りの回転が揃っている



# シムが合っていない場合



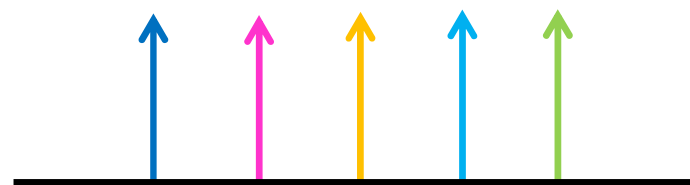
~10<sup>17</sup> 個の <sup>13</sup>C スピン



静磁場 弱い

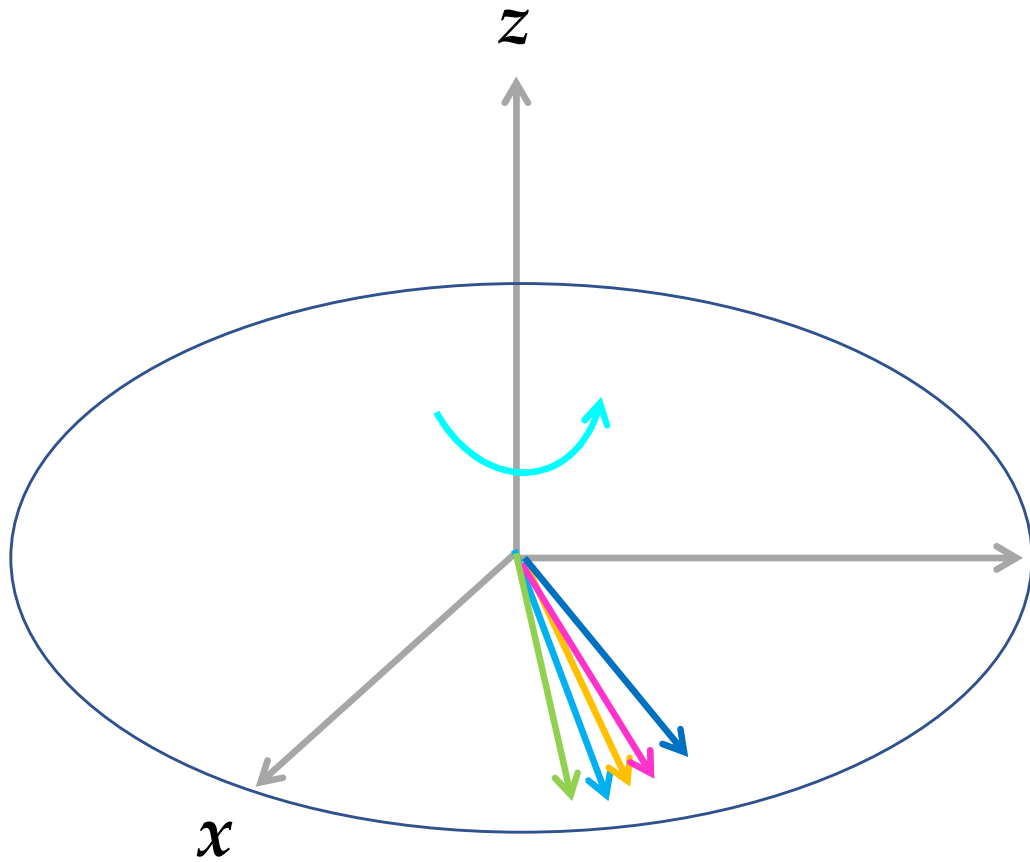
静磁場 強い

$$\omega = -\gamma B$$



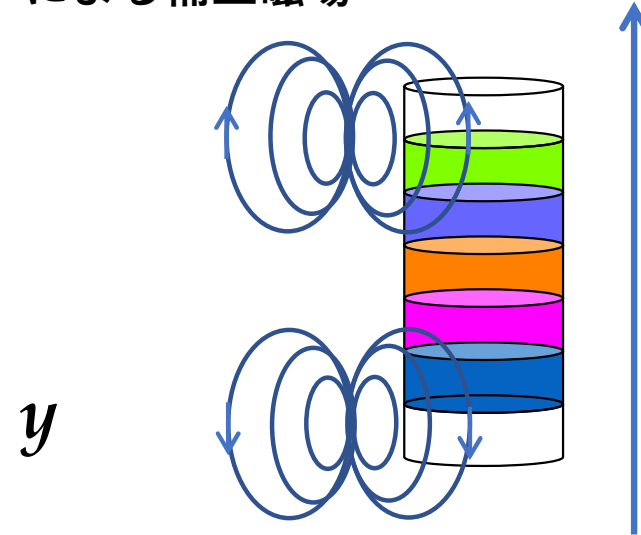
10 ppm

# シムを調整した後



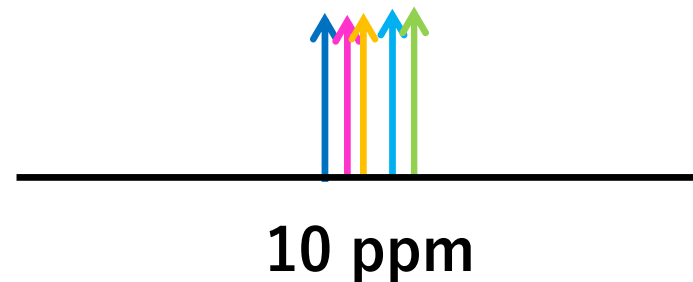
シムコイル  
による補正磁場

静磁場



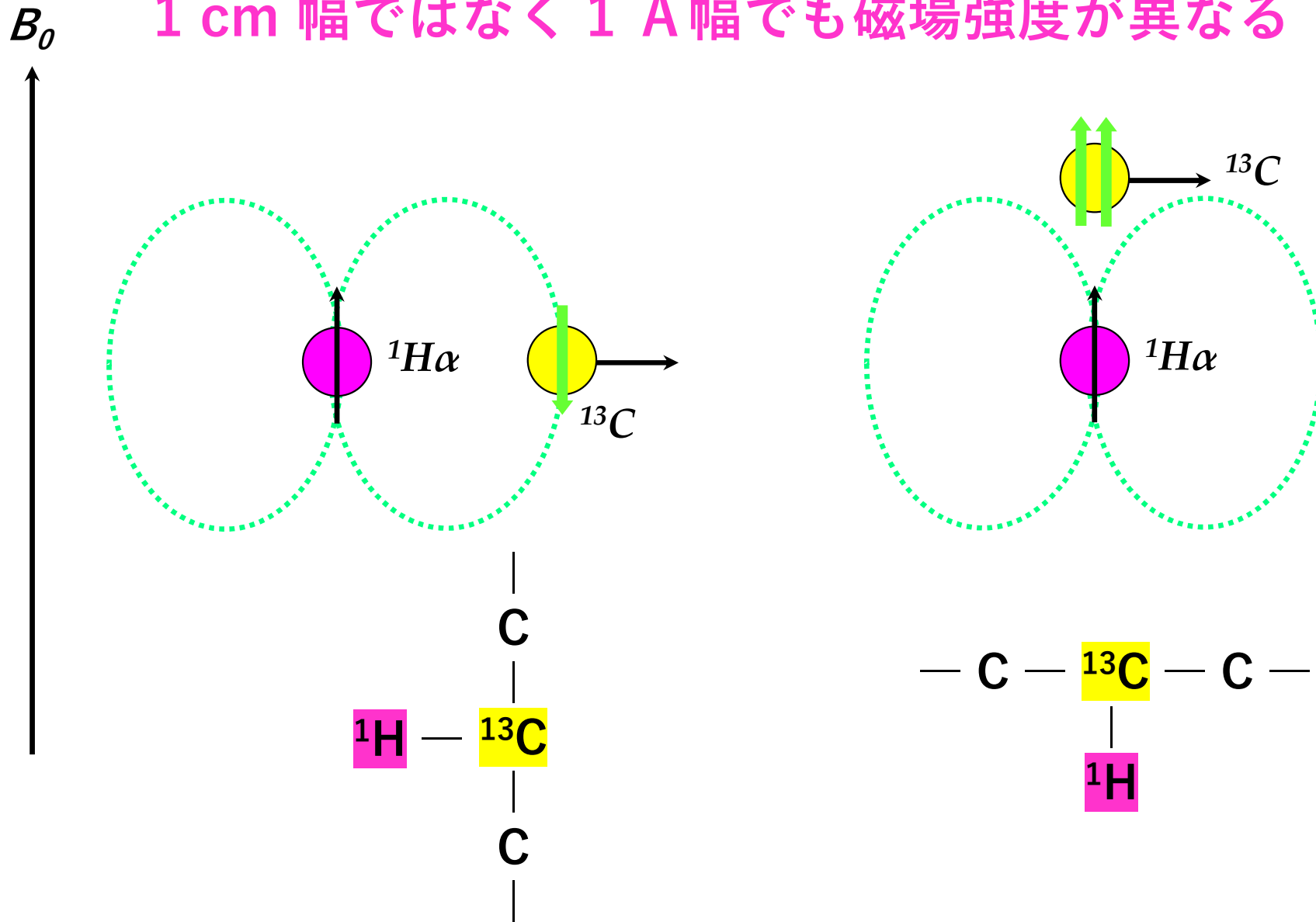
$$\omega = -\gamma B$$

サンプル内のいずれの場所も同じ  
{静磁場 + シム補正磁場} 強度になる  
ように調整する



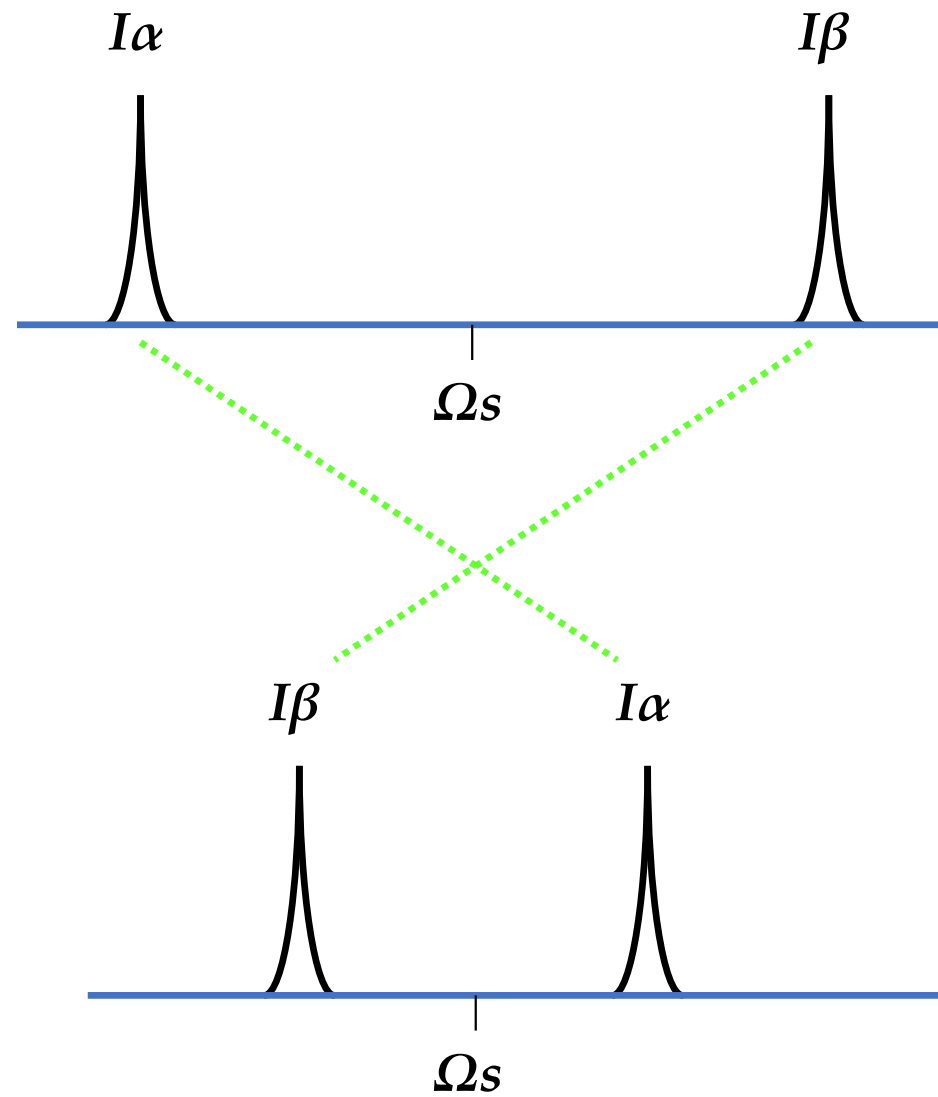
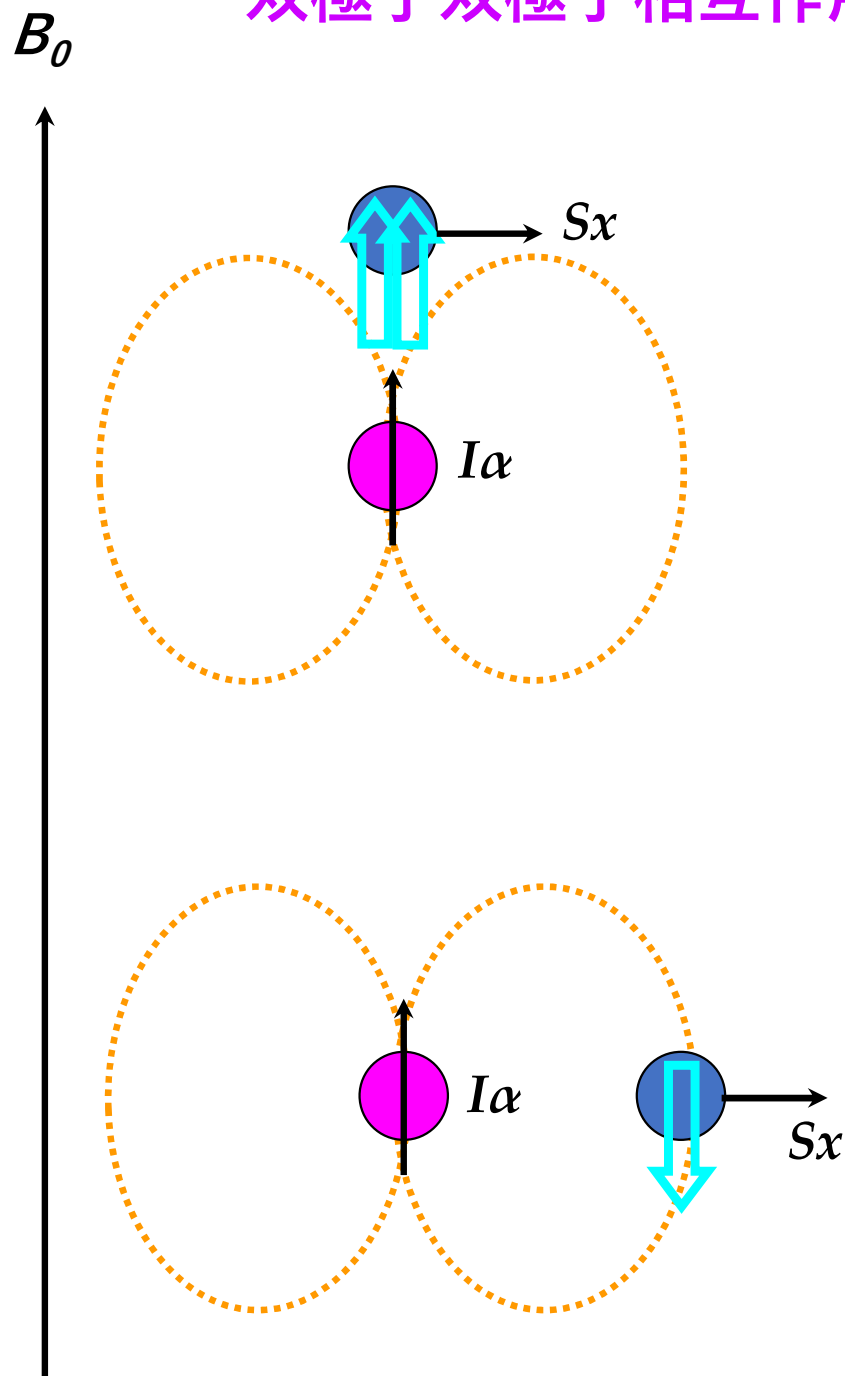


1 cm 幅ではなく 1 Å 幅でも磁場強度が異なる

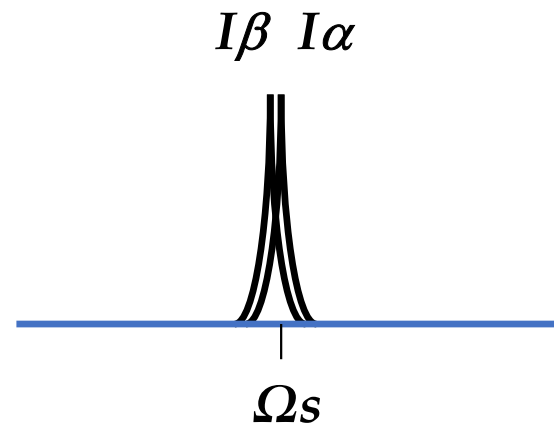
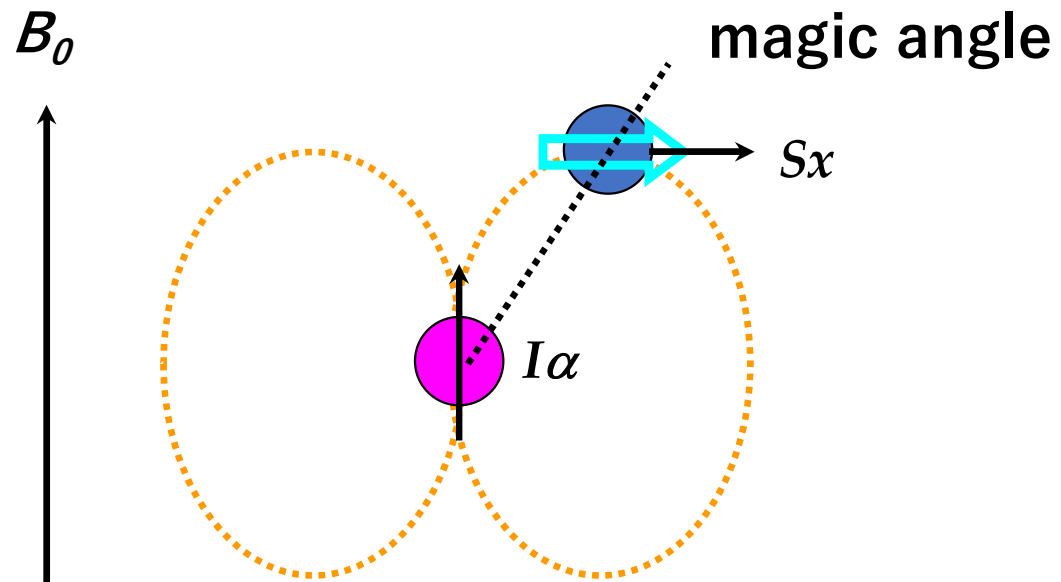


500 MHz NMR では 200 ppm ほど  $^{13}C$  核  
スピンの回転の速さに差がでる

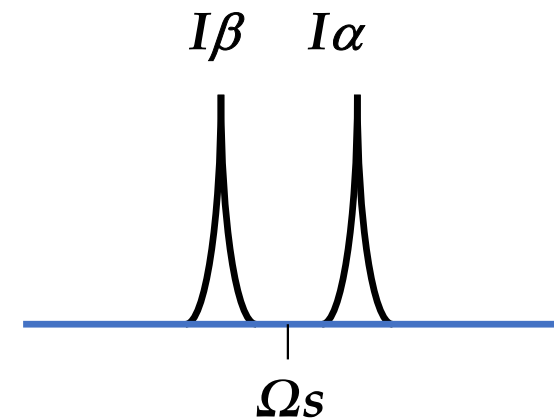
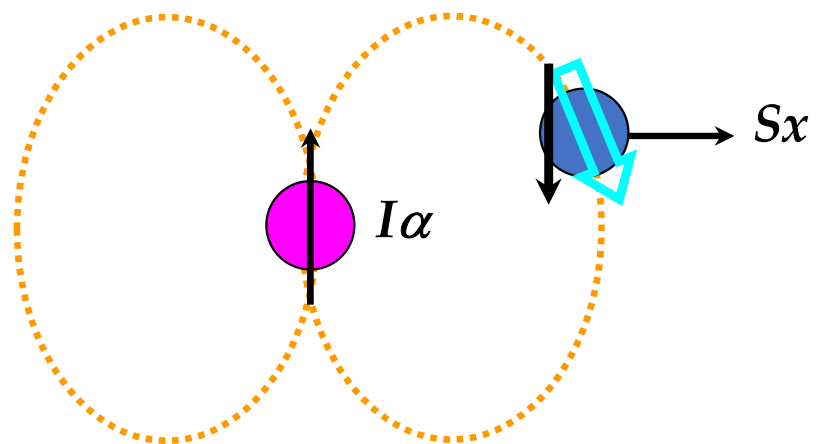
# 双極子双極子相互作用 dipole-dipole interaction

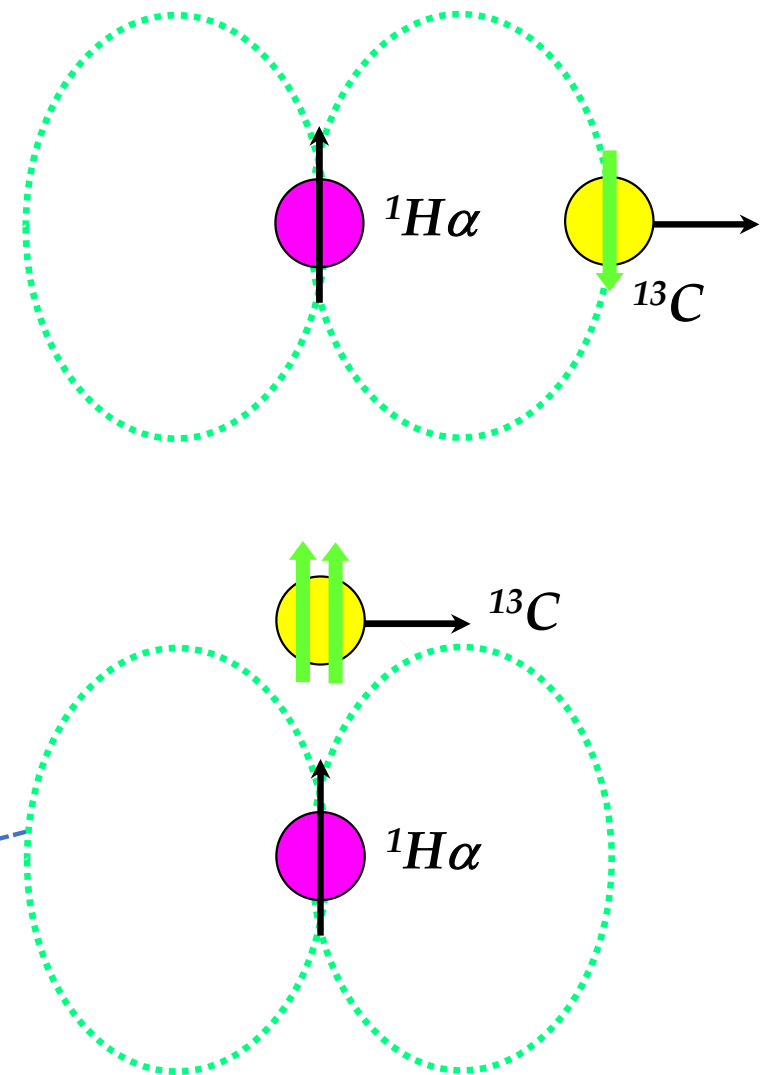
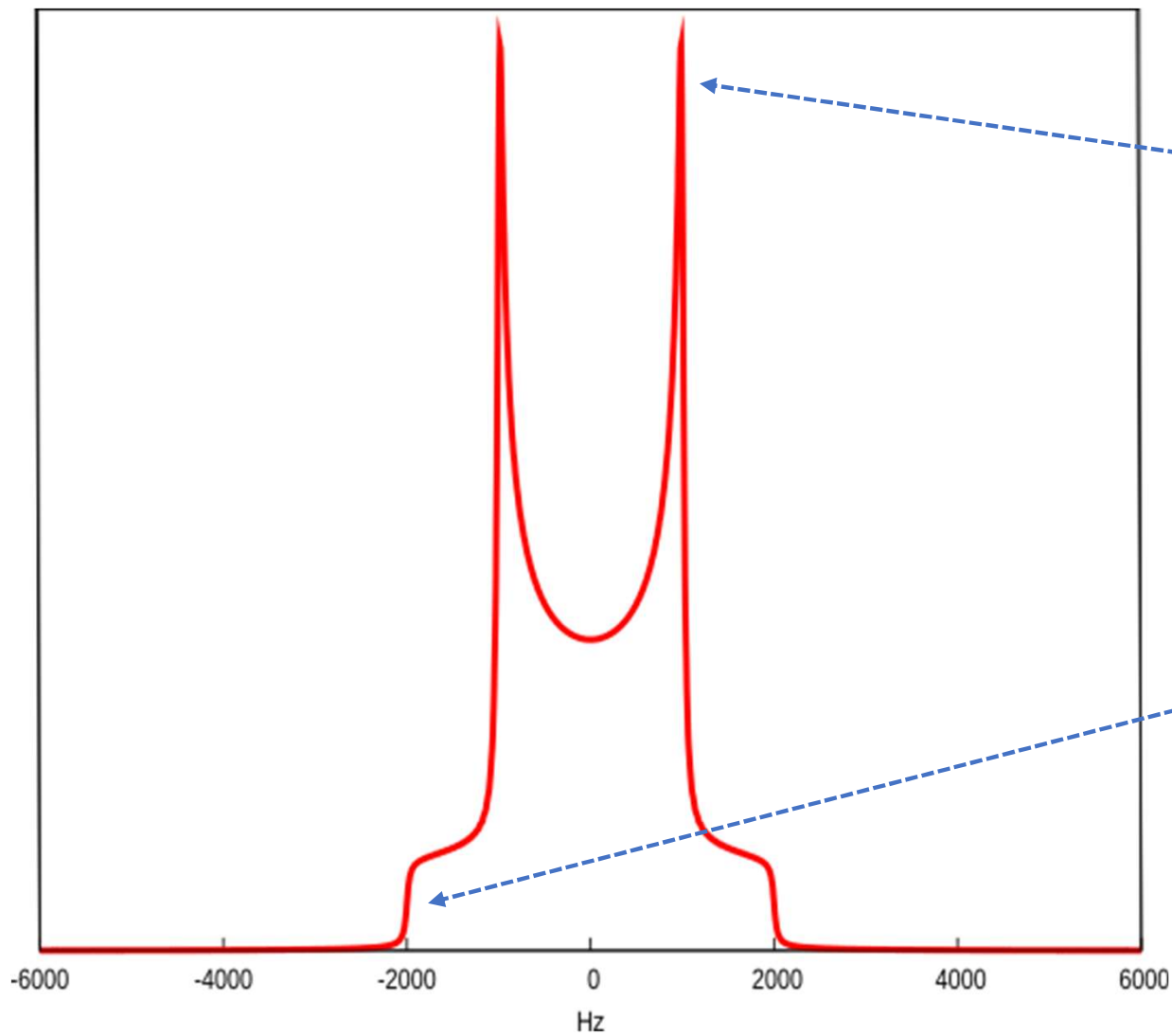


分子の回転が非常にゆっくりの場合



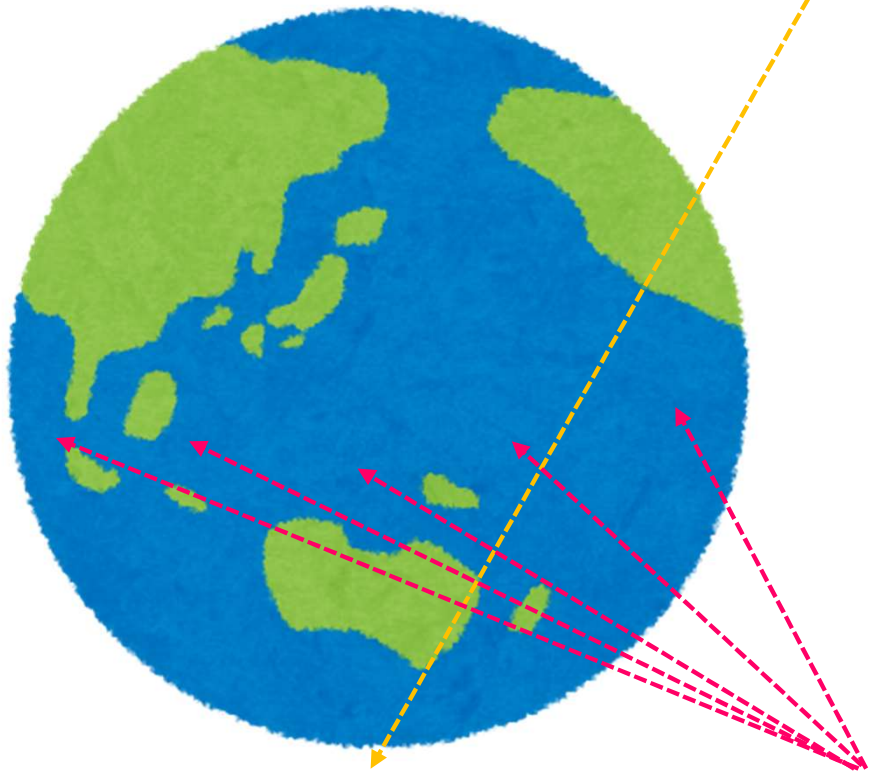
局所磁場の  $B_0$  方向成分のみが、共鳴値に有効



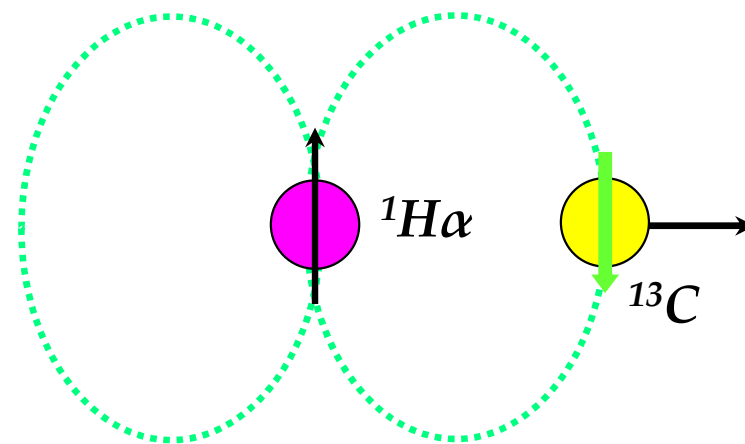
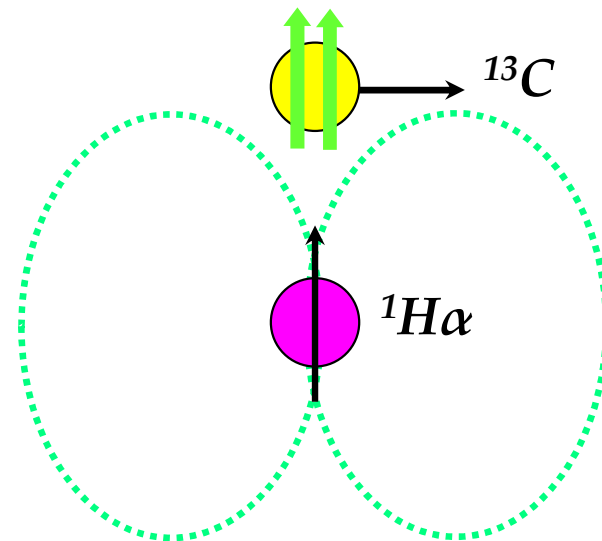


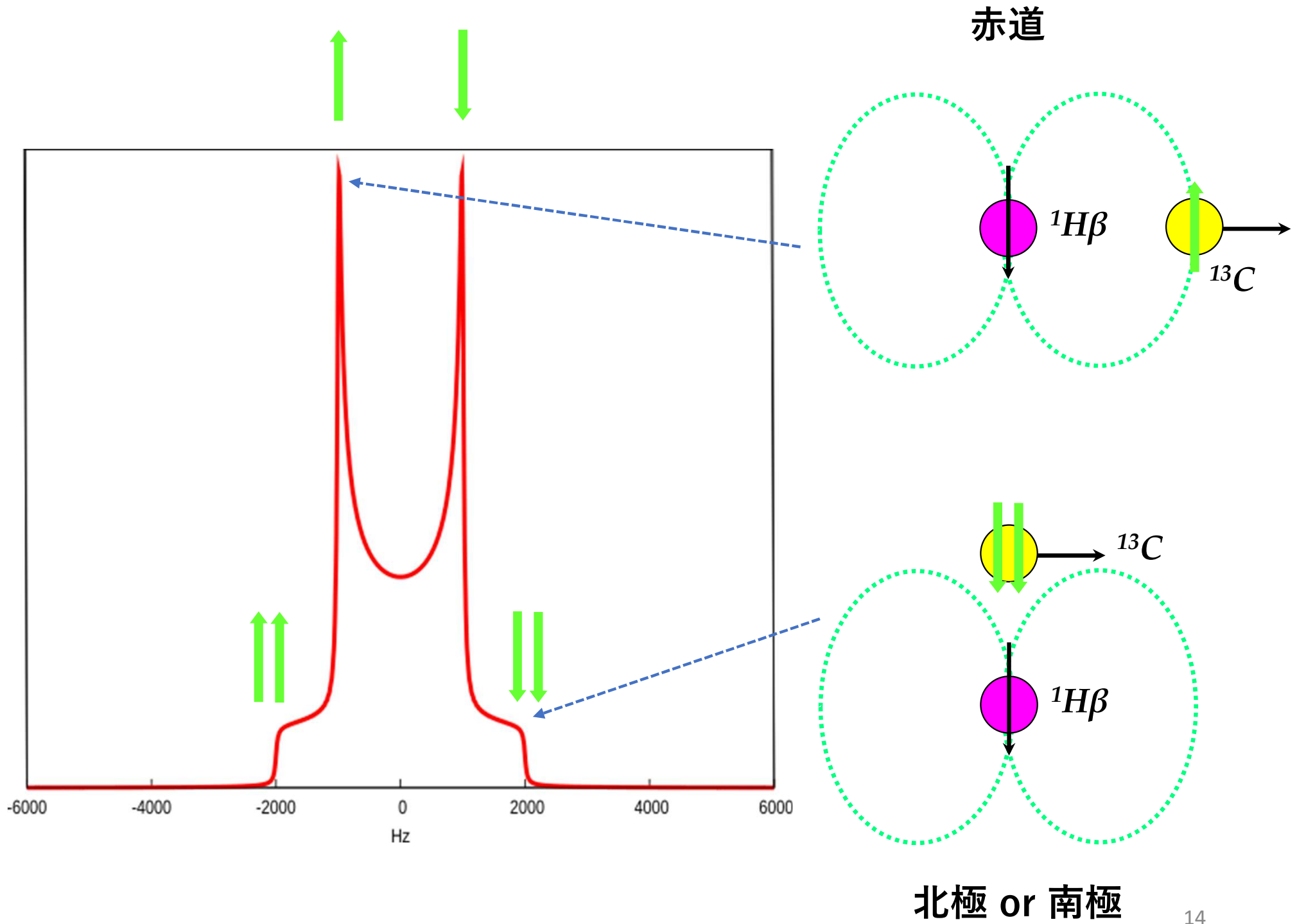
Pake パターン (*Wikipedia*)

北極と南極の少しだけ

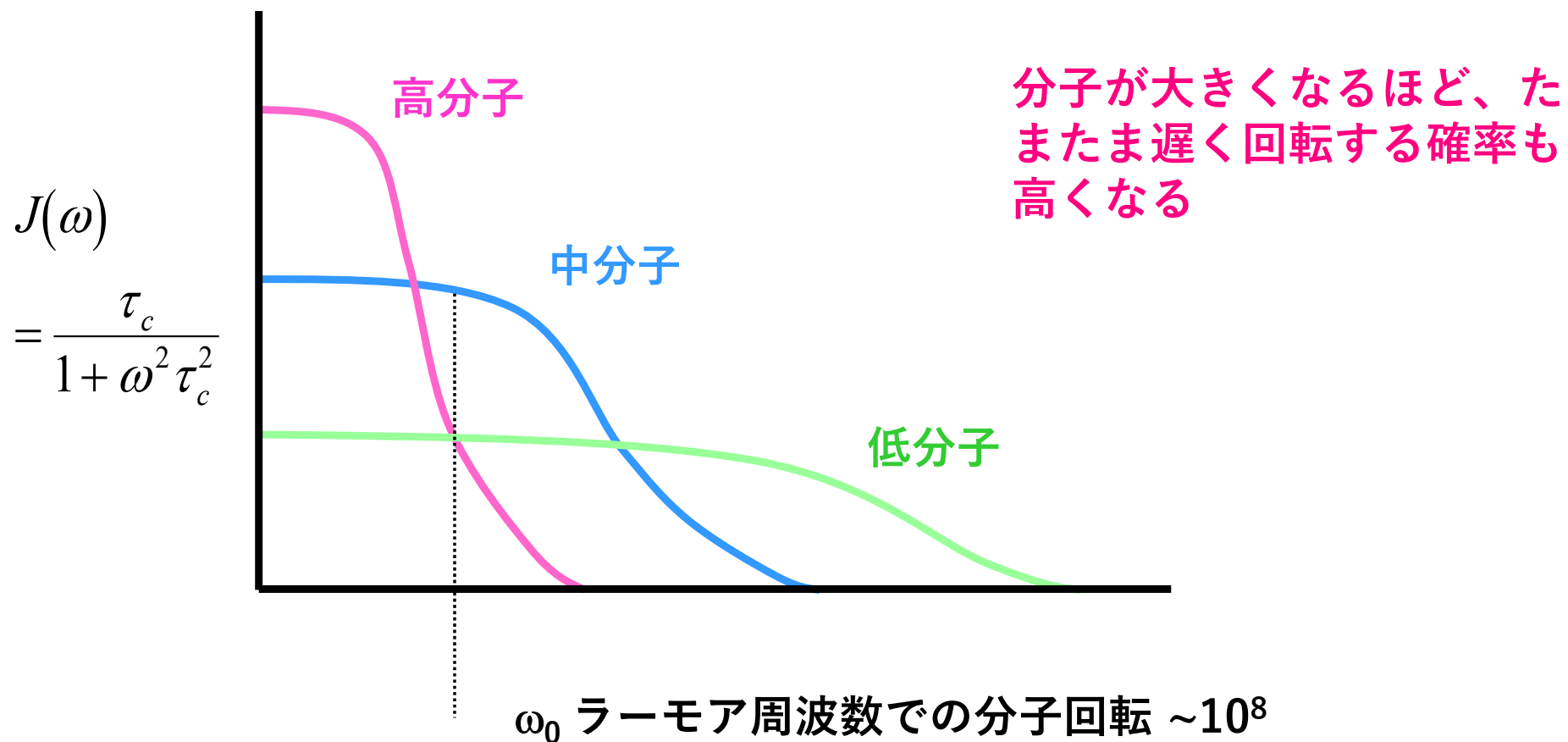


赤道に沿ってずらり一杯

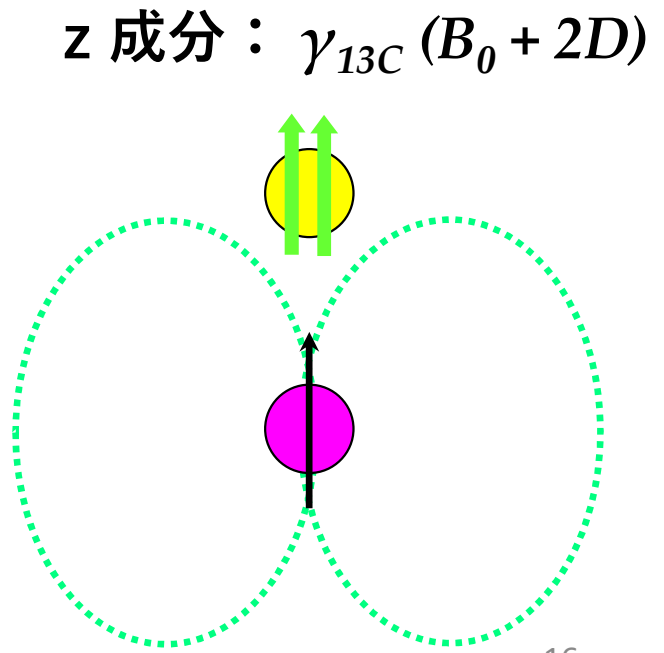
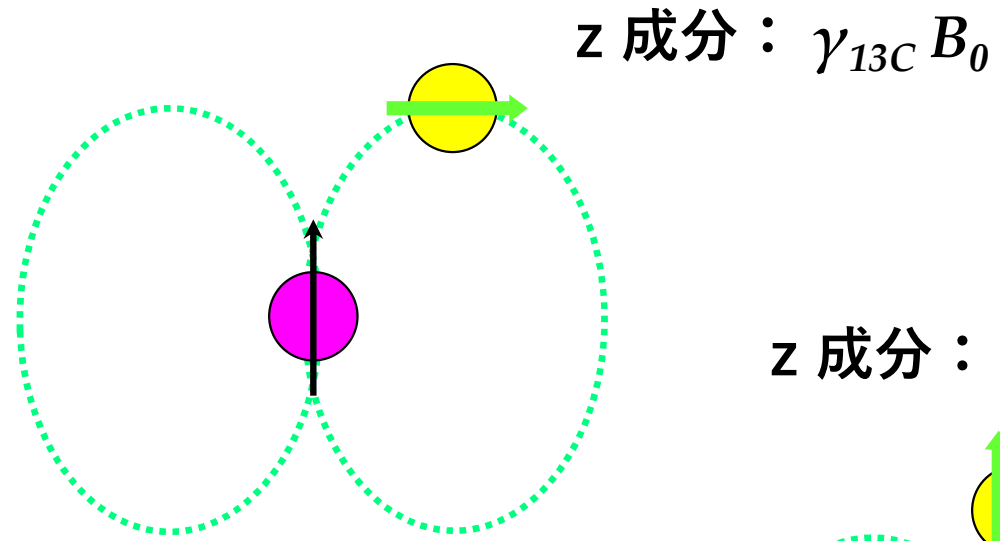
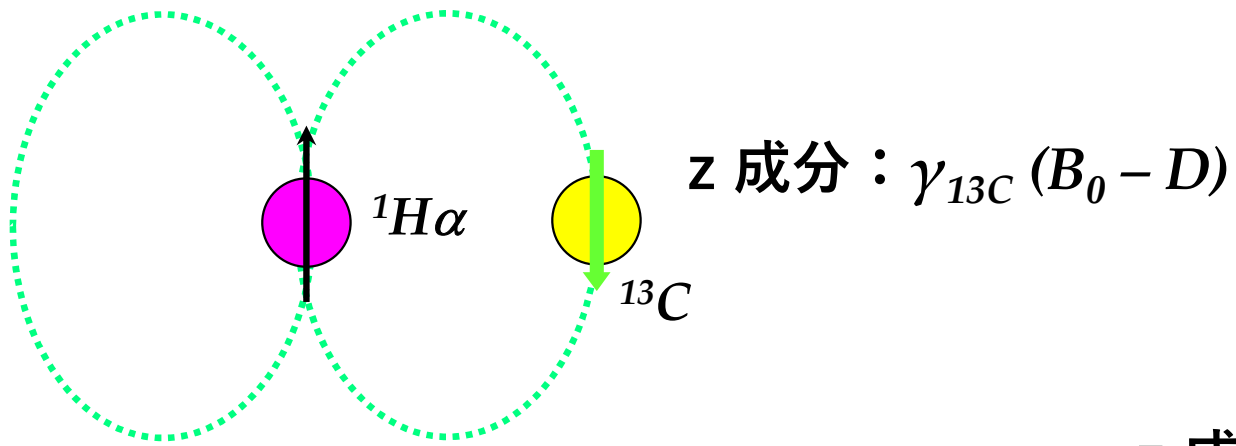




## 分子の回転ブラウン運動の速さの分布



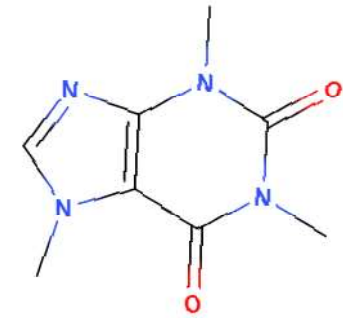
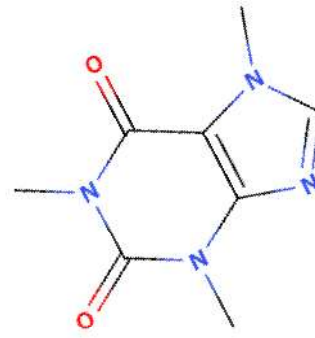
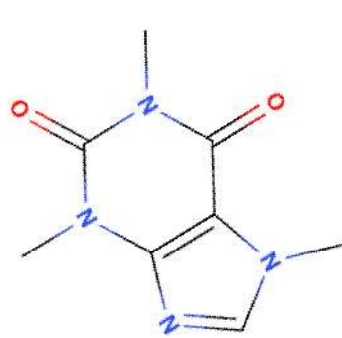
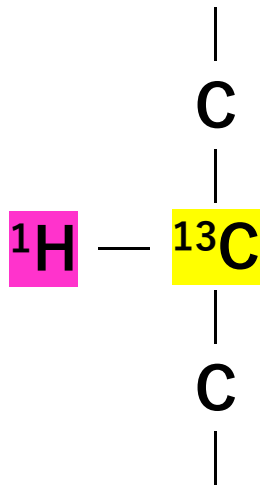
実際には、規則正しく一定速度で回転しているのではなく、時には止まりかけたりすることもある。特に大きな分子ほど。



高分子ほど止まり  
かけることもあり、  
うまく平均化でき  
なくなる。

$^1\text{H}$  双極子が作る局所磁場の x/y 成分は少  
し  $^{13}\text{C}$  の線形に影響するが、今回は無視





低分子ほど小刻みに正負さまざまな局所磁場を経験するため、結果としてうまく0近くに平均化される。

溶液 NMR：ブラウン運動ですでに高速回転している

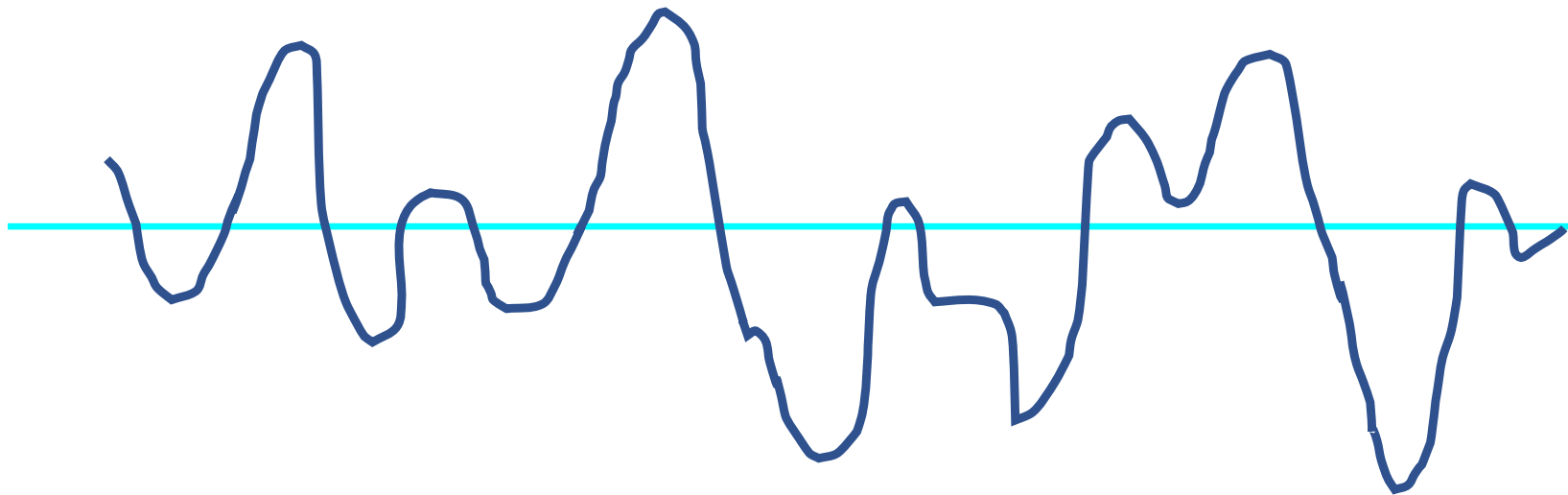
固体 NMR：機械的にできるだけ速く回してあげる（高速 MAS）

さらに  $^1\text{H}$  核スピンの up-down を速く入れ替える（decoupling）

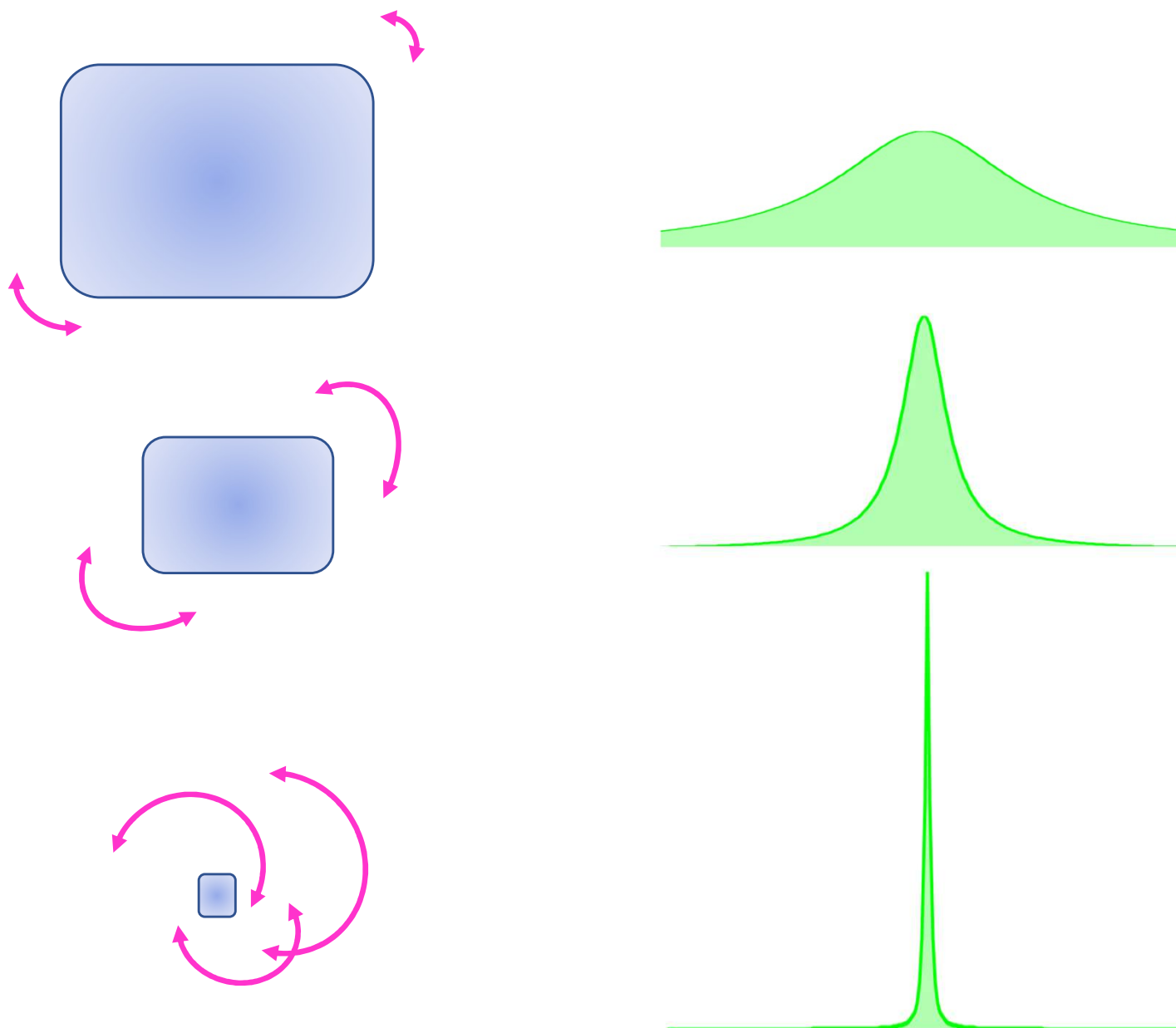
## 低分子の双極子磁場の揺動

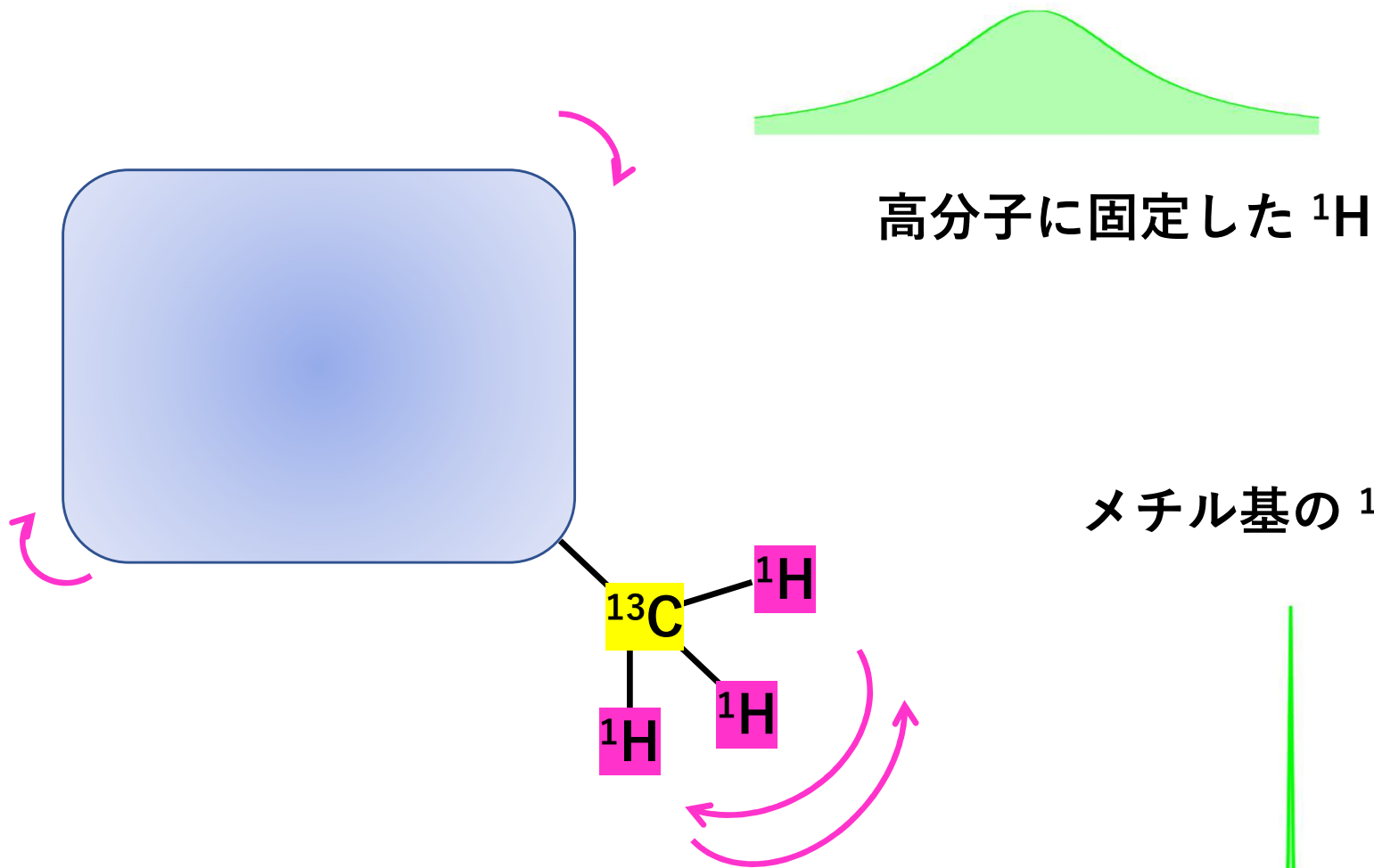


## 高分子の双極子磁場の揺動



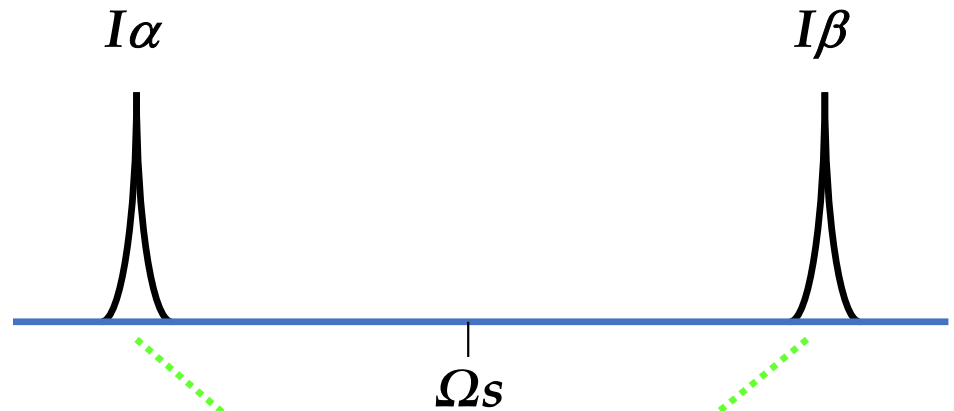
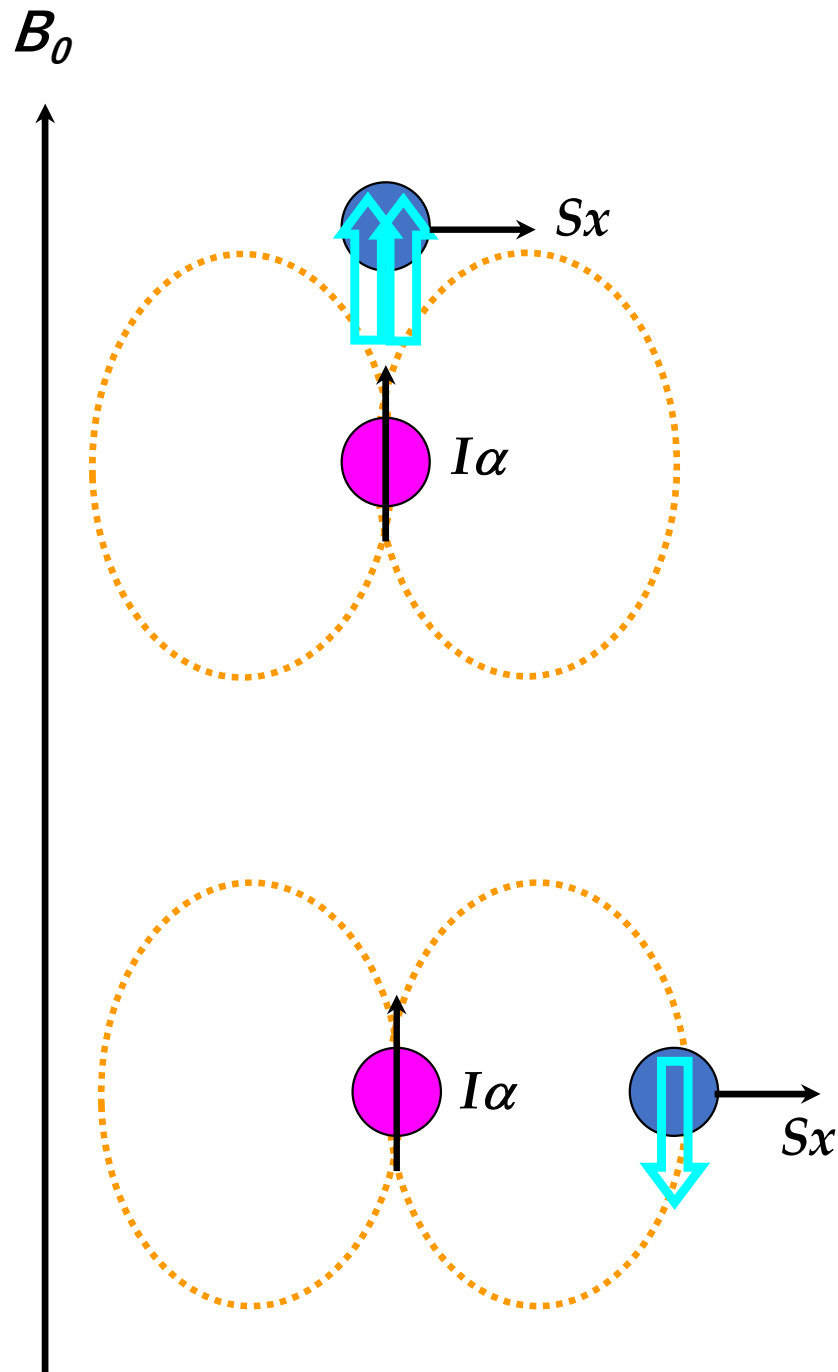
速く回転拡散する低分子ほど、ピークがシャープになる。



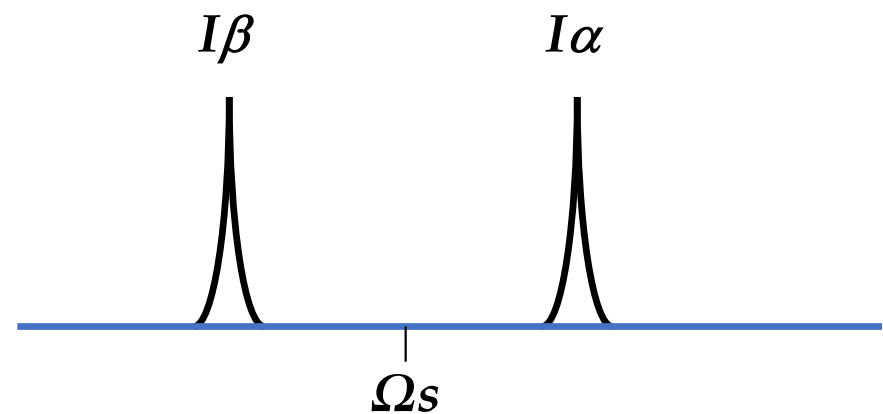


メチル基は根元の C-C 共有結合を通して超高速回転するので、たいへんシャープになる。

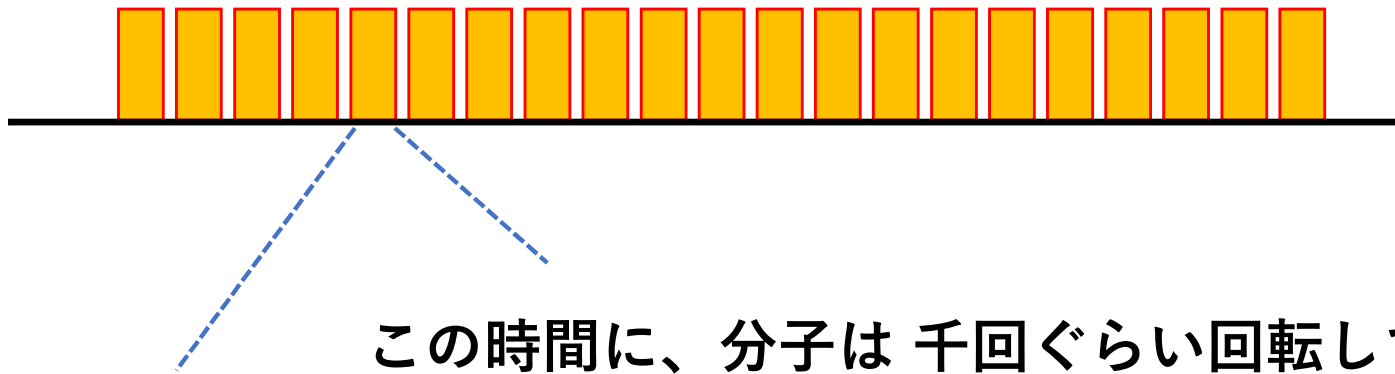
静磁場に対して分子を配向させたりすると、きれいに0に平均化されない  
 (残余双極子相互作用：RDC)



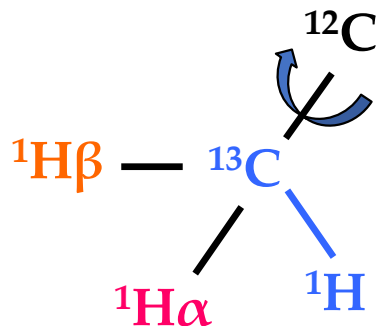
例えば、こちらが多いと分裂幅は広がる



## $^1\text{H}$ $\pi$ パルス デカップリング (数万 Hz)



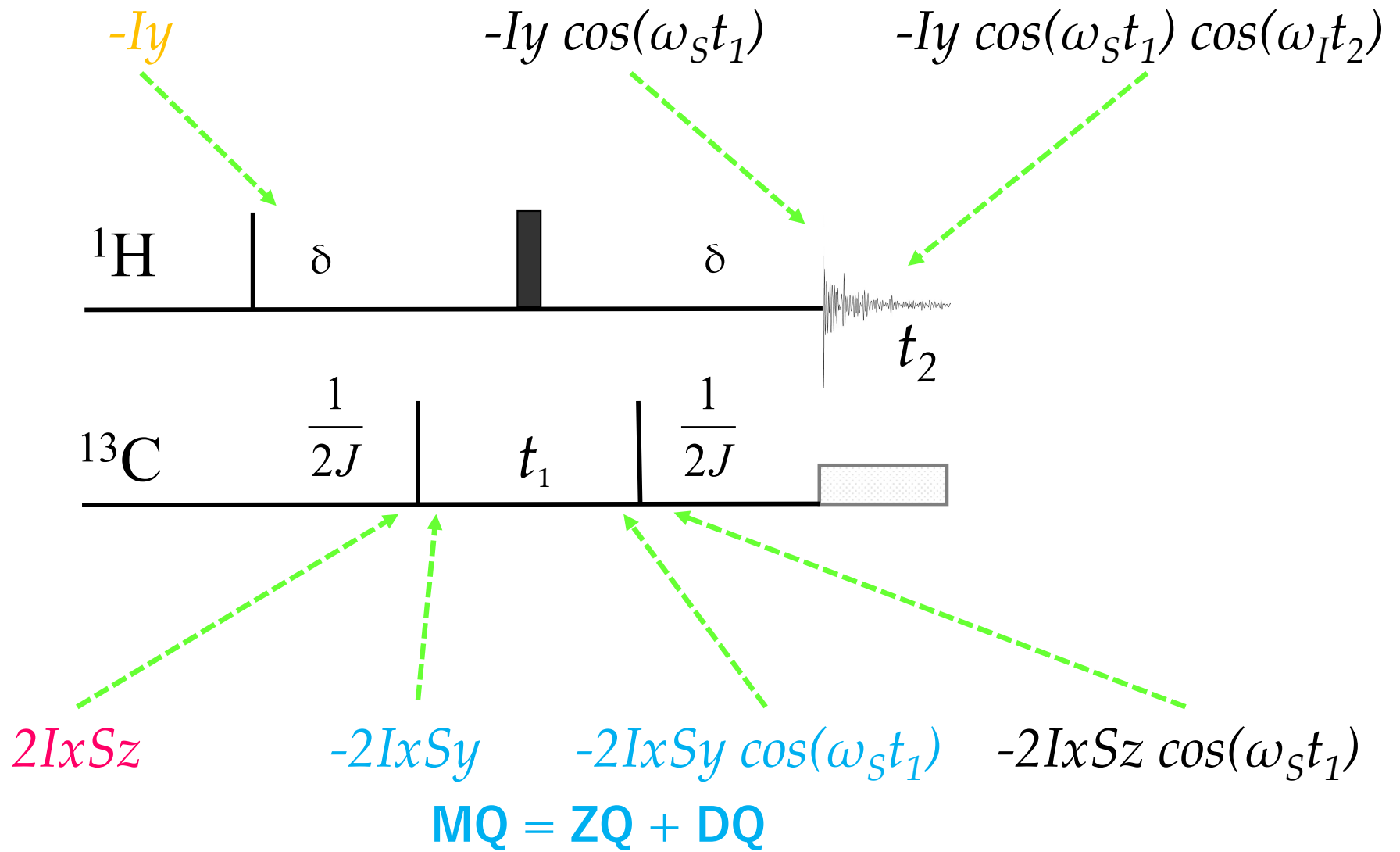
この時間に、分子は千回ぐらい回転して  $T_2$  緩和しまう。これでは遅すぎる・・・。



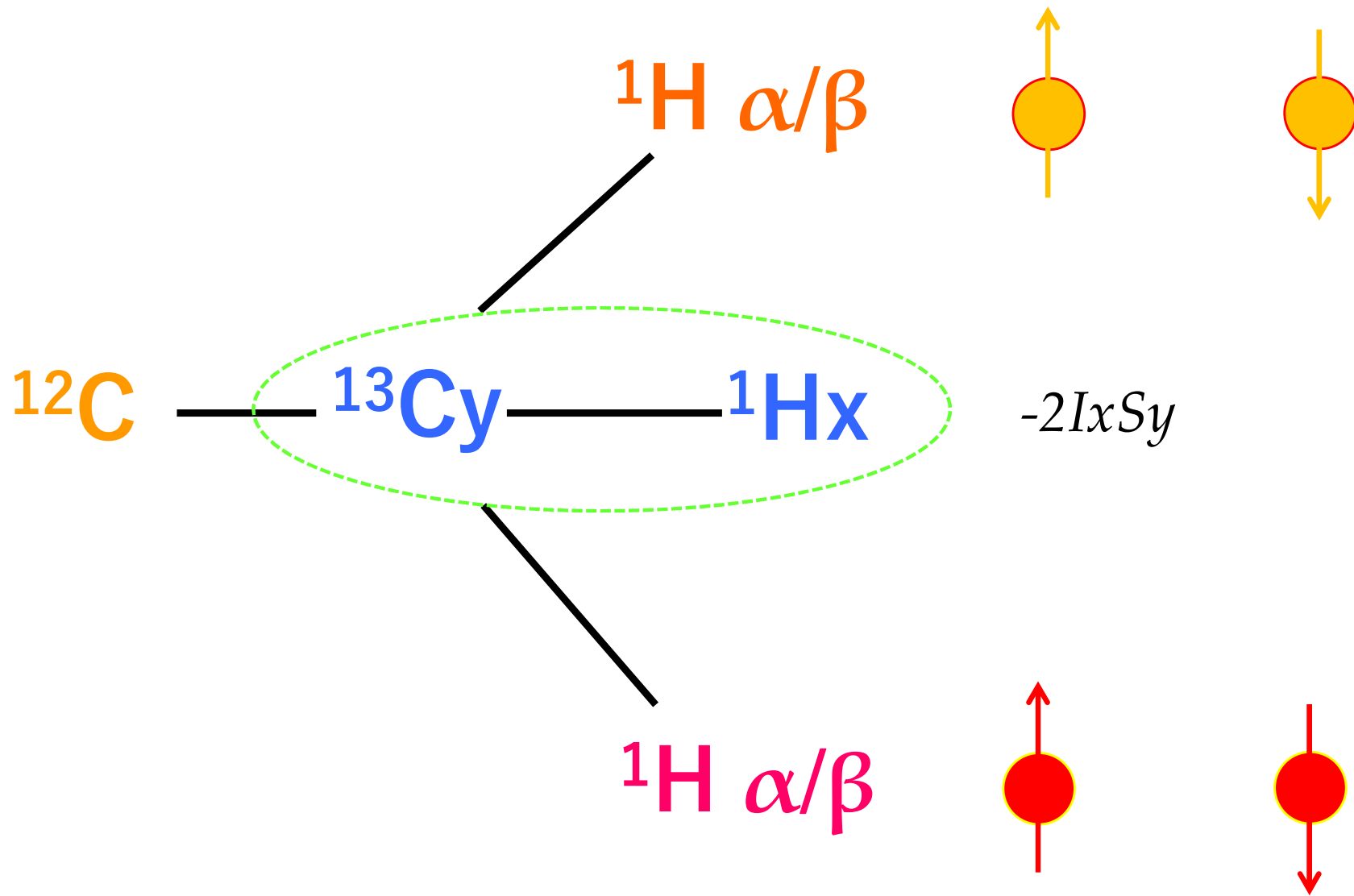
いわば、メチル基の回転を利用した～数百～数千億 Hz のデカップリング？

# methyl TROSY

# メチル基を HMQC で計測

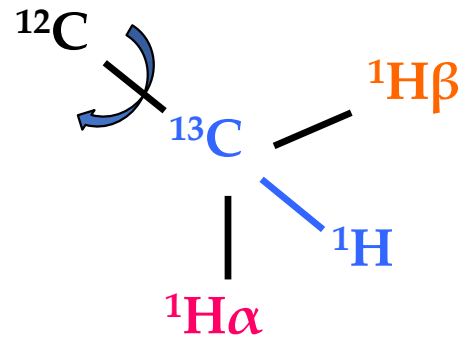
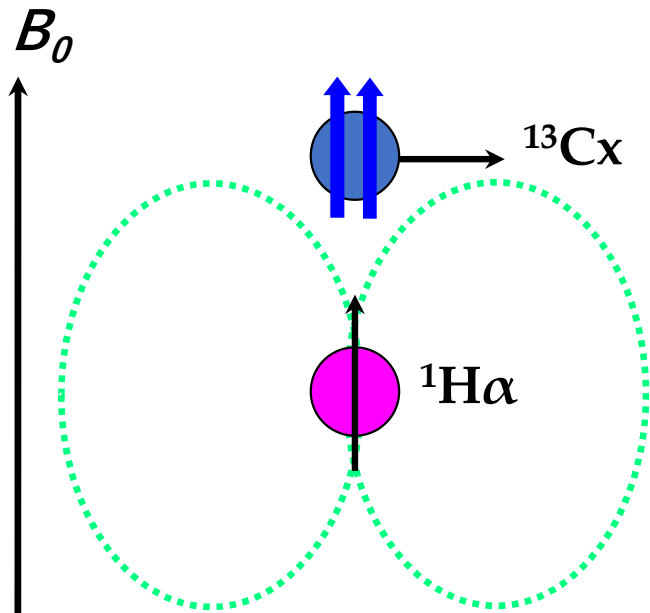


$$-Iy \rightarrow -Iy \cos(\pi J \delta) + 2IxSz \sin(\pi J \delta)$$

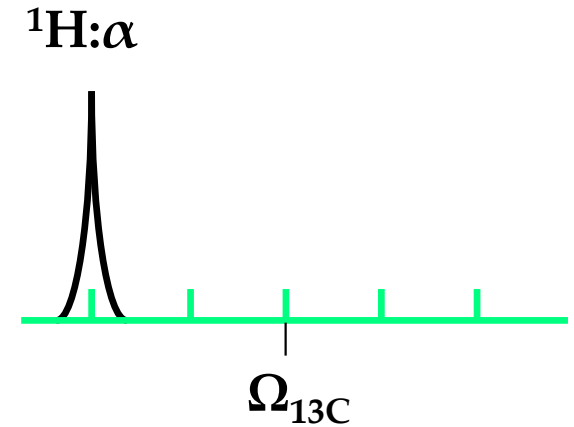




# MQ $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ 交差相関 ( $\alpha\beta$ 縦向き)

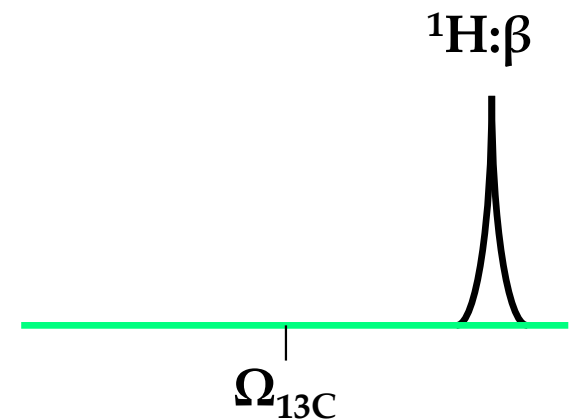
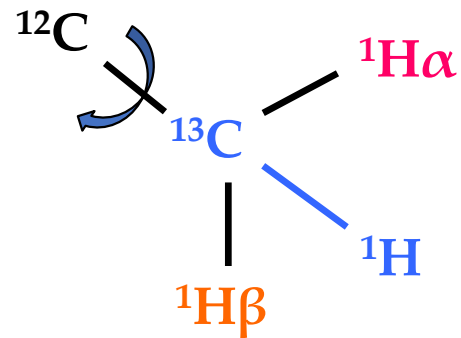
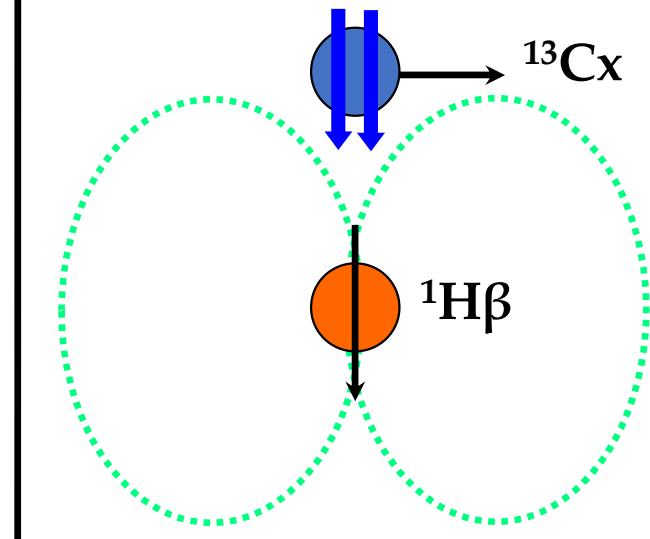


$^{13}\text{C}$  を検出



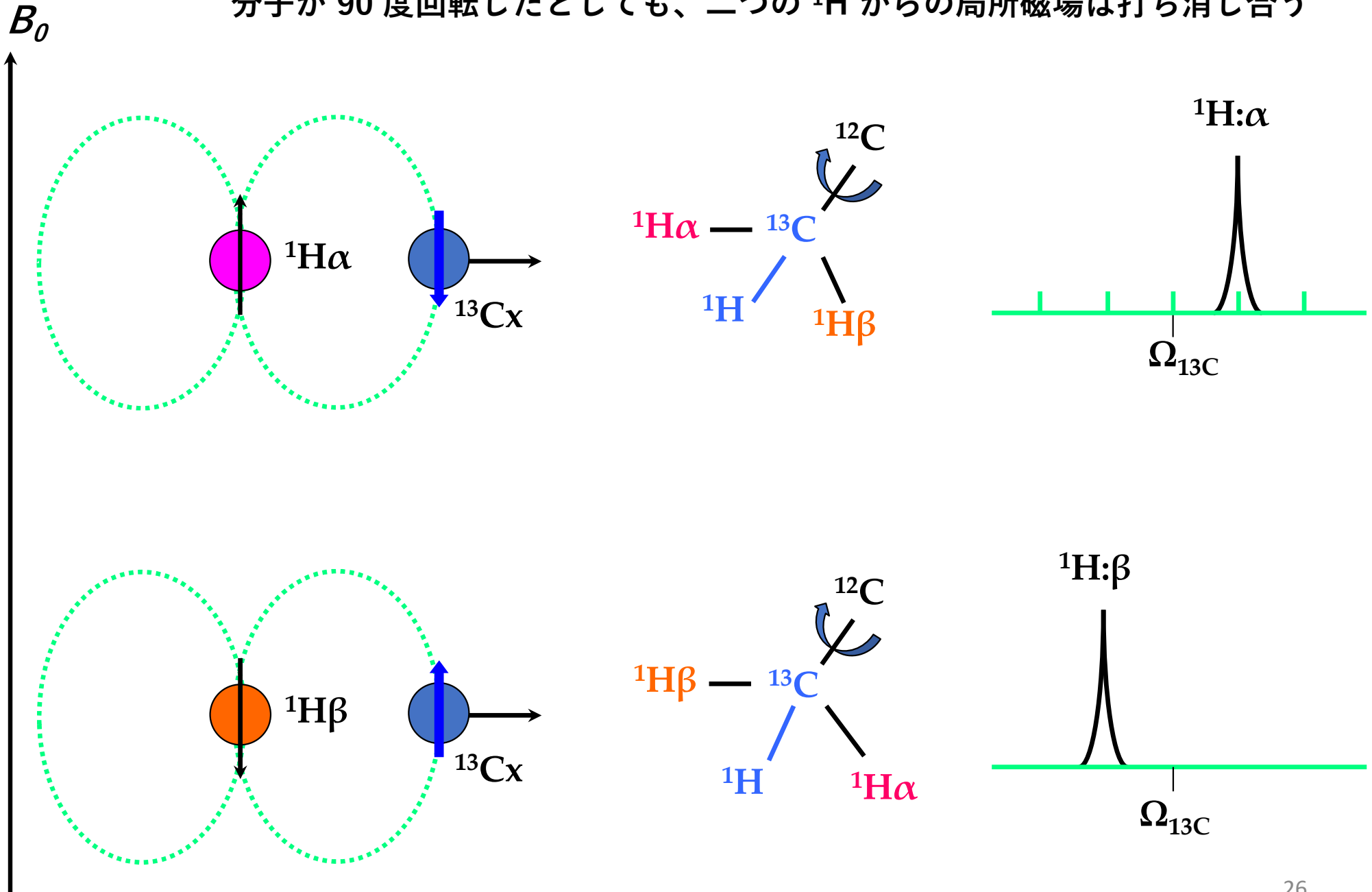
メチル基は高速回転

→ 二つの  $^1\text{H}$  スピンは同じ場所にあるかのよう



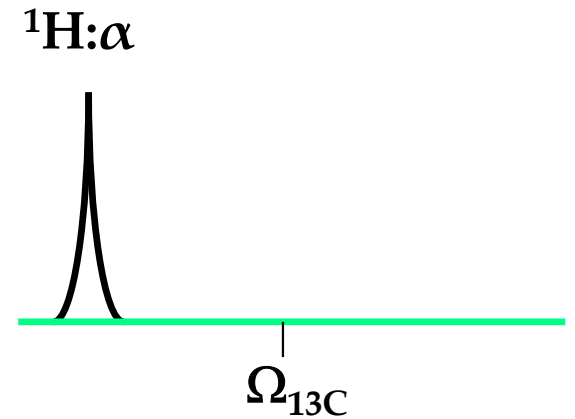
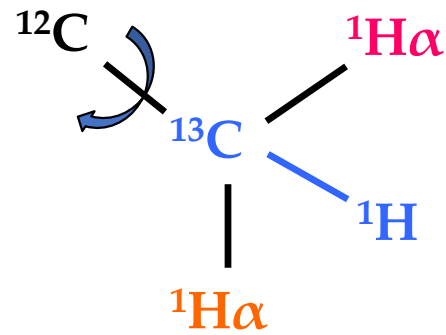
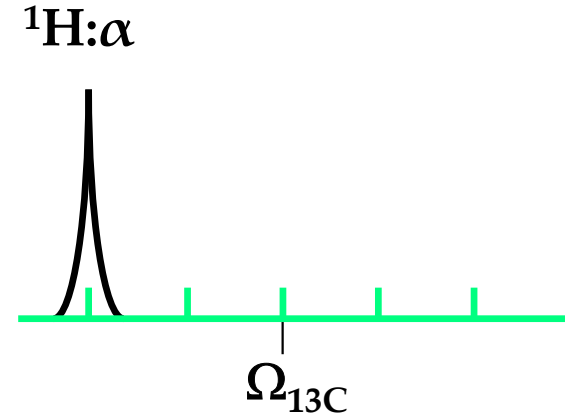
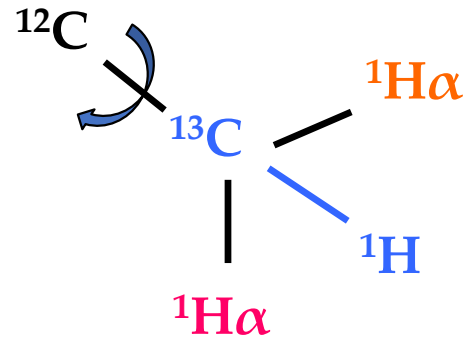
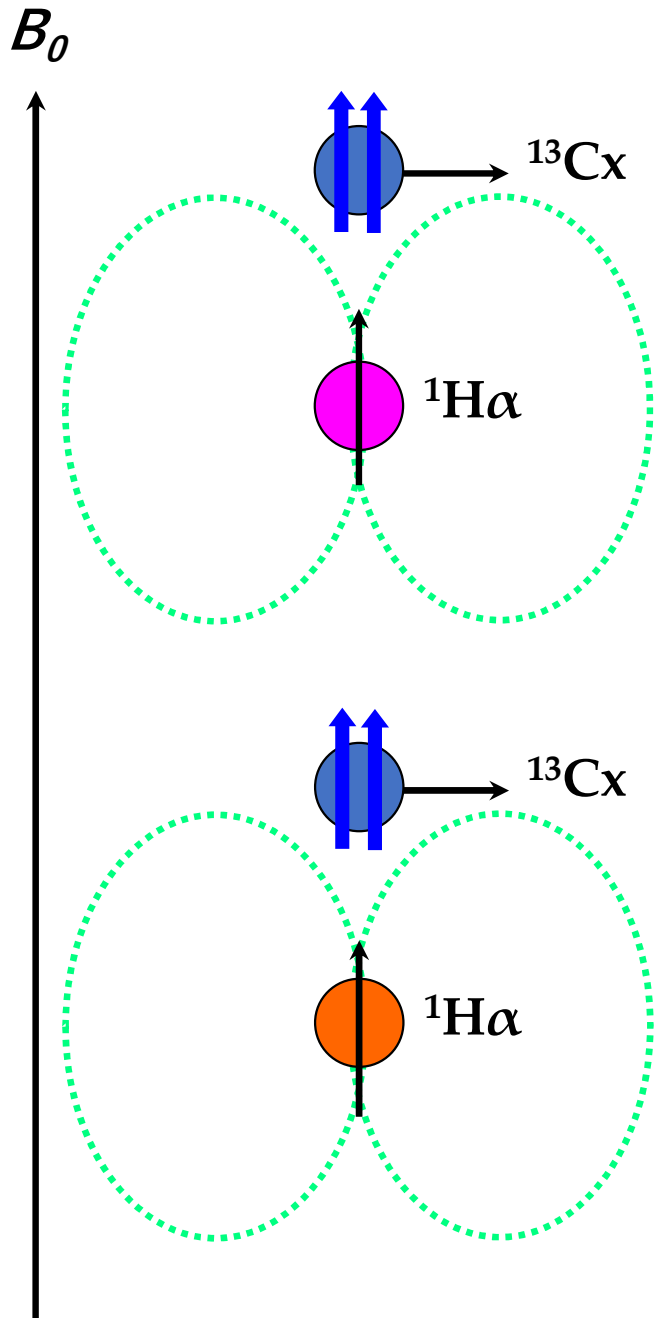
# MQ $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ 交差相関 ( $\alpha\beta$ 横向き)

分子が 90 度回転したとしても、二つの  $^1\text{H}$  からの局所磁場は打ち消し合う



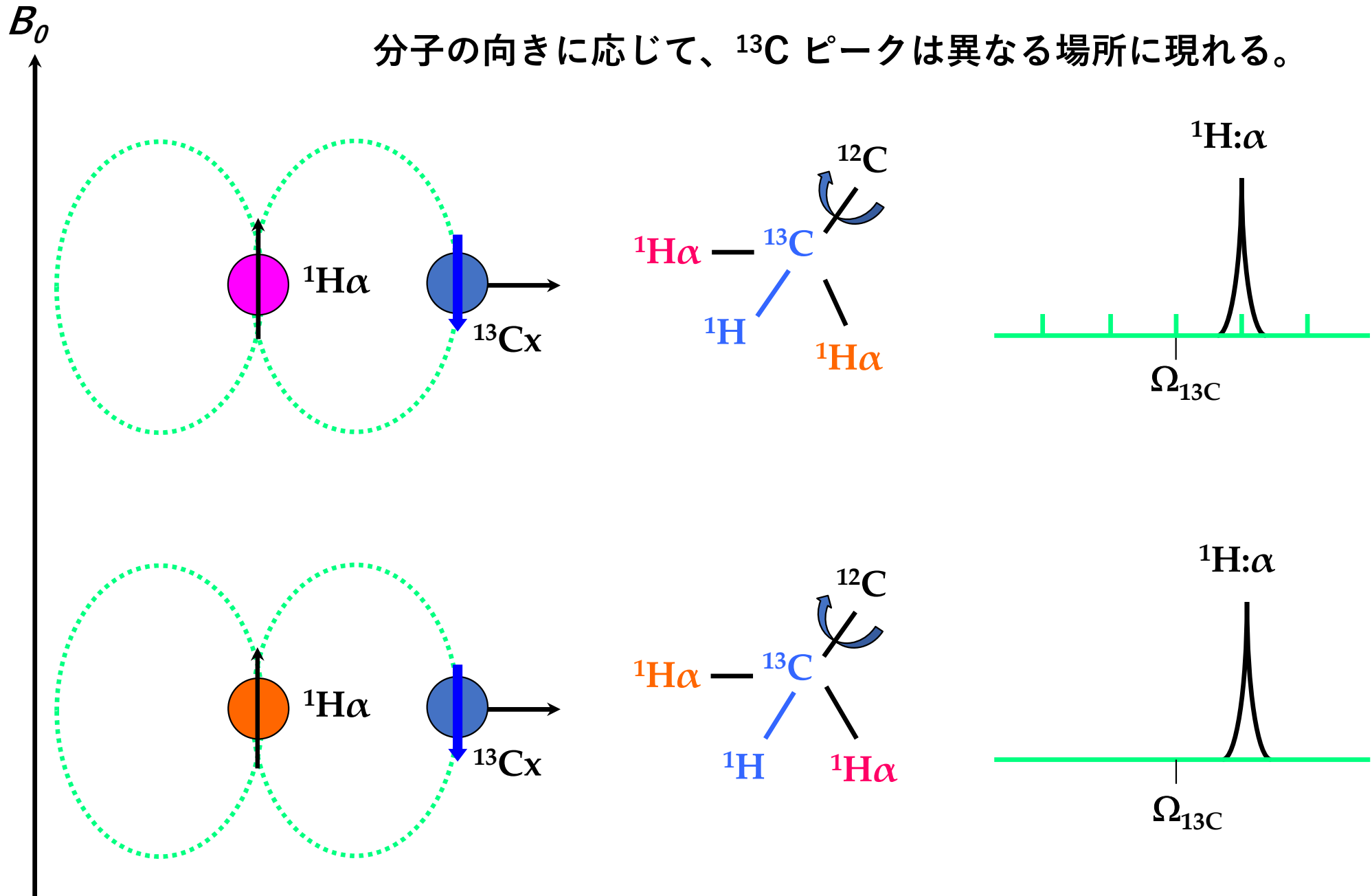
# MQ { $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ } 交差相関 ( $\alpha\alpha$ 縦向き)

二つの  $^1\text{H}$  スピンが ( $\alpha\alpha$ ) の場合、局所磁場は打ち消し合わない

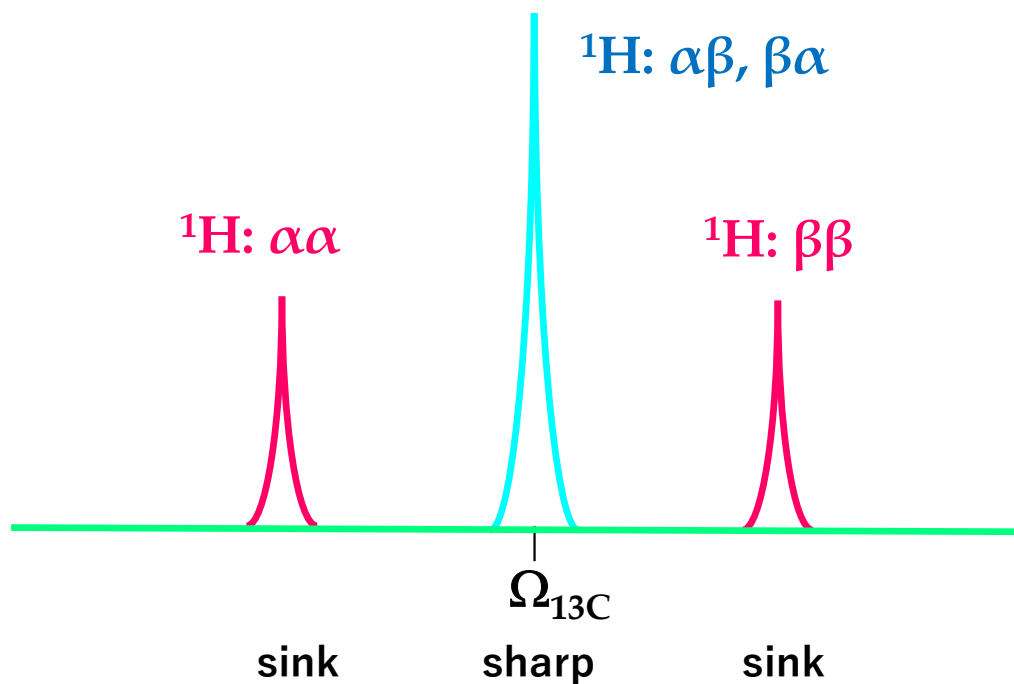
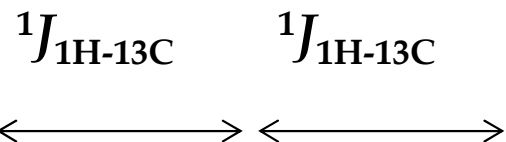
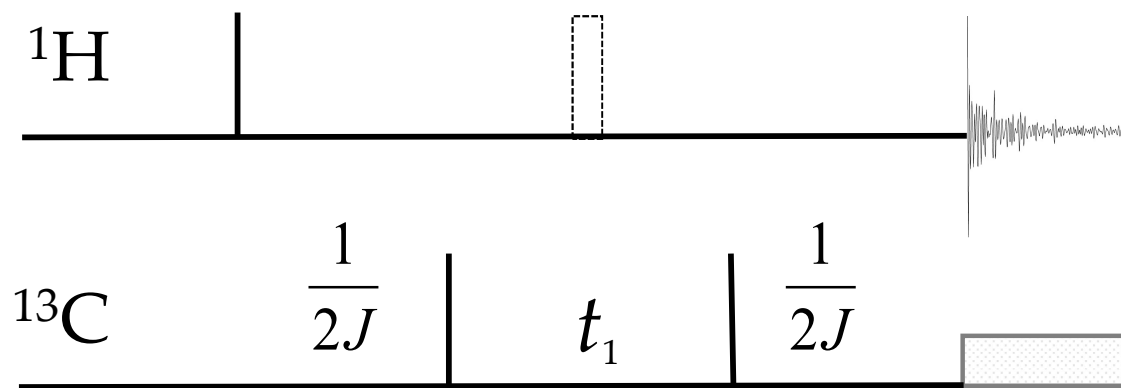


# MQ { $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ } 交差相関 ( $\alpha\alpha$ 横向き)

分子の向きに応じて、 $^{13}\text{C}$  ピークは異なる場所に現れる。

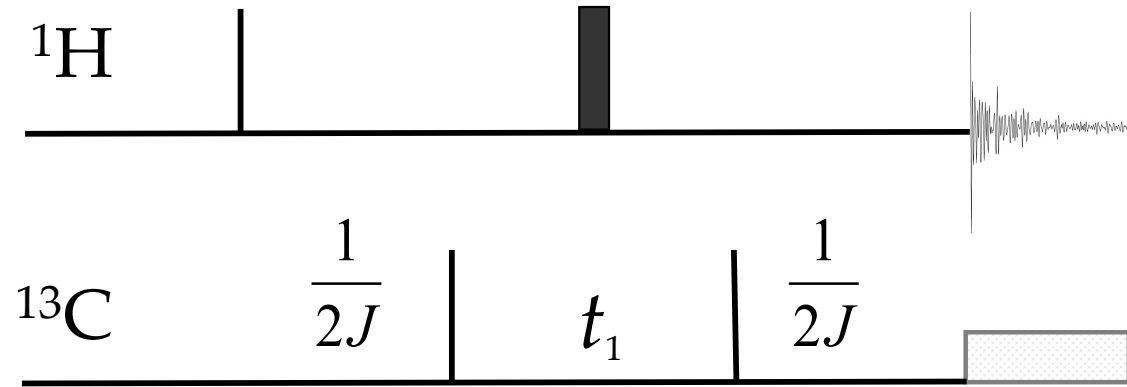


# $^1\text{H}$ $\pi$ パルス がない場合

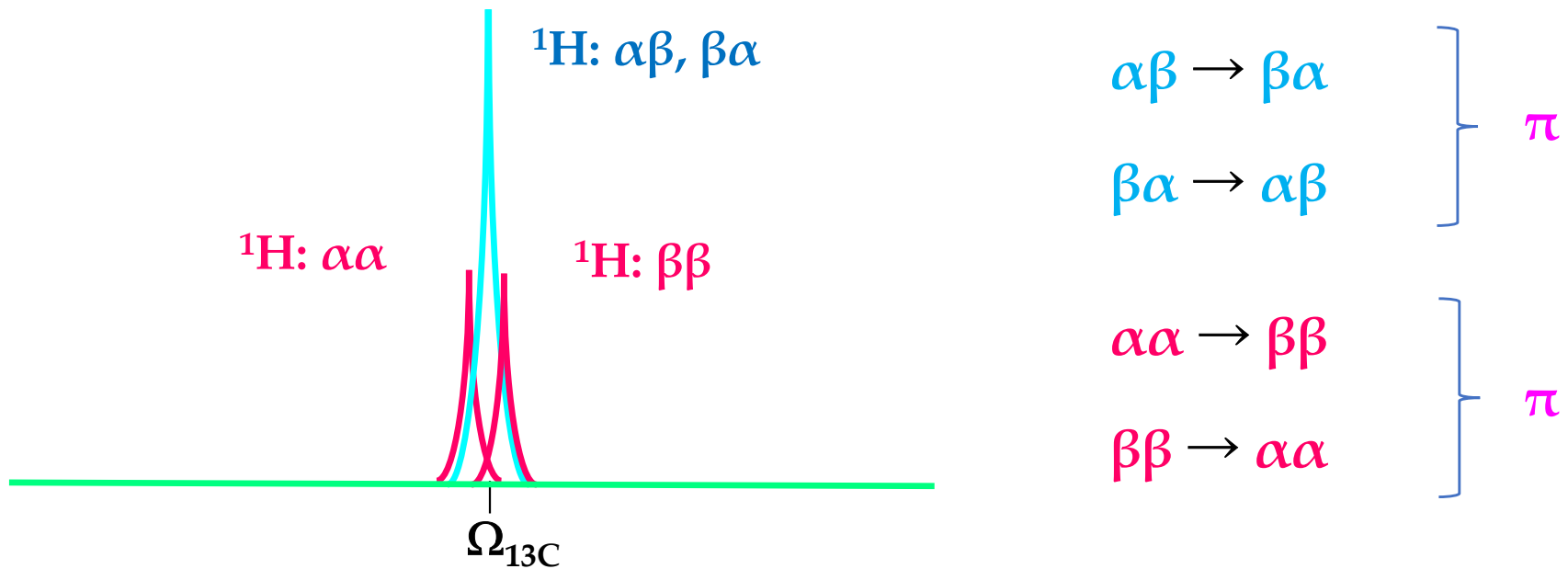


{ $\alpha\beta$ ,  $\beta\alpha$ } に { $\alpha\alpha$ } や { $\beta\beta$ } を重ねてもよいが、混ぜてはならない！

# $^1\text{H}$ $\pi$ パルス がある場合



重なってはいるが、混ぜてはいない



以降ではスピン量子数を  $\frac{1}{2}$  とします

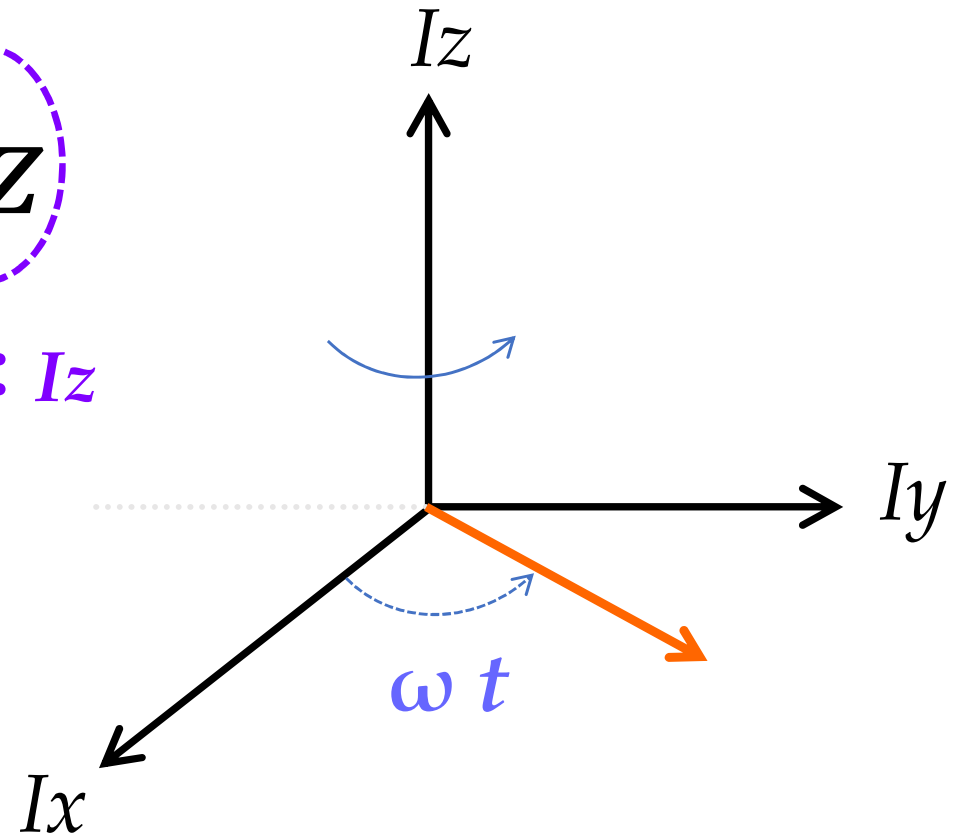
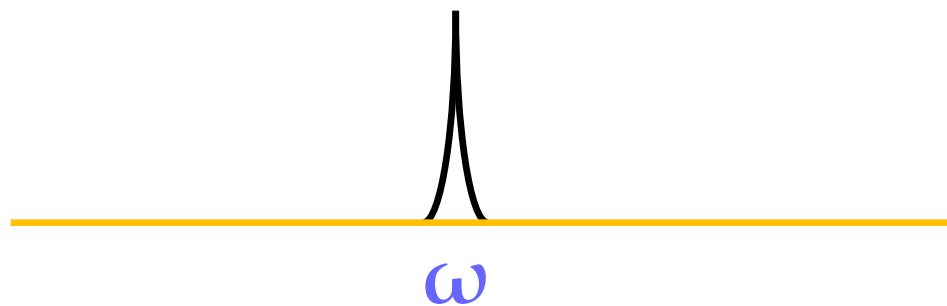
## 化学シフトの展開

$$I_x \rightarrow I_x \cos(\omega t) + I_y \sin(\omega t)$$

0 度                      90 度

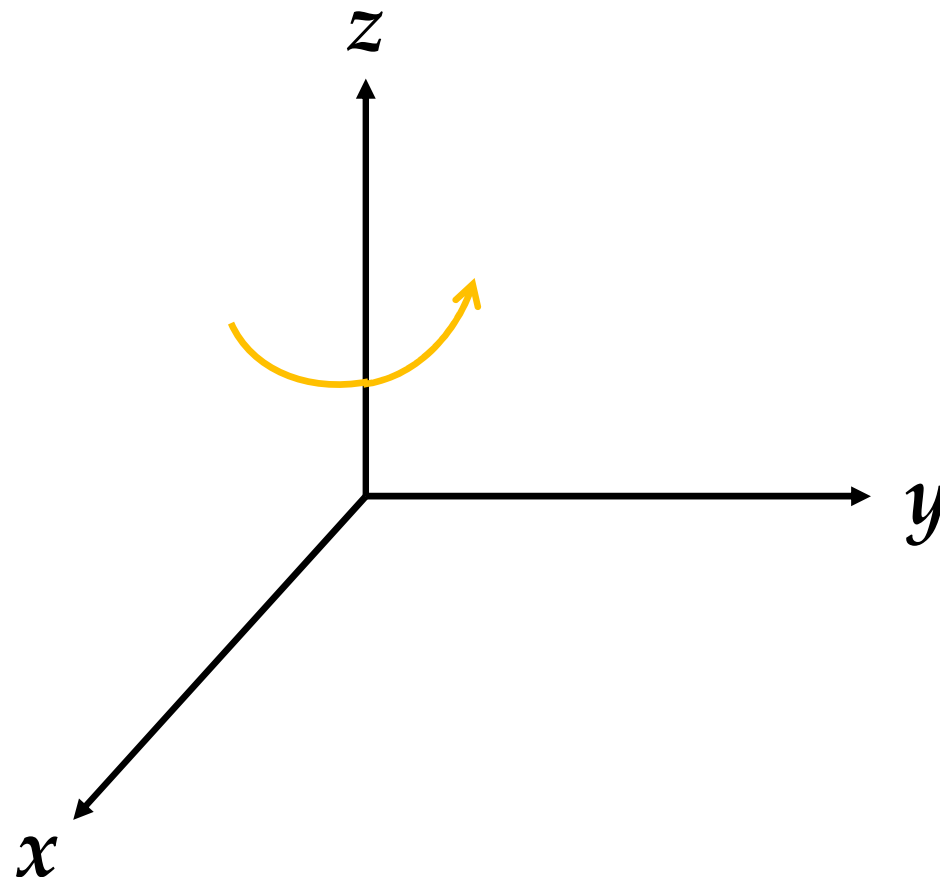
$$\mathcal{H} = \omega \cdot I_z$$

回転軸： $I_z$



# 交換演算子は 90 度回転先を表す

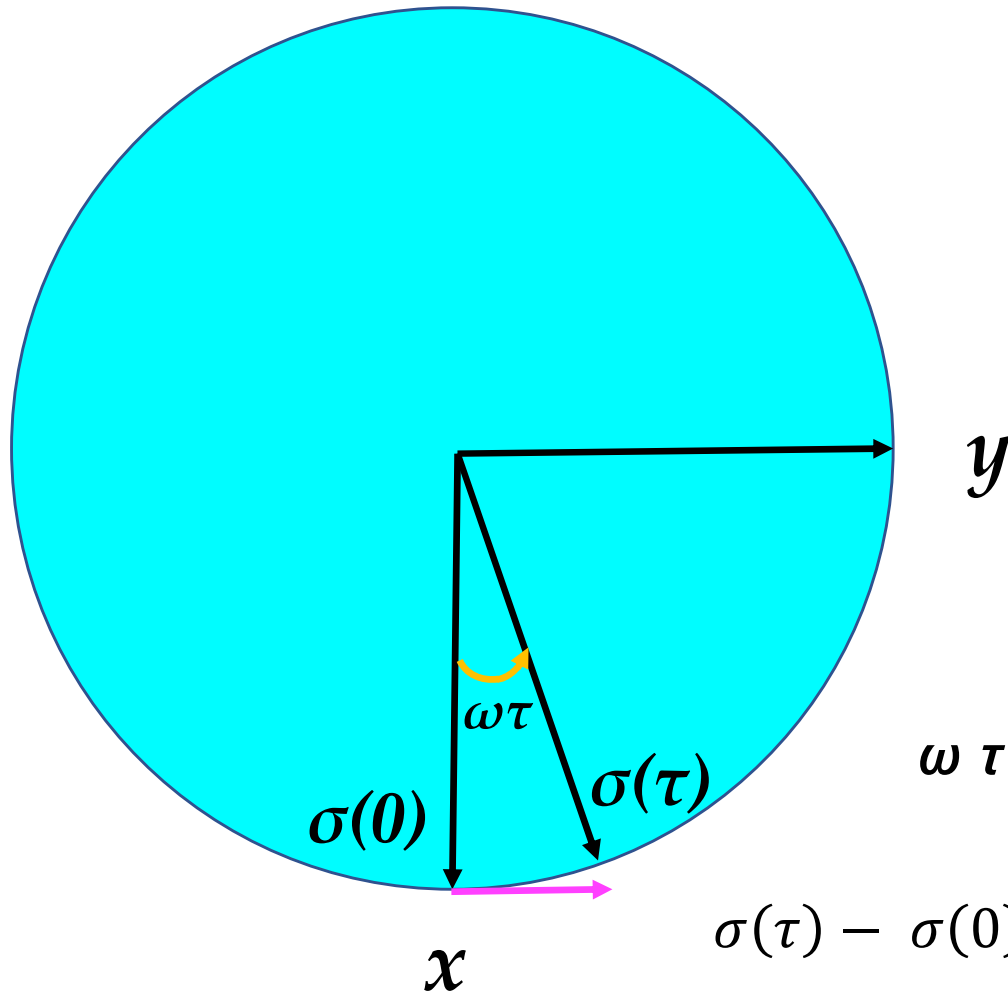
$$[I_z, I_x] = I_z I_x - I_x I_z = i I_y$$





# 交換演算子は 90 度回転先を表す

$$[I_z, I_x] = I_z I_x - I_x I_z = i I_y$$



$\omega \tau$  を小さくすると、直角方向になる

$$\sigma(\tau) - \sigma(0) = I_y \omega \tau = -i [I_z, \sigma(0)] \omega \tau$$

$$\sigma(\tau) = I_x + I_y \omega \tau = I_x - i [I_z, I_x] \omega \tau$$

$$\sigma(\tau) = I_x + I_y \omega \tau = I_x - i [I_z, I_x] \omega \tau$$

$$\sigma(\tau) - I_x = -i [\omega I_z, I_x] \tau$$

$$\sigma(\tau) - \sigma(0) = -i [\mathcal{H}, \sigma(0)] \tau$$

$$\frac{\sigma(\tau) - \sigma(0)}{\tau} = -i [\mathcal{H}, \sigma(0)]$$

$$\frac{d\sigma}{dt} = -i [\mathcal{H}, \sigma]$$

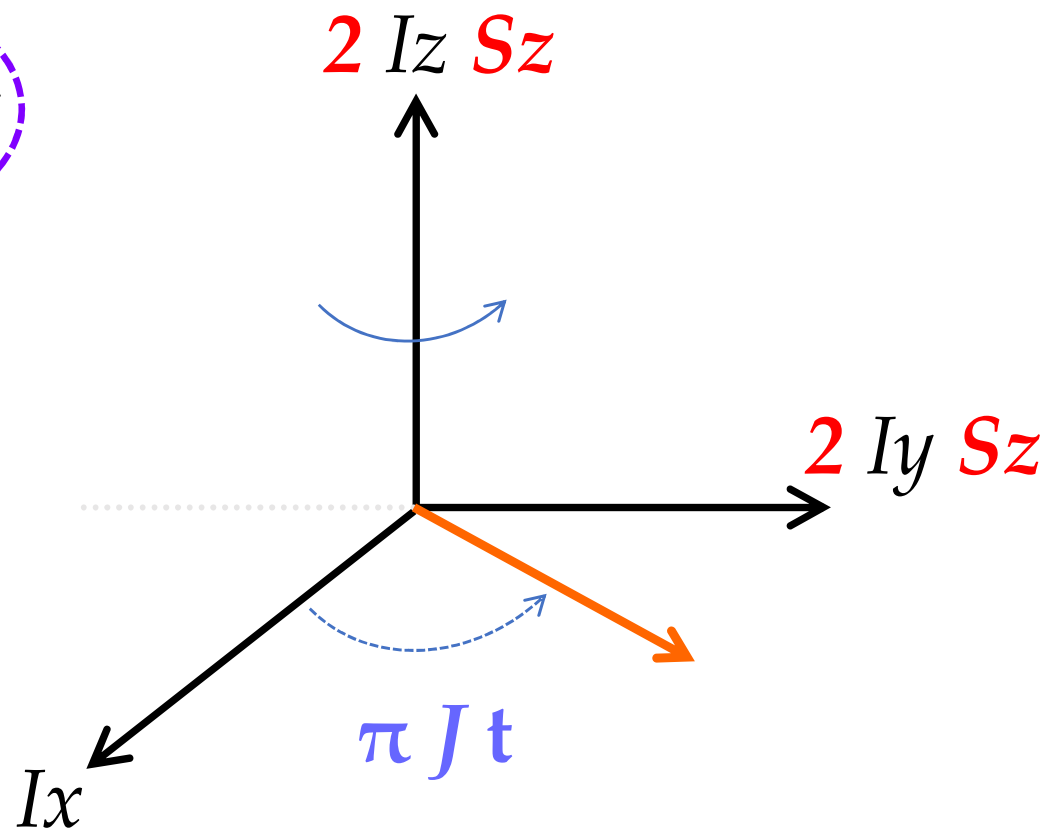
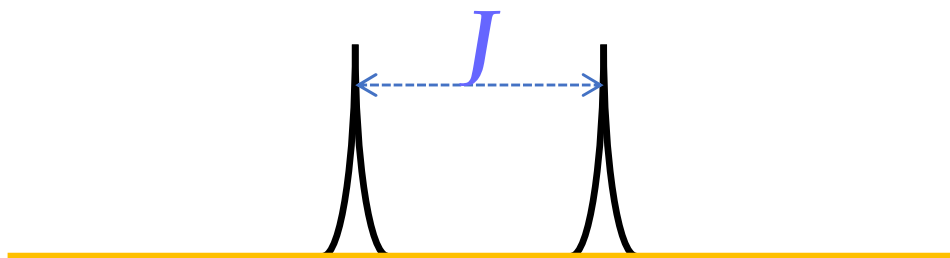
Liouville von Neumann 方程式

## Jカップリングの展開

$$I_x \rightarrow \underbrace{I_x}_{0 \text{ 度}} \cos(\pi J t) + \underbrace{2I_y S_z}_{90 \text{ 度}} \sin(\pi J t)$$

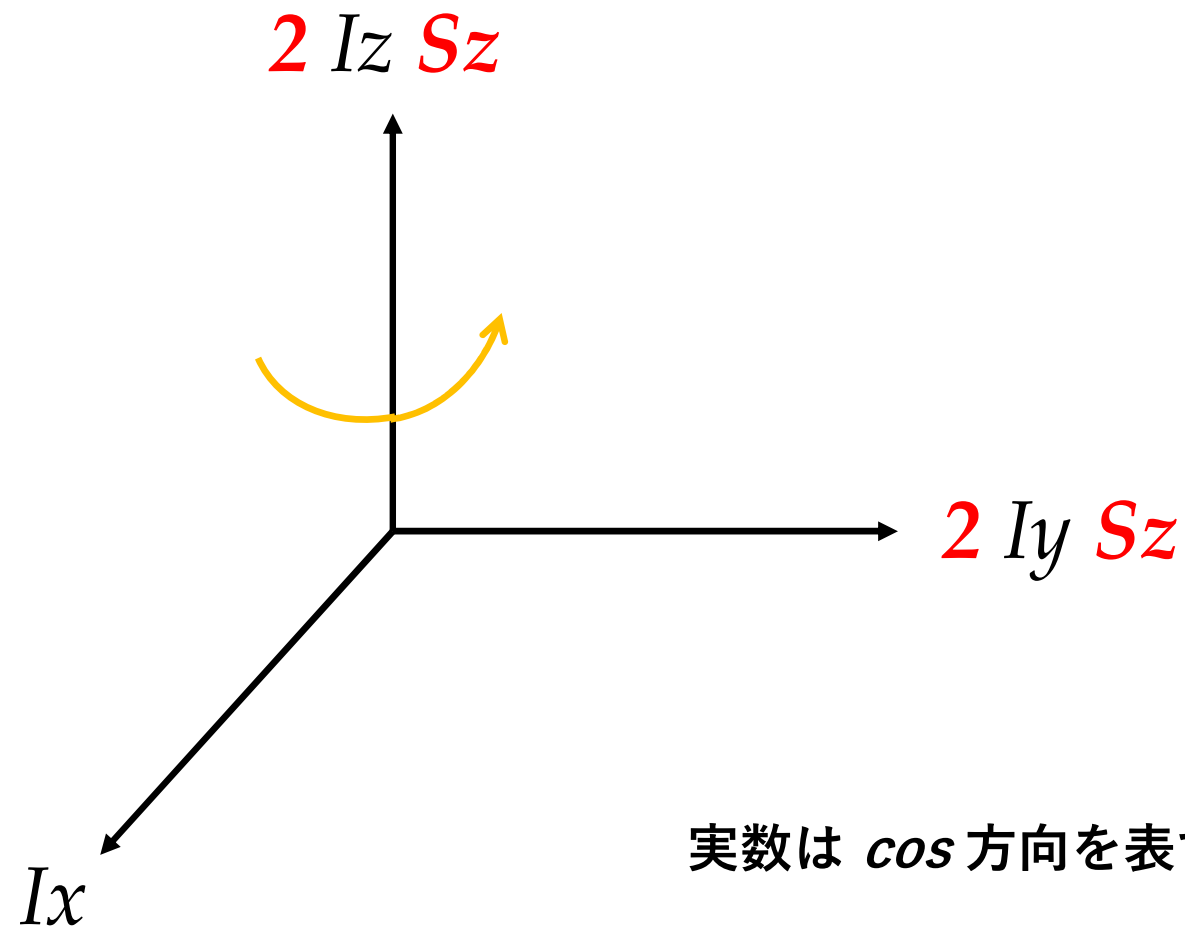
$$\mathcal{H} = \pi J \cdot \underbrace{2I_z S_z}$$

回転軸：(2 I\_z S\_z)



# 交換演算子は 90 度回転先を表す

$$[2I_z S_z, I_x] = i 2I_y S_z$$



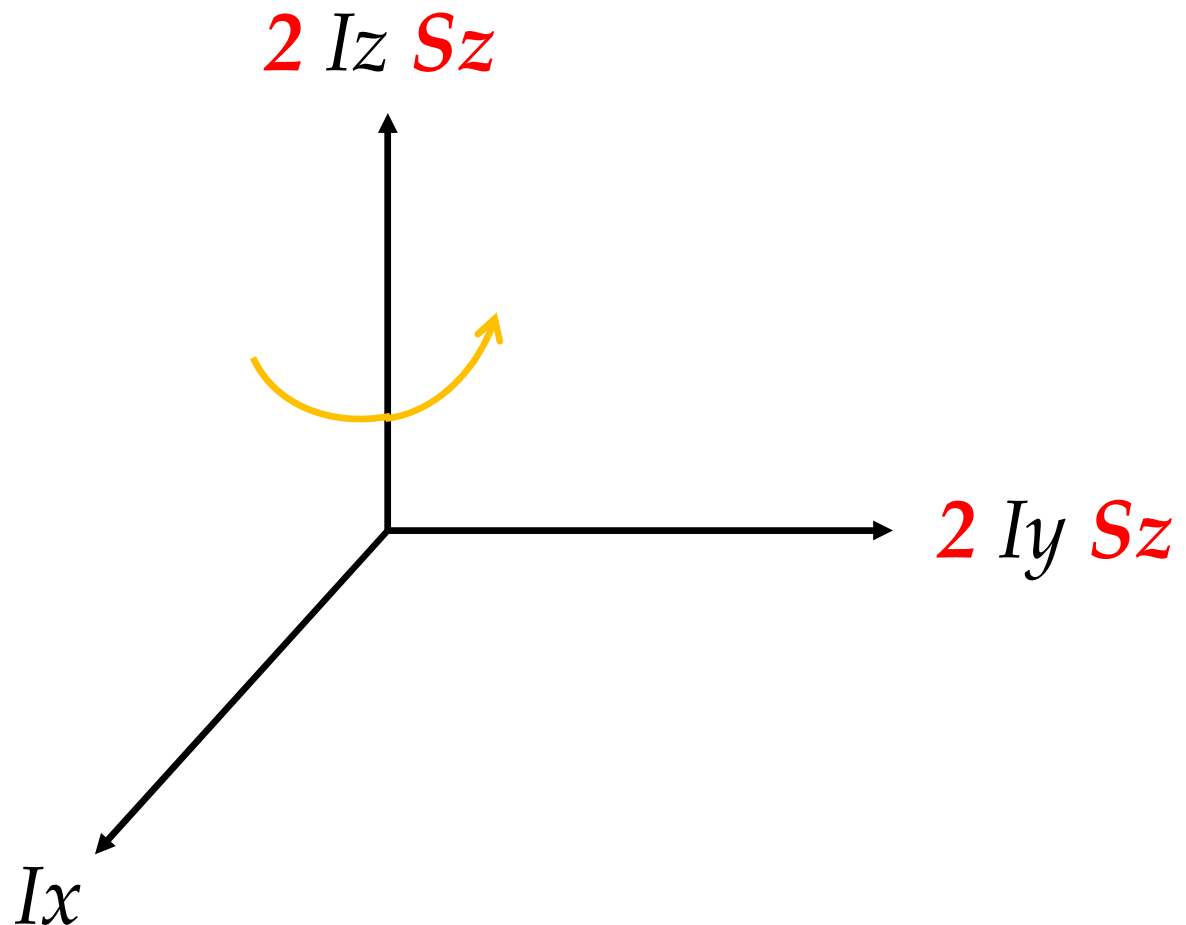
実数は  $\cos$  方向を表す

虚数は  $\sin$  方向を表す

## ダブル交換演算子は 180 度回転先を表す

$$[2I_z S_z, I_x] = i 2I_y S_z$$

$$[2I_z S_z, [2I_z S_z, I_x]] = I_x$$



実数は  $\cos$  方向を表す

$$\sigma(\tau) - \sigma(0) = -i [\mathcal{H}, \sigma(0)] \tau$$

Liouville von Neumann 方程式

小さい  $\tau$  での変化を何度も何度も  $t$  まで積み重ねていく

$$\sigma^T(t) = \sigma^T(0) - i \int_0^t [\mathcal{H}^T, \sigma^T(t')] dt'$$

コピーを代入していく。

$$\sigma^T(t') = \sigma^T(0) - i \int_0^{t'} [\mathcal{H}^T, \sigma^T(t'')] dt''$$

$$\sigma^T(t) = \sigma^T(0) - i \int_0^t [\mathcal{H}^T, \sigma^T(0)] dt' - i \int_0^t \left[ \mathcal{H}^T, -i \int_0^{t'} [\mathcal{H}^T, \sigma^T(t'')] dt'' \right] dt'$$

$$\sigma^T(t) = \sigma^T(0) - i \int_0^t [\mathcal{H}^T, \sigma^T(0)] dt' - \int_0^t \int_0^{t'} [\mathcal{H}^T, [\mathcal{H}^T, \sigma^T(t'')]] dt' dt''$$

まだ更にコピーを代入していく？  
もう止めておこう。

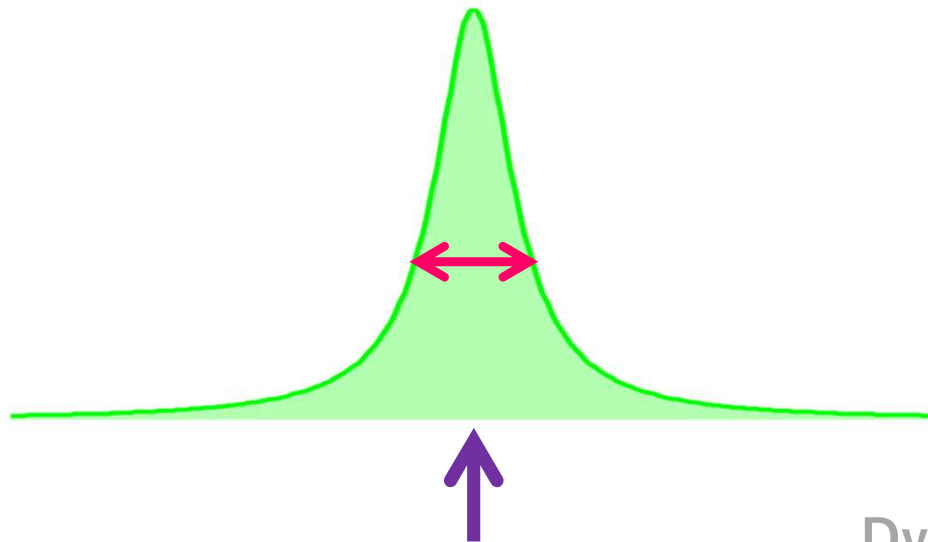
$$\sigma^T(t) = \sigma^T(0) - i \int_0^t [\mathcal{H}^T, \sigma^T(0)] dt' - \int_0^t \int_0^{t'} [\mathcal{H}^T, [\mathcal{H}^T, \sigma^T(t'')]] dt' dt''$$

また微分して、Liouville von Neumann 方程式のように微小変化を表す

$$\frac{d\sigma^T(t)}{dt} = -i [\mathcal{H}^T, \sigma^T(0)] - \int_0^t [\mathcal{H}^T, [\mathcal{H}^T, \sigma^T(0)]] dt'$$

虚数：共鳴位置を表す

実数：緩和を表す



Dynamic frequency shift<sub>9</sub>は？

$$\frac{d\sigma^T(t)}{dt} = -i [\mathcal{H}^T, \sigma^T(0)] - \int_0^t [\mathcal{H}^T, [\mathcal{H}^T, \sigma^T(0)]] dt'$$


この二つを異なる組み合わせにする

→ 交差緩和 cross-relaxation (NOE など)

$$\frac{d\sigma^T(t)}{dt} = -i [\mathcal{H}^T, \sigma^T(0)] - \int_0^t [\mathcal{H}^T, [\mathcal{H}^T, \sigma^T(0)]] dt'$$


この二つを異なる組み合わせにする

→ 交差相関緩和 cross-correlated relaxation

$^{15}\text{N}$ -CSA と  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  DD

メチル基  $^1\text{H}_1$ - $^{13}\text{C}$  DD と  $^1\text{H}_2$ - $^{13}\text{C}$  DD

$^{15}\text{N}$   $T_1$ ,  $T_2$ , NOE<sub>40</sub>は?

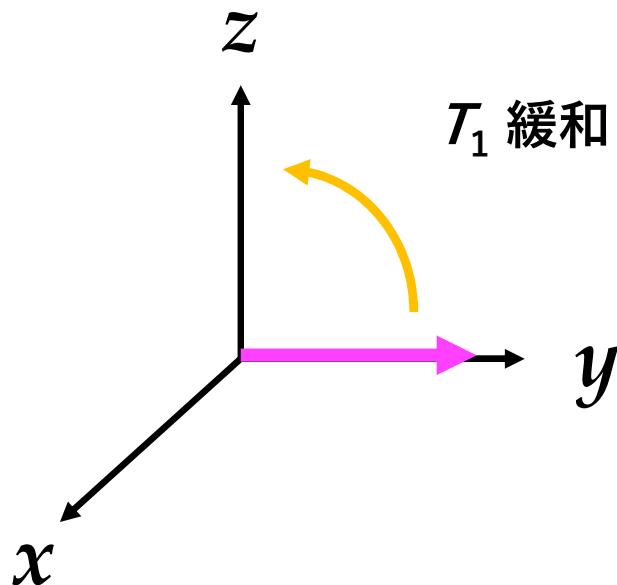


$$\frac{d\sigma}{dt} = -i [\mathcal{H}, \sigma(0)] - \int_0^t [\mathcal{H}, [\mathcal{H}, \sigma(0)]] dt'$$

$\sigma(0)$  が  $I_y$

$\mathcal{H}$  が  $I_x$  ならば、常に位相  $x$  の微小パルス

$\mathcal{H}$  が  $I_x$  ならば、位相  $x$  の微小パルスを打ち、  
微小時間  $\tau$  の直後にもまた位相  $x$  の微小パルス



(注) この時の位相  
は実験室座標系！

微小パルス：  
双極子間相互作用  
化学シフト異方性

## 双量子双量子相互作用

$$H_d = \frac{\gamma_I \gamma_S \hbar^2}{r^3} \left[ \vec{I} \cdot \vec{S} - 3(\vec{I} \cdot \vec{e}_r)(\vec{S} \cdot \vec{e}_r) \right]$$

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

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

異種核で高分子の線幅にもろに影響する

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

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

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

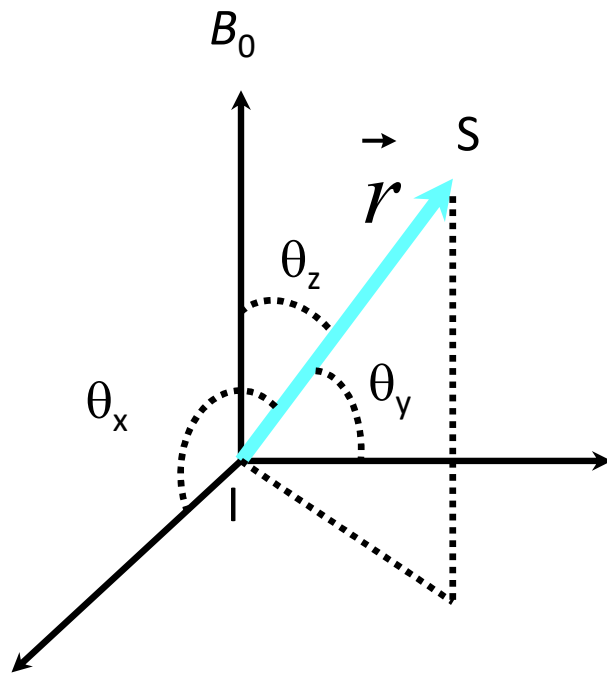
$$E = -\frac{3}{4} I^+ S^+ \sin^2 \theta \exp(-2i\varphi)$$

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

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

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

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



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

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

$$- 3 I_X S_X \cos \theta_X \cos \theta_X$$

$$- 3 I_X S_Y \cos \theta_X \cos \theta_Y$$

$$- 3 I_X S_Z \cos \theta_X \cos \theta_Z$$

$$- 3 I_Y S_X \cos \theta_Y \cos \theta_X$$

$$- 3 I_Y S_Y \cos \theta_Y \cos \theta_Y$$

$$- 3 I_Y S_Z \cos \theta_Y \cos \theta_Z$$

$$- 3 I_Z S_X \cos \theta_Z \cos \theta_X$$

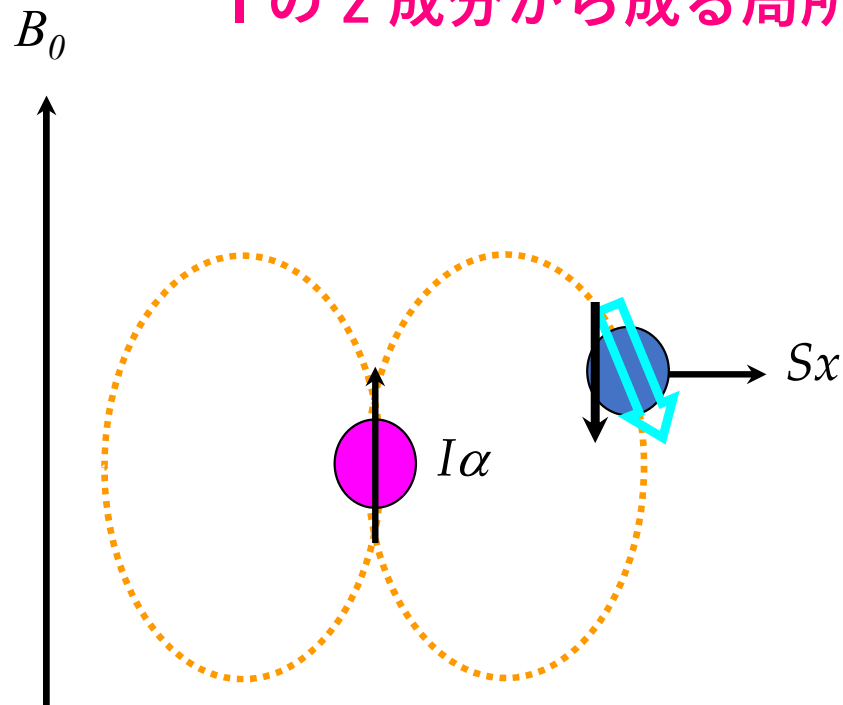
$$- 3 I_Z S_Y \cos \theta_Z \cos \theta_Y$$

$$- 3 I_Z S_Z \cos \theta_Z \cos \theta_Z$$

$$\frac{d\sigma^T(t)}{dt} = - \int_0^\infty \left[ \overline{\mathcal{H}_1^T(t)}, \left[ \overline{\mathcal{H}_1^T(t-\tau)}, \sigma^T(t) \right] \right] d\tau$$

$$\left[ 2I_z S_z, \left[ 2I_z S_z, S_x \right] \right] = S_x$$

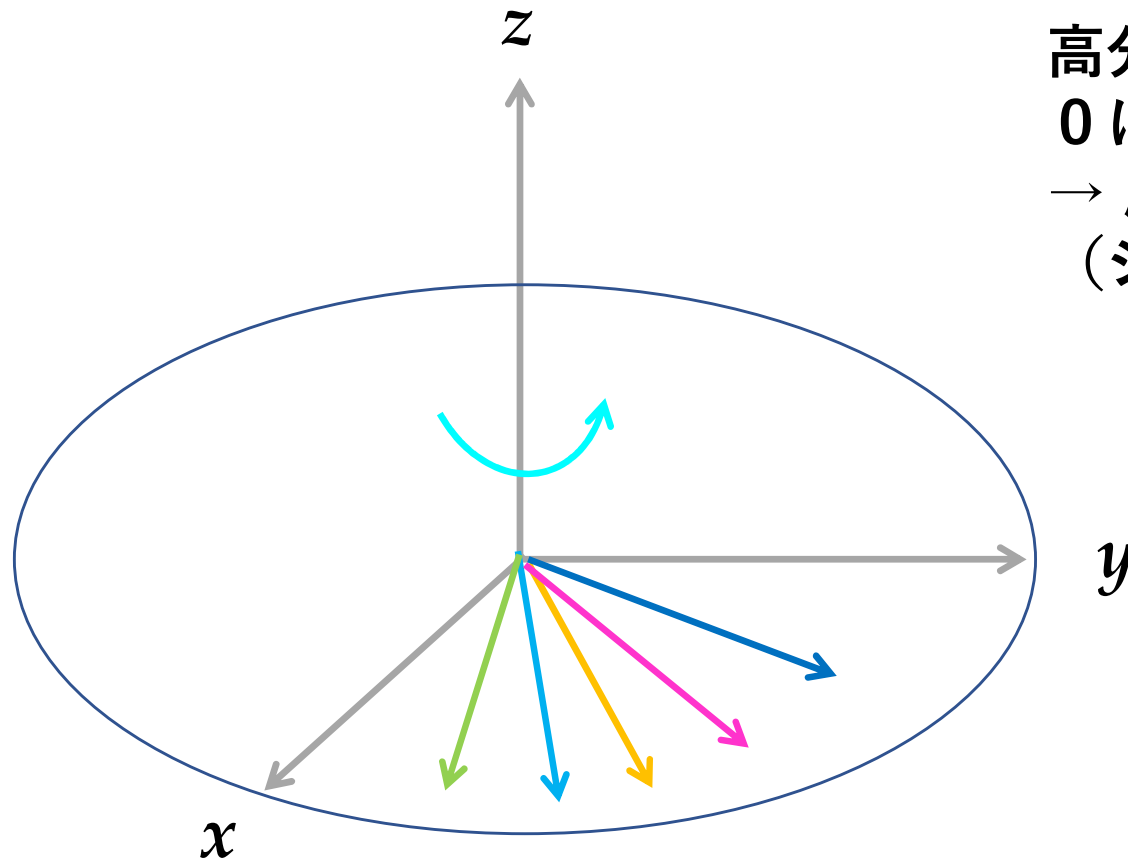
I の z 成分から成る局所磁場のうち S の位置での z 成分



$\tau$  秒後にも同じ位置関係にあると、このダブル交換演算子が効いて、z 軸周りに回転が起きてしまう。

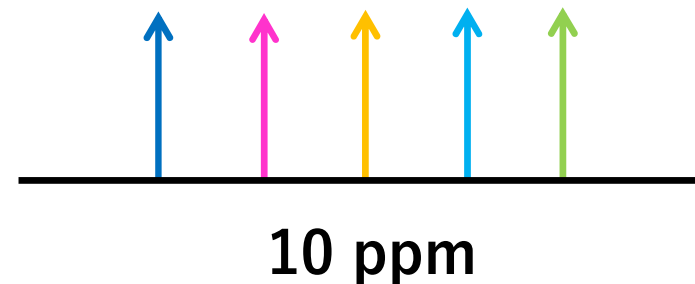
→ 高分子の  $T_2$  横緩和

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  はさまざまな向きを向いているので、 $I_z S_z$  による  
 $S$ スピンの  $z$  軸周りの回転もさまざま



$\sim 10^{17}$  個の  $^{13}\text{C}$  スピン

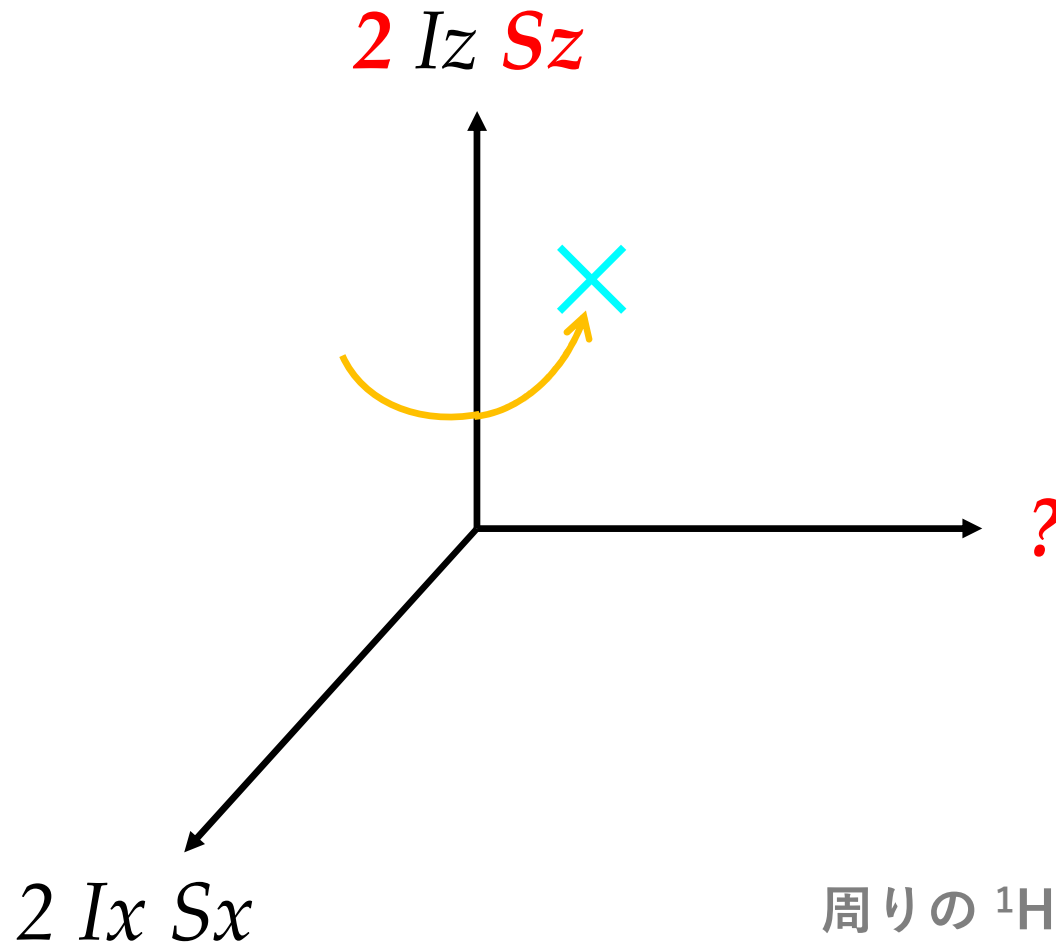
高分子では回転拡散が遅いので、  
0 に平均化されにくい。  
→ 広幅化  
(シムがずれている様)



# 多量子の横緩和は高分子量でもそれほど酷くはない

$$[2I_z S_z, 2I_x S_x] = 0$$

何故この回転が起きないのか、うまく図示できません。すみません。。

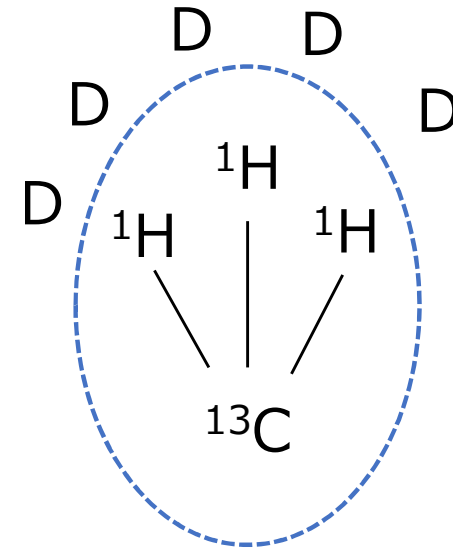


周りの  $^1\text{H}$  との DD による緩和は酷い<sub>46</sub>

## methyl-TROSY, $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ TROSY

メチル基以外の水素の  $^2\text{H}$  化が必須

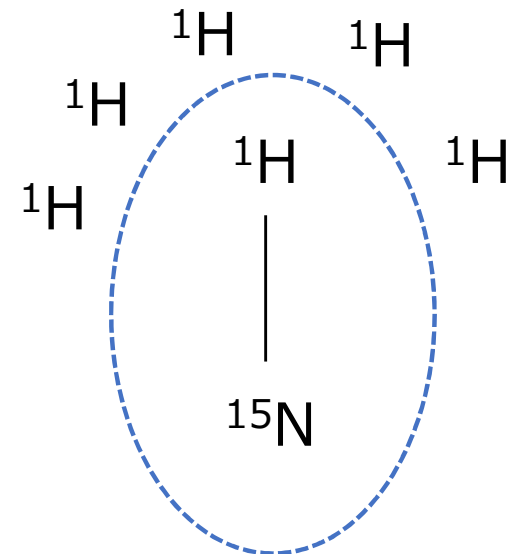
周りが  $^1\text{H}$  化されていると、それらとの交差  $T_1$  緩和により TROSY ( $\alpha\beta$ ,  $\beta\alpha$ ) と anti-TROSY ( $\alpha\alpha$ ,  $\beta\beta$ ) が混ざってしまう。  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  TROSY でもほぼ同様



## $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ SOFAST-HMQC

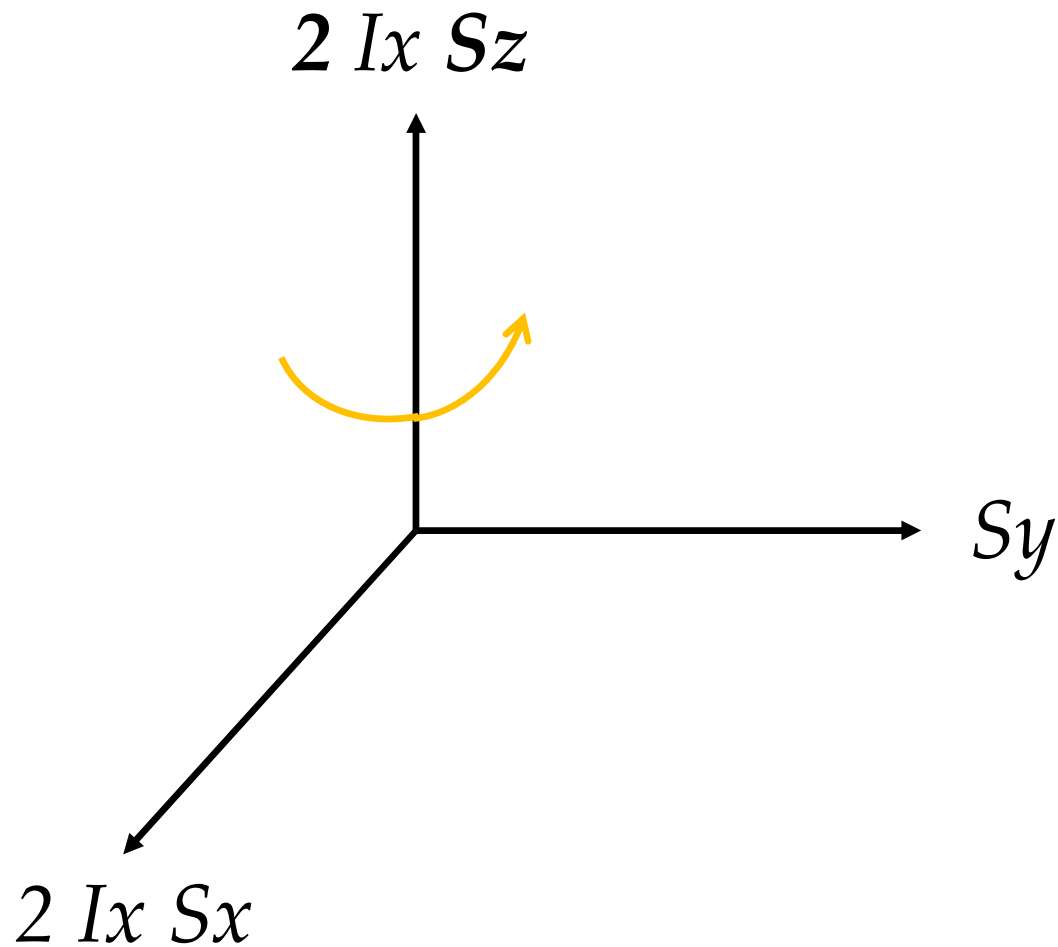
アミド基以外の水素の  $^1\text{H}$  化が必須

$^2\text{H}$  化されていると、それらとの交差  $T_1$  緩和がほとんどないため、なかなか  $^1\text{H}^{\text{N}}$  磁化が  $z$  に戻らない。



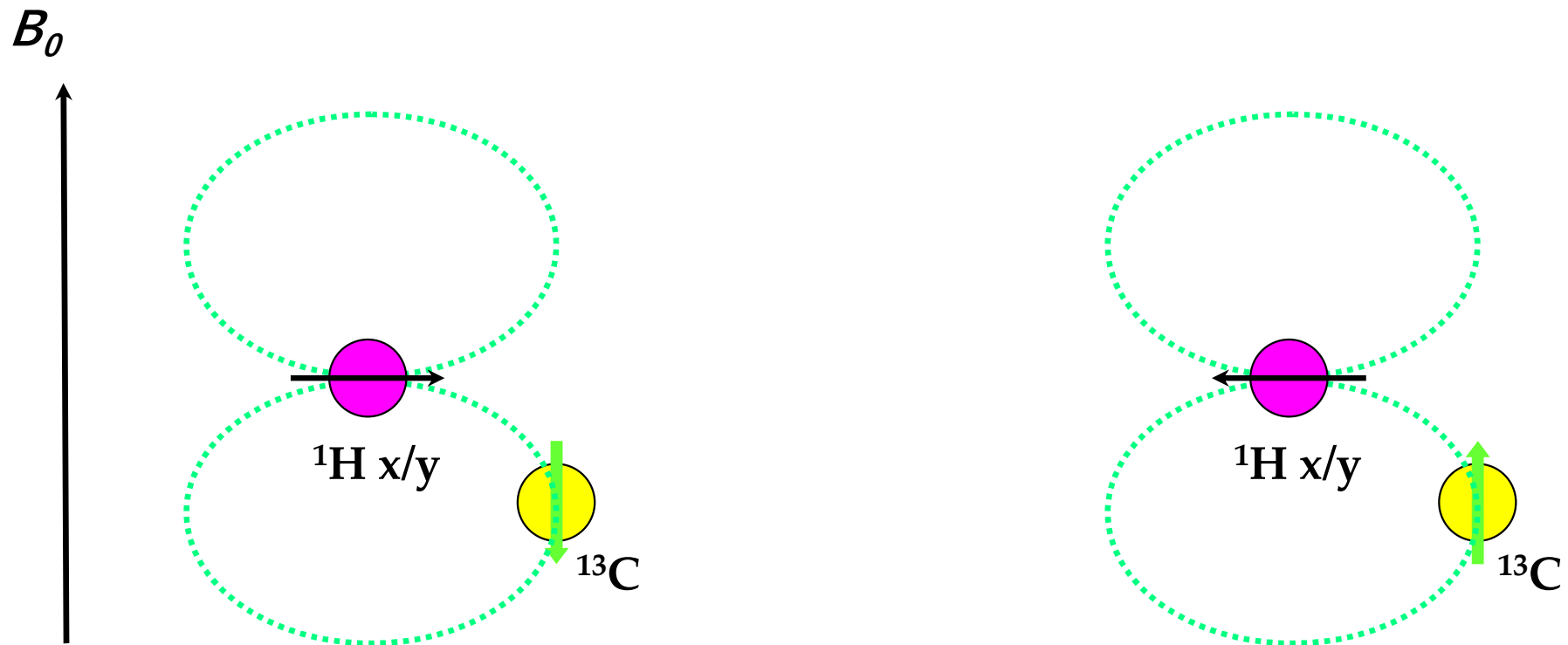
I の x 成分から成る局所磁場のうち S の位置での z 成分は、  
他量子を少しは横緩和させるが . . . .

$$[2I_x S_z, 2I_x S_x] = i S_y$$





多量子コヒーレンスでは、双極子間相互作用  
による緩和が効きにくい



$^1\text{H}_{x/y}$  がラーモア周波数 (500~1,000 MHz) で回転するため、 $^{13}\text{C}$  の位置に z 方向に沿った“決まった向きの”局所磁場を作りにくい。分子の回転とスピンの回転がたまたま同期すると (分子がラーモア周波数でたまたま回転すると) 緩和する。

$$\frac{d\sigma^T(t)}{dt} = - \int_0^\infty \left[ \overline{\mathcal{H}_1^T(t)}, \left[ \overline{\mathcal{H}_1^T(t-\tau)}, \sigma^T(t) - \sigma_0 \right] \right] d\tau$$

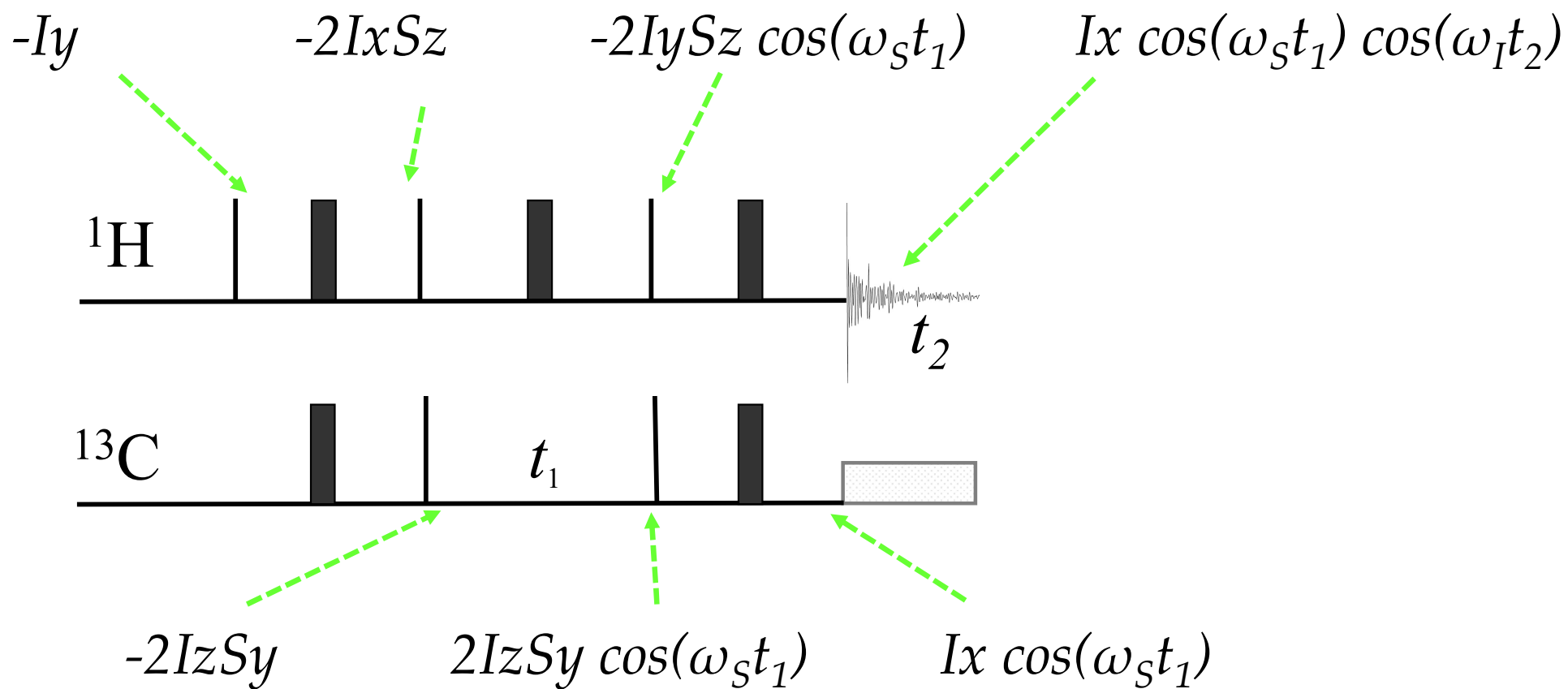
$$\mathcal{H}_1^T(t) = \sum_{q=-k}^k \sum_p (-1)^q F_k^{-q}(t) A_{kp}^q \exp(i\omega_p^q t)$$

実験室座標系ではスピン  $I_x/y$  がラーモア周波数で回転している。

$I_x S_z(t)$  と  $I_x S_z(t-\tau)$  が重なるためには  $\tau$  の間に分子もスピン  $I_x/y$  と同じ速度で回転しないといけない。

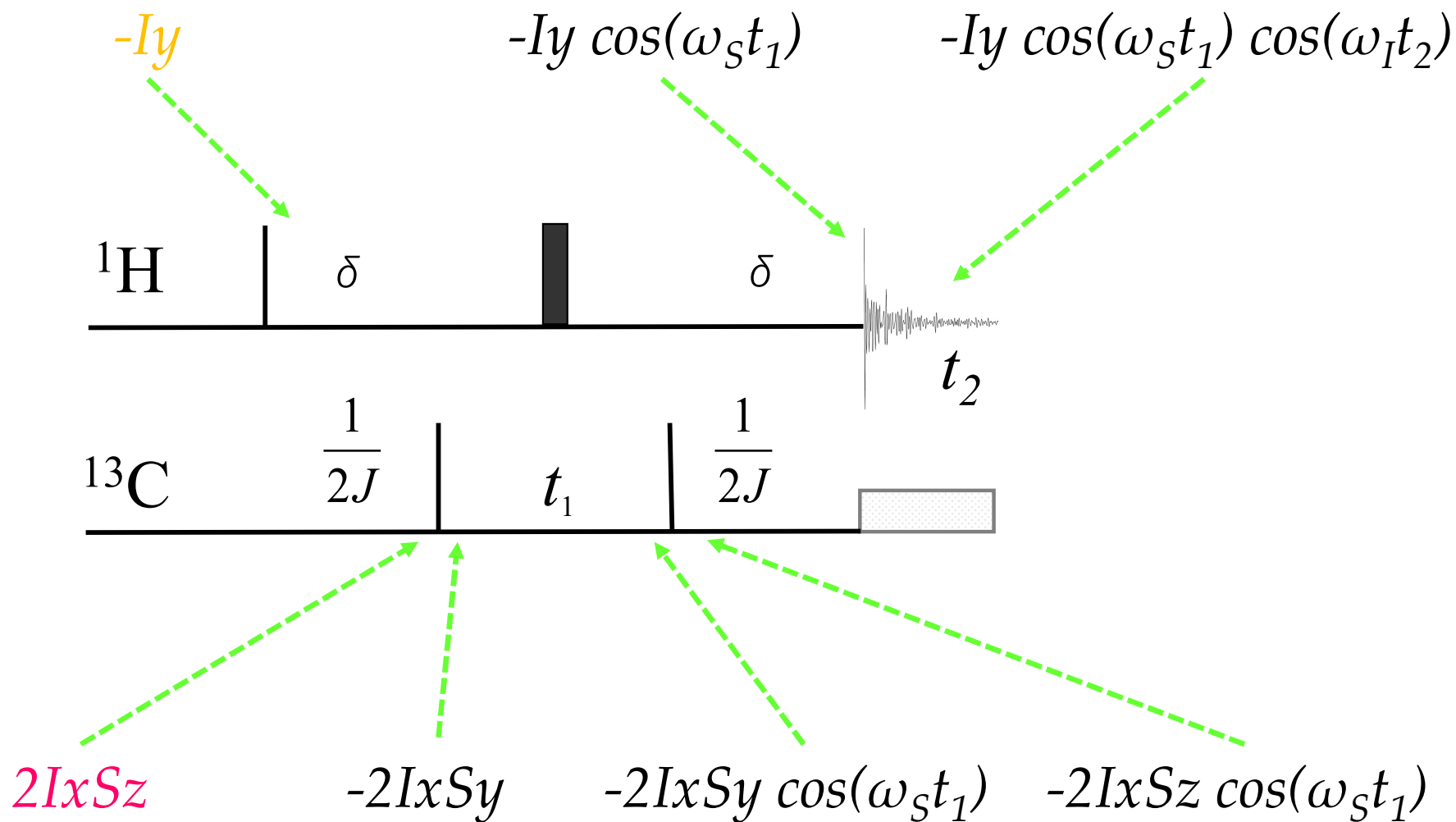
よって、高分子では分子の回転がスピン  $I_x/y$  のラーモア周波数についていけず、横緩和が小さくなる。

## メチル TROSY-HSQC は何故ないのか？



HMQC の場合  $-2I_x S_y \cos(\omega_S t_1)$

# HMQC を再掲

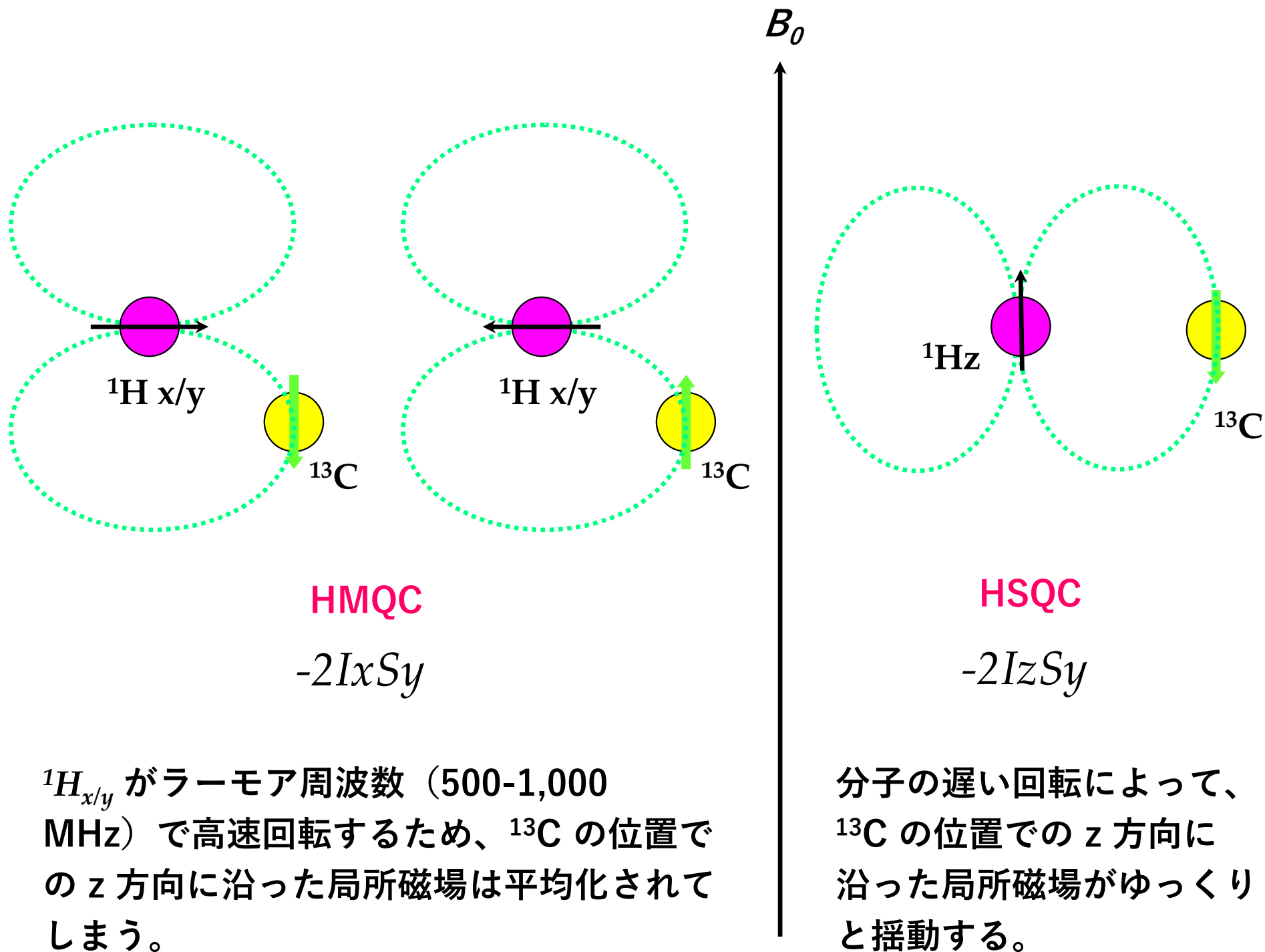


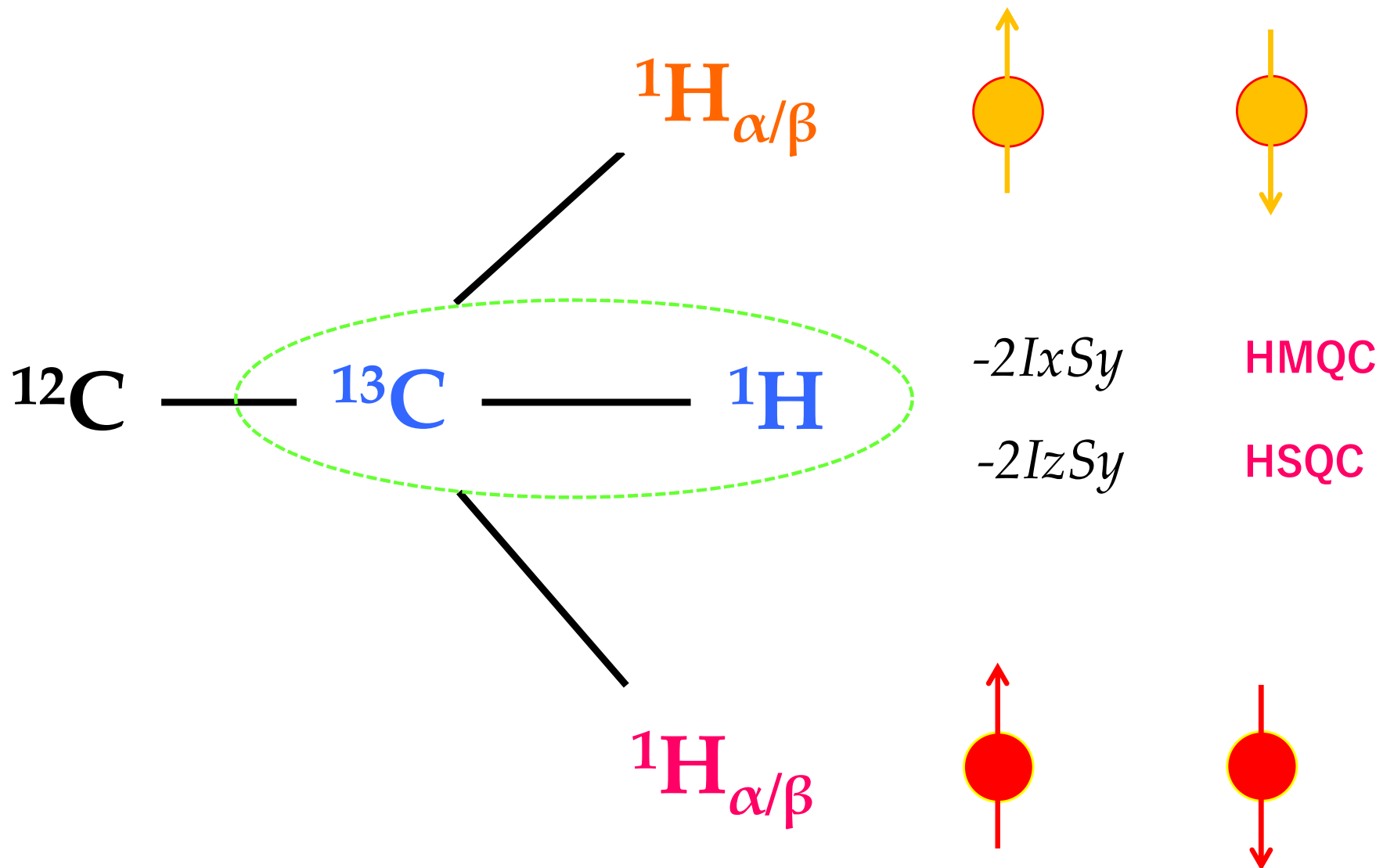
HMQC の場合

$$-2I_x S_y \cos(\omega_S t_1)$$

HSQC の場合

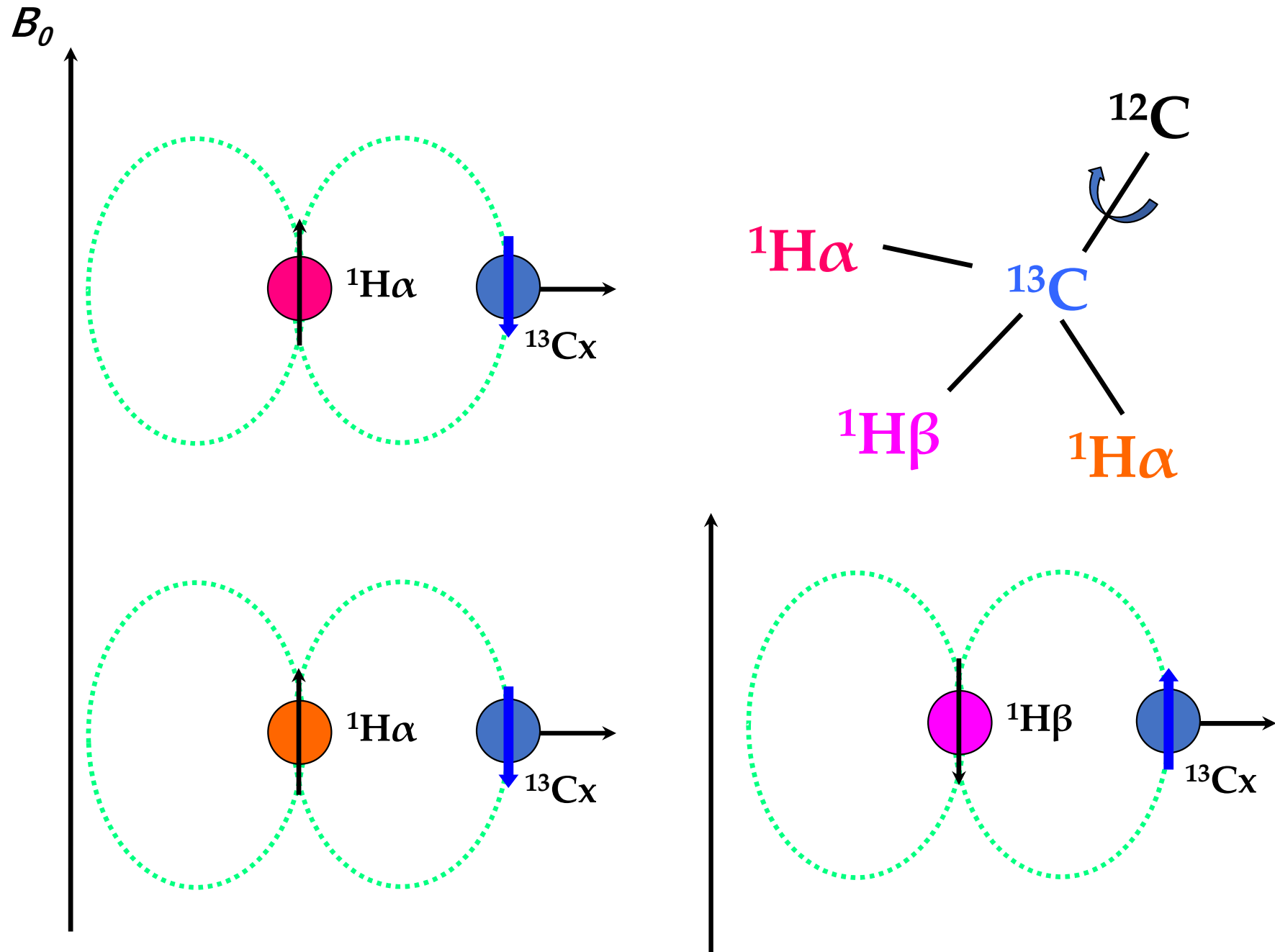
$$2I_z S_y \cos(\omega_S t_1)$$





HSQC では  $-2I_z S_y$  が自分自身の双極子間相互作用（自己相関）で緩和してしまう。HMQC の  $-2I_x S_y$  では、これがかなり抑えられる。

HSQC の場合、3本の釣り合わない双極子間相互作用が互いに  
 相関しあうため、局所磁場は完全には打ち消し合わない



## HSQC

$$-2IzSy$$

		H1	H2	H3
		$\alpha$	$\alpha$	$\beta$
H1	$\alpha$	+	+	-
H2	$\alpha$	+	+	-
H3	$\beta$	-	-	+

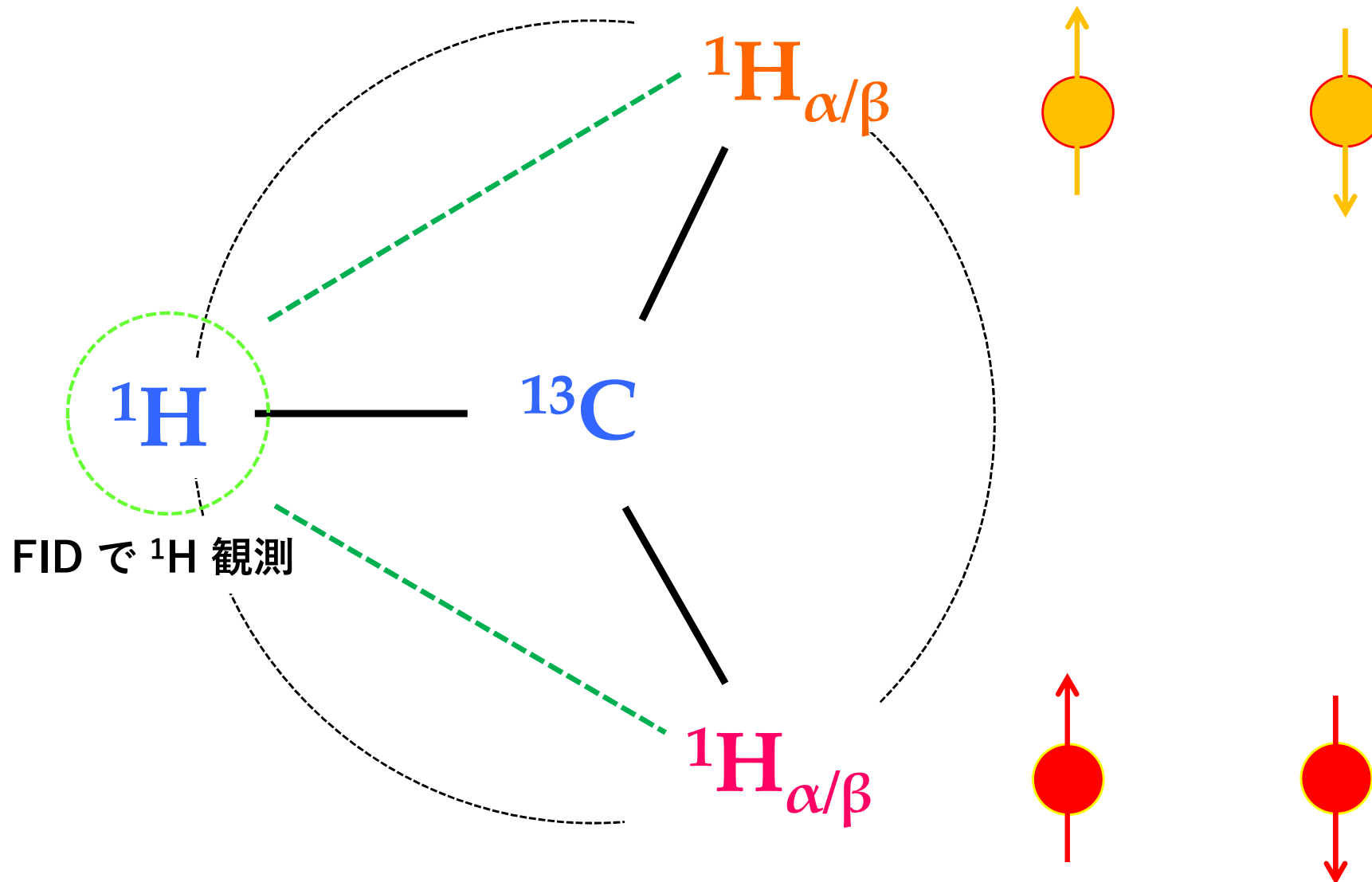
## HMQC

$$-2IxSy$$

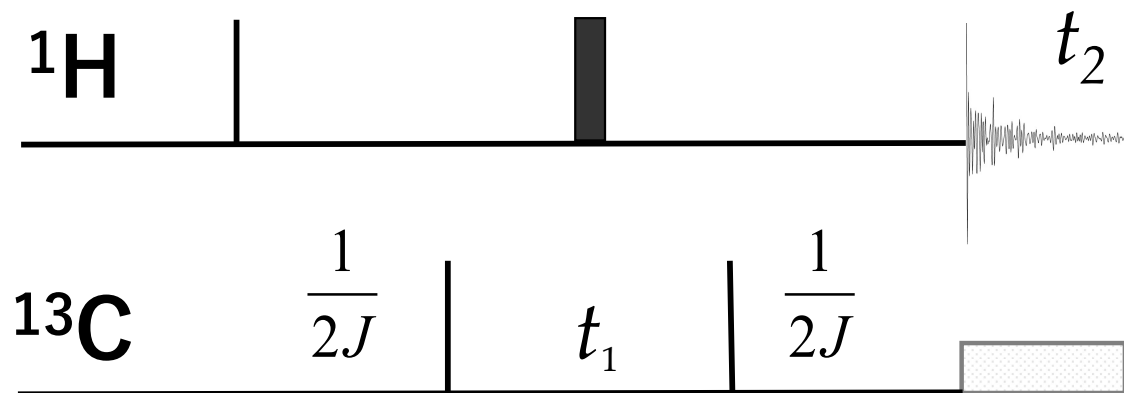
		H1	H2	H3
		$x/y$	$\alpha$	$\beta$
H1	$x/y$			
H2	$\alpha$		+	-
H3	$\beta$		-	+

Methyl-TROSY HSQC の場合も、 $\{\alpha\beta, \beta\alpha\}$  の組み合わせであれば、それほど悪いわけでもない





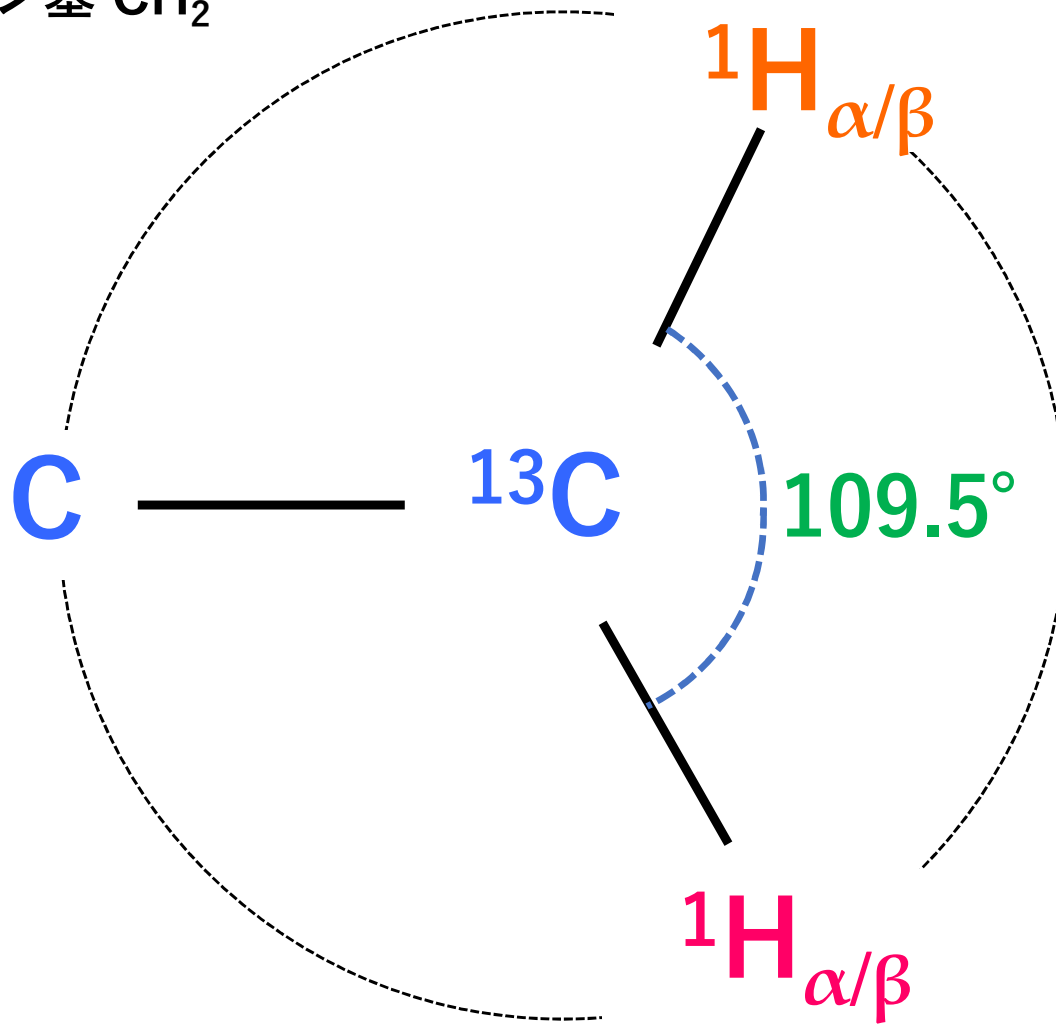
$^1\text{H}_{\alpha/\beta}$  からの双極子磁場と  $^1\text{H}_{\alpha/\beta}$  からの双極子磁場が、メチル基の高速回転のために打ち消し合う。 $^1\text{H}_{\alpha/\beta}$  と  $^1\text{H}_{\alpha/\beta}$  は  $t_1$  でも  $t_2$  でも変化していない。



$\alpha\beta \rightarrow \beta\alpha$ $\beta\alpha \rightarrow \alpha\beta$	}	${}^1\text{H}/{}^{13}\text{C}$ ともに、シャープなピークとして残る
$\alpha\alpha \rightarrow \beta\beta$ $\beta\beta \rightarrow \alpha\alpha$	}	重なってはいるが、ブロード化して、ほとんど貢献しない。

シンプルな HMQC であるので、 ${}^1\text{H}$  は  $\pi$  パルスでしか触っていない。

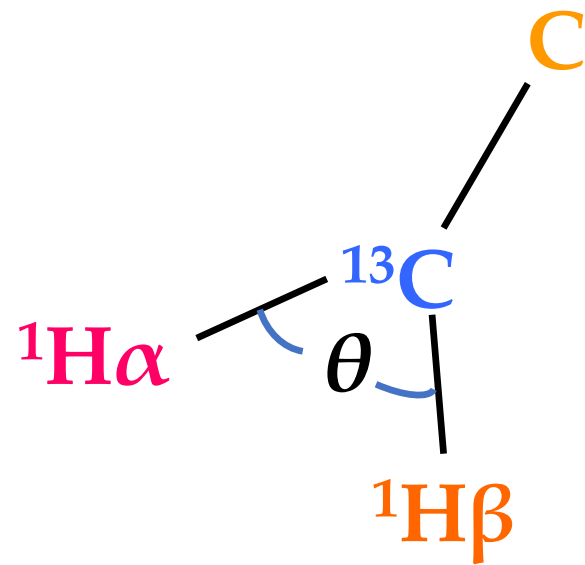
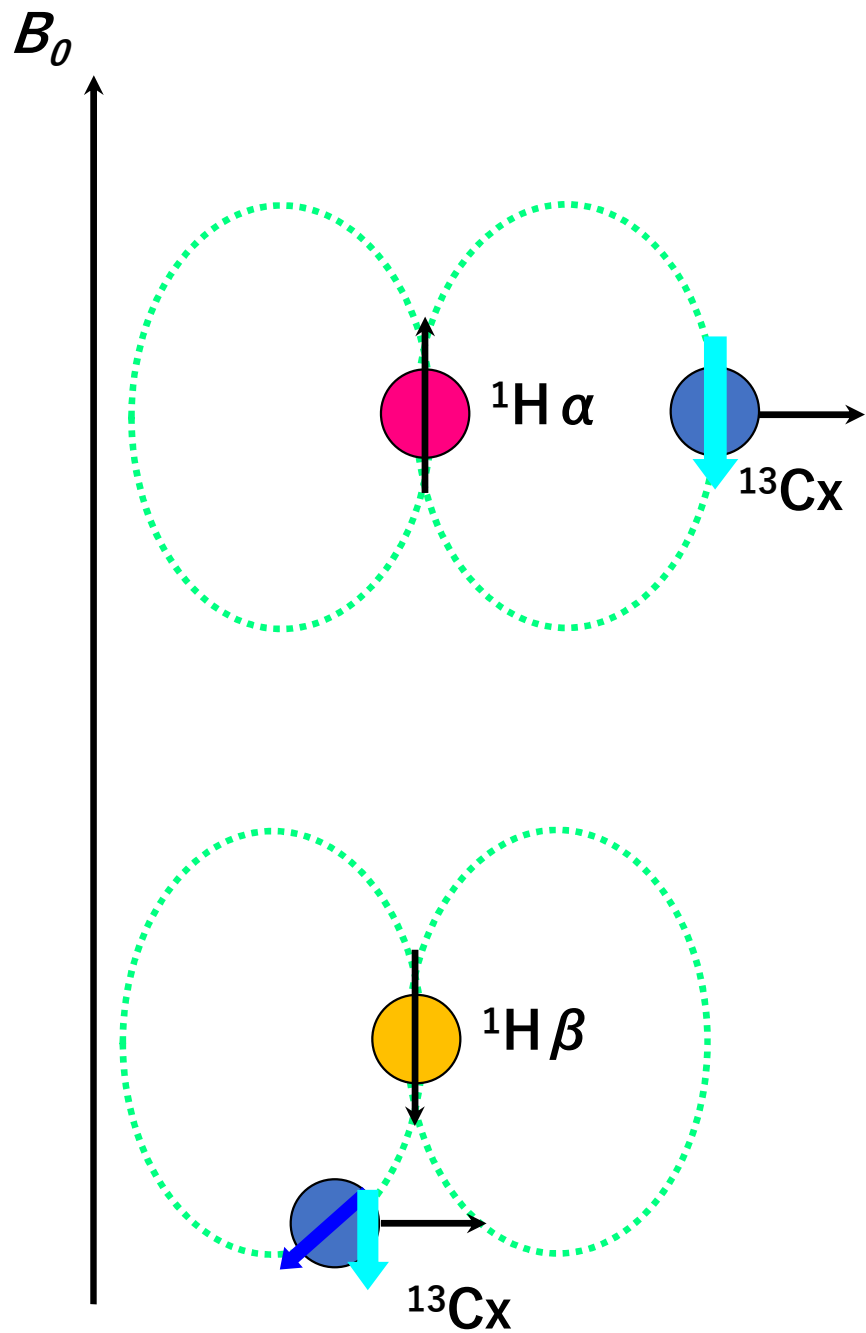
メチレン基 CH<sub>2</sub>



メチル基とは異なり、  
回転がほとんどない



$^1\text{H}_{\alpha/\beta}$  からの双極子磁場と  $^1\text{H}_{\alpha/\beta}$  からの双極子磁場は打ち消し合うの  
だろうか？



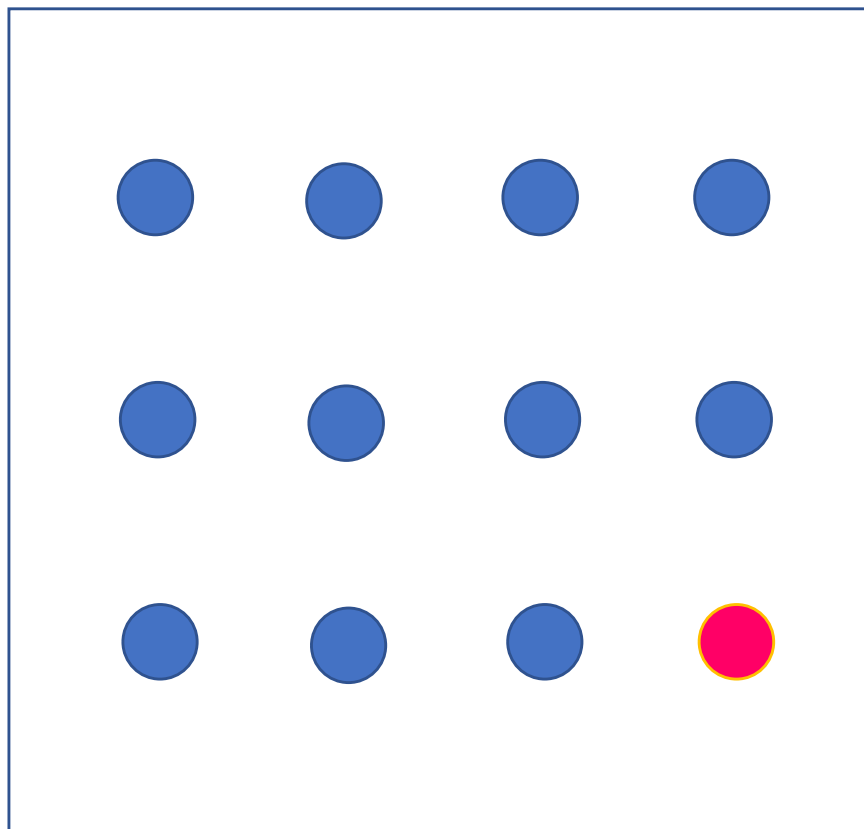
交差相関緩和の影響には

$$3 \cos^2(\theta) - 1$$

がかかる

$$\theta = 109.5 \rightarrow -0.67$$

# メチレン基 CH<sub>2</sub>

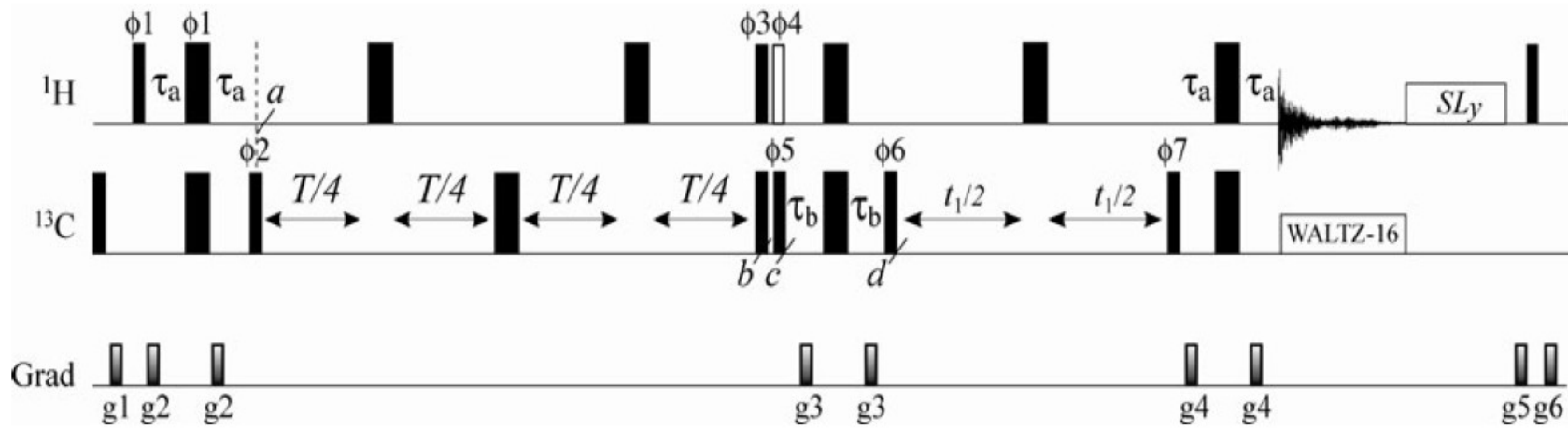


$\Omega_{13C}$

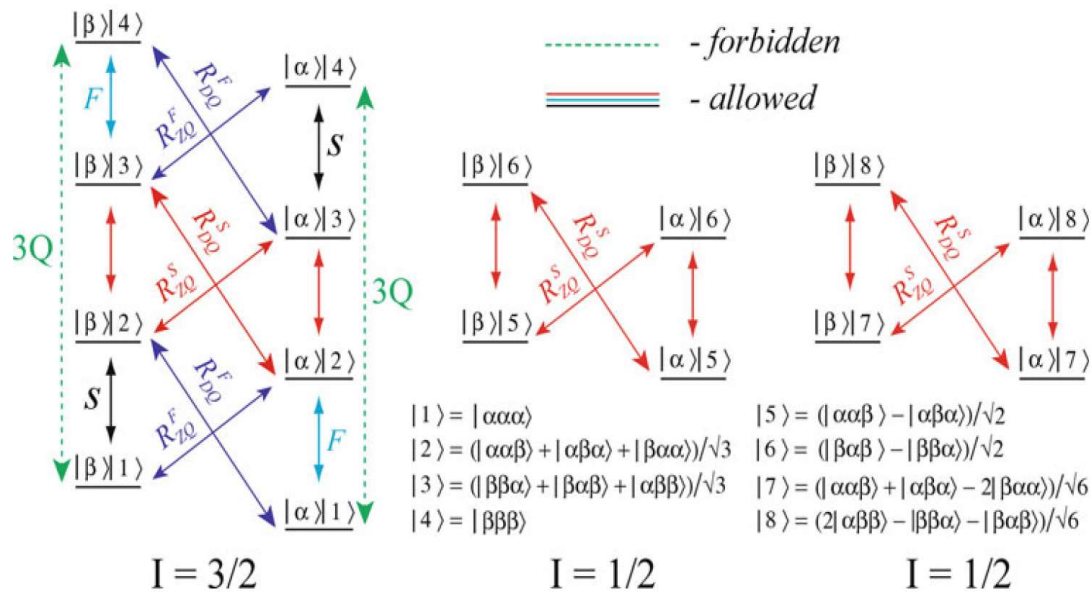
メチレン TROSY ピーク

$\Omega_{1H}$

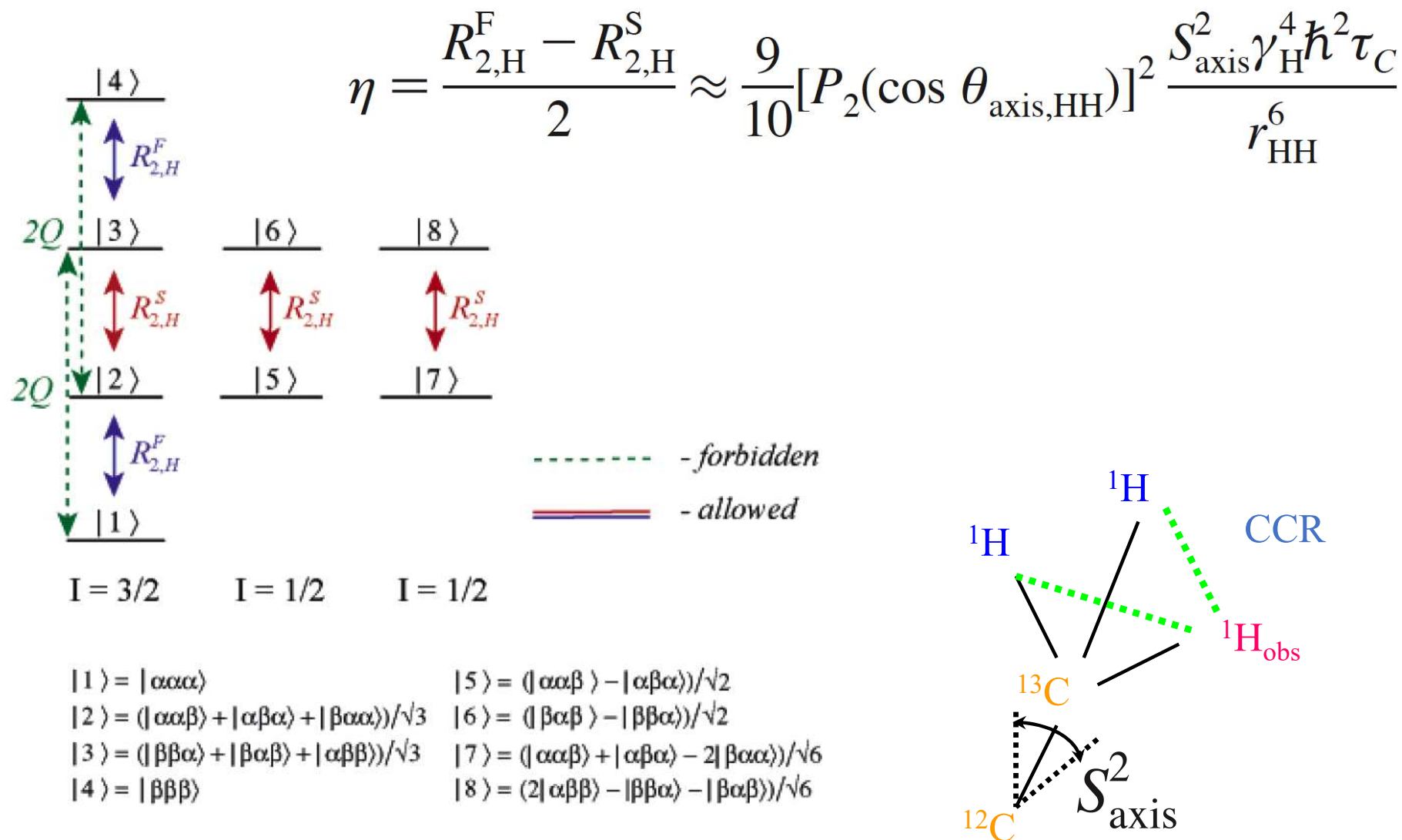
DD/DD, CSA/DD などの交差相関緩和も合算すると、<sup>1</sup>H/<sup>15</sup>N-TROSY でのピーク位置に似てくる



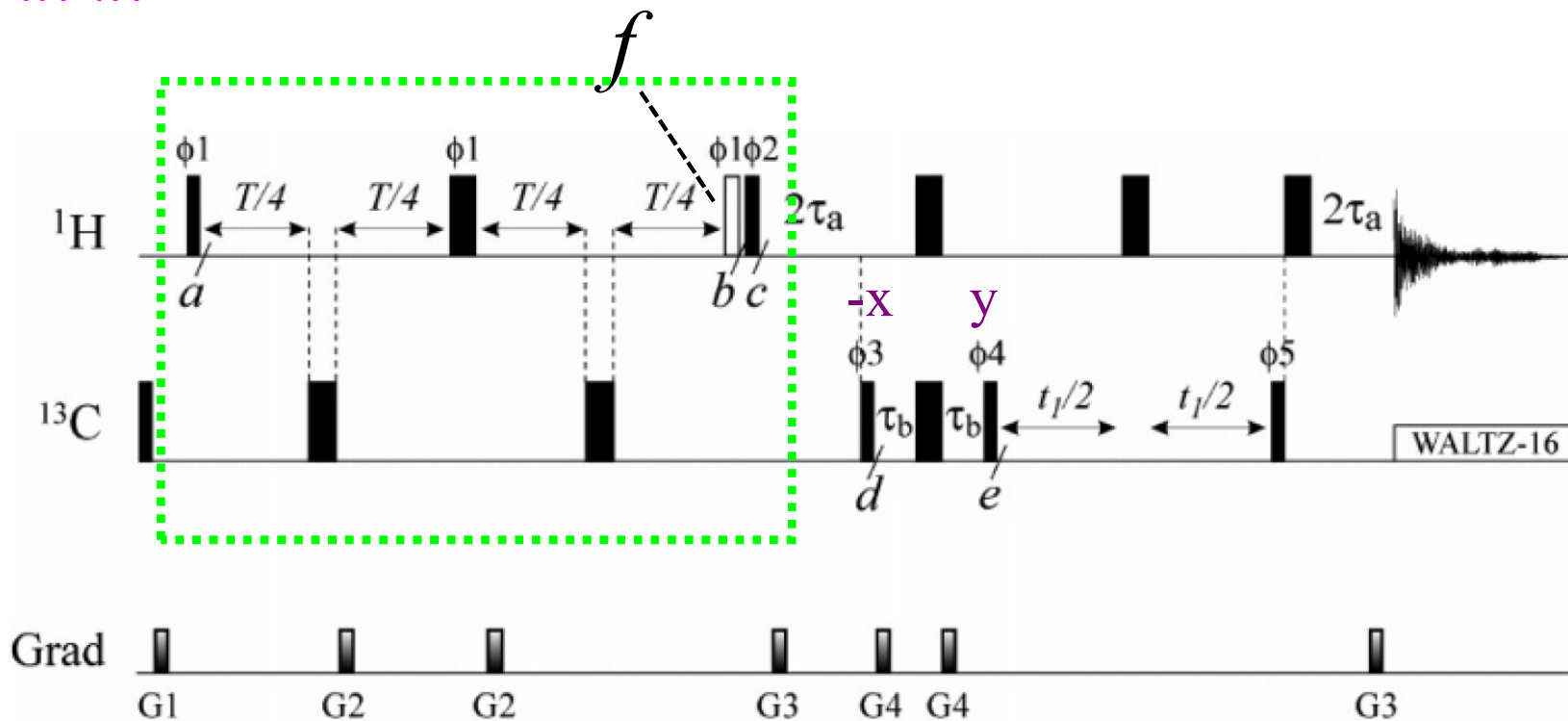
$$\eta = \eta_{HH} + \eta_{CH} = \frac{R_{MQ}^F - R_{MQ}^S}{2} \approx S_{axis}^2 \hbar^2 \tau_c \left( \frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \left\{ \frac{9}{10} \left[ P_2(\cos \theta_{axis,HH}) \right]^2 \frac{\gamma_H^4}{r_{HH}^6} + \frac{2}{5} \left[ P_2(\cos \theta_{axis,CH}) \right]^2 \frac{\gamma_H^2 \gamma_C^2}{r_{CH}^6} \right\}$$



## メチル基の軸が揺れると交差相関の程度は落ちてしまう



# DD<sub>1H-1H</sub> 交差相関緩和の測定



$$\varphi_1 = (y, x) \quad \varphi_2 = x \quad \varphi_{\text{rec}} = (x, -x)$$

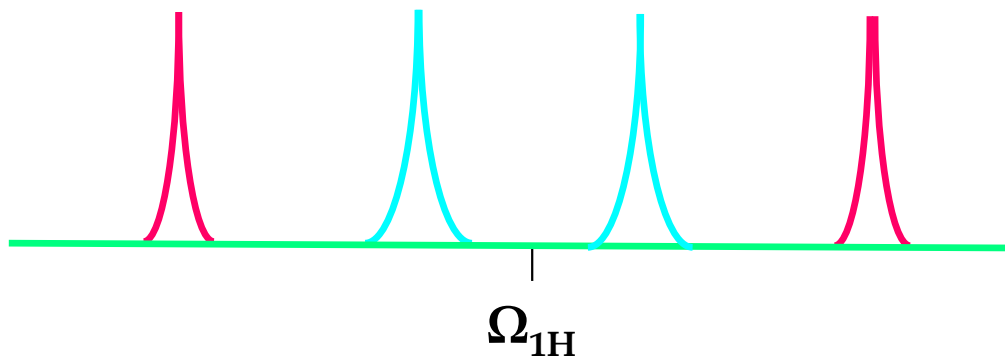
$$(a) \text{Ix} \quad (f) \text{IxIzIz} \quad (b) \text{IzIxIx}$$

普通は生じない

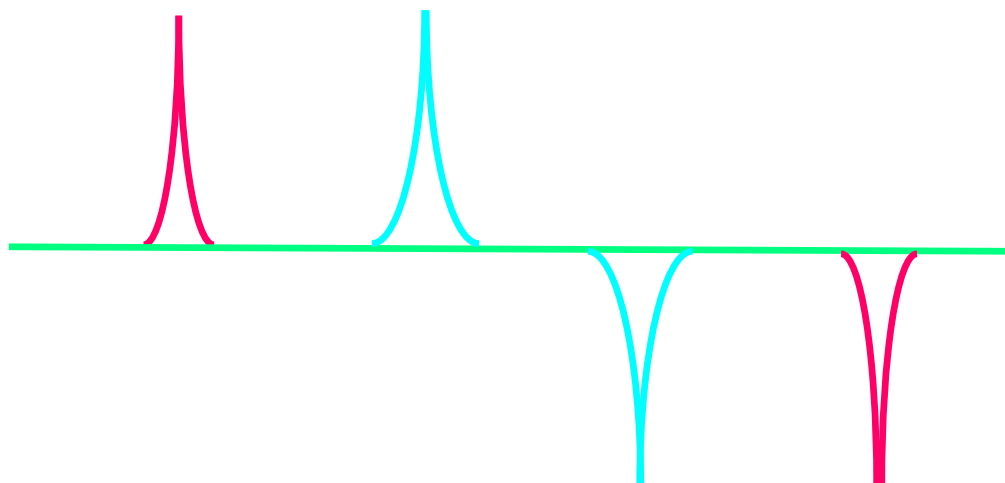
2Q



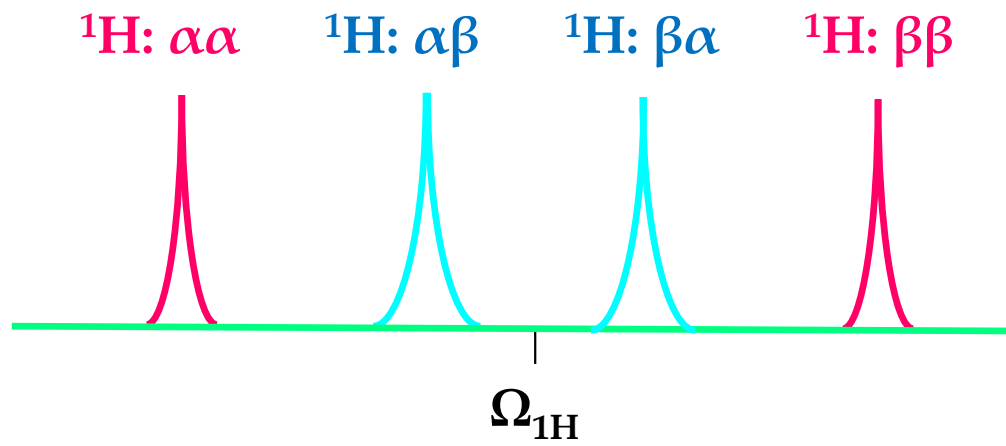
$^1\text{H}: \alpha\alpha$     $^1\text{H}: \alpha\beta$     $^1\text{H}: \beta\alpha$     $^1\text{H}: \beta\beta$



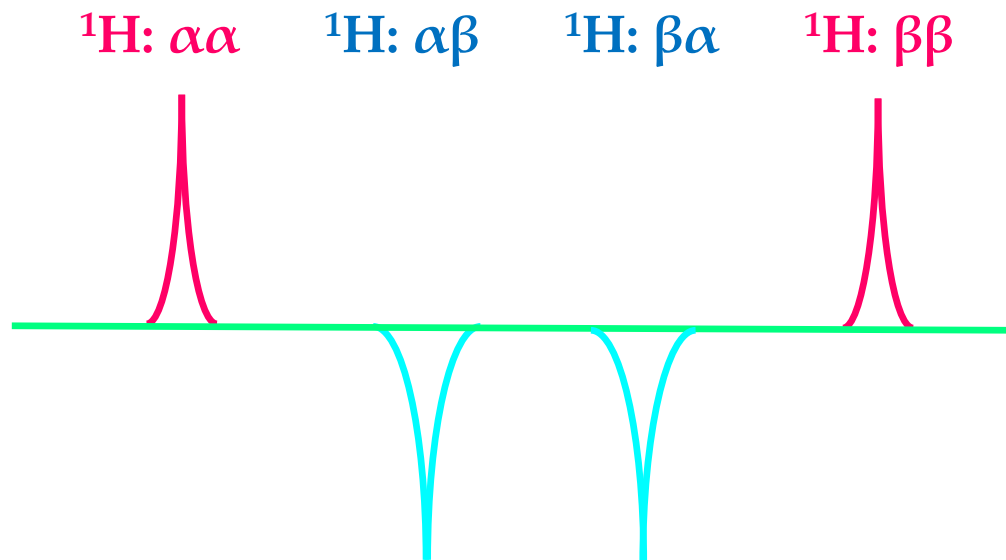
$I^1_x$



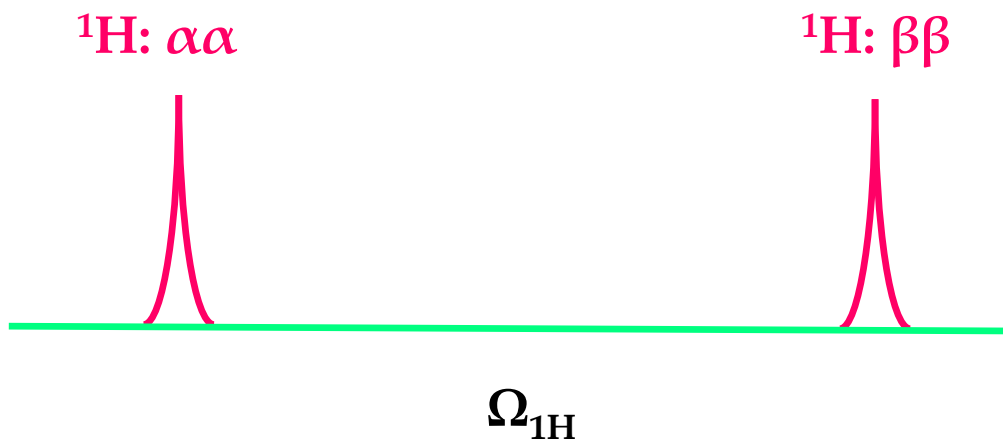
$I^1_x I^2_z$



$I^1_x$

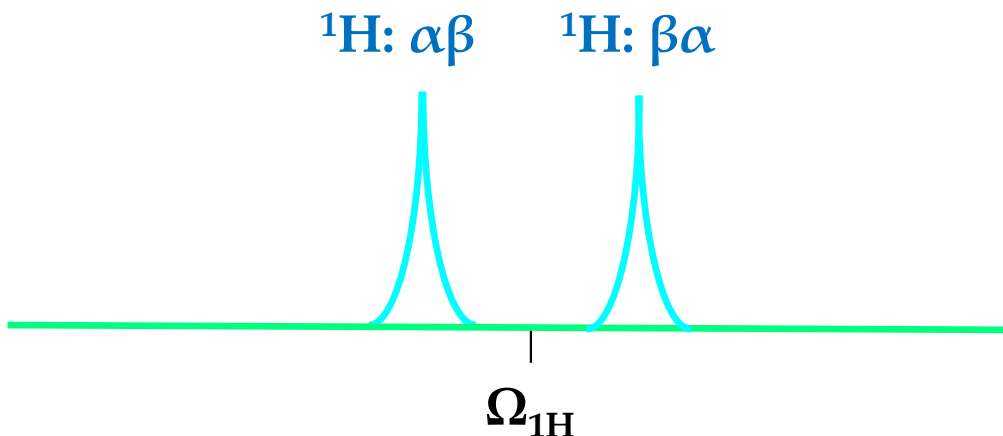


$I^1_x I^2_z I^3_z$



$$I^1_x + I^1_x I^2_z I^3_z$$

速い横緩和  $R+\eta$



$$I^1_x - I^1_x I^2_z I^3_z$$

遅い横緩和  $R-\eta$

交差相関緩和は多重線のピーク強度を不平等にする

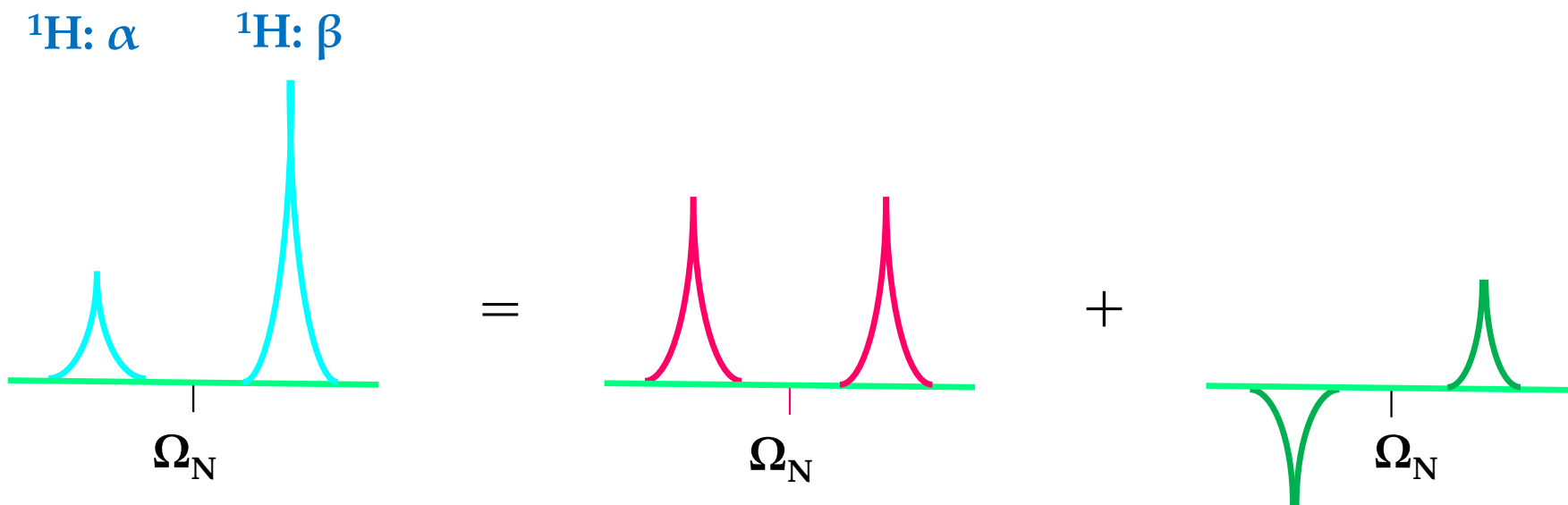
CH<sub>3</sub> の 1 量子コヒーレンスから 3 (2) 量子コヒーレンスを一気に励起することはできない。CH<sub>3</sub> 内のプロトン間の J 結合が磁氣的等価性のため有効に働かないためである。

等価核を含むこれらの選択則は、横緩和時間が巨大分子のゆっくりした運動で観測されるような多重指数関数の場合は破られる。

禁制交差ピークの出現

禁断の分光の実を交差相関緩和を通して簡単に得る。

「二次元 NMR」 p. 540



交差相関緩和の結果

in-phase

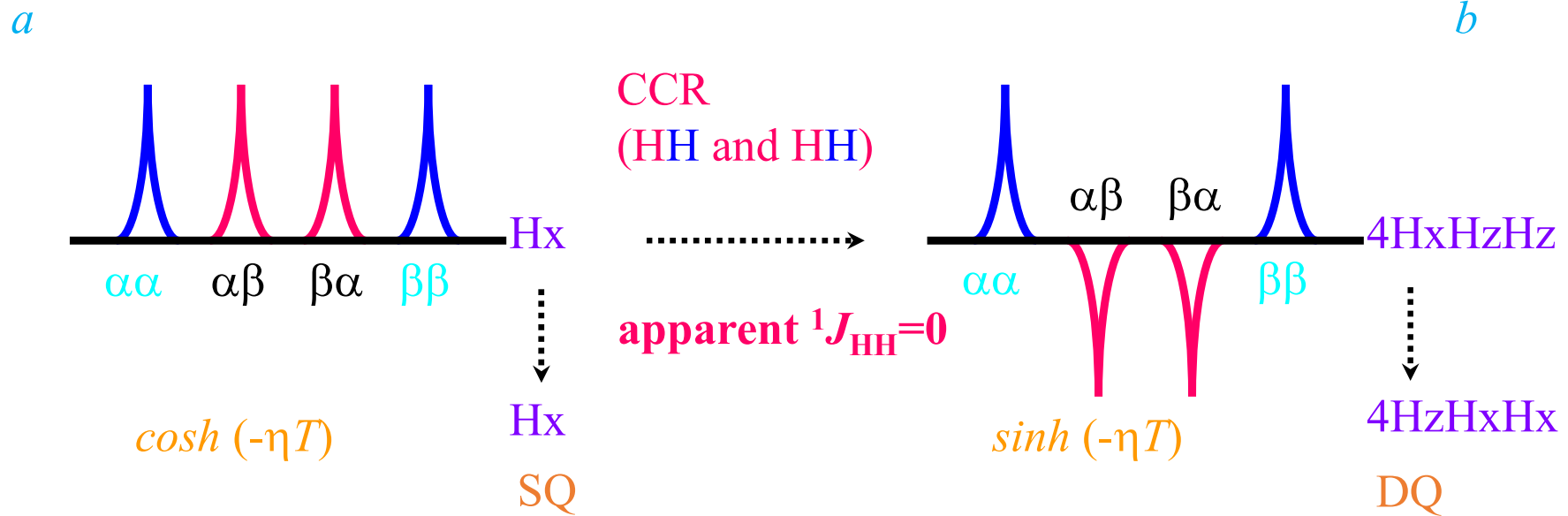
anti-phase

$$[S_z (\text{CSA}), [I_z S_z (\text{DD}), S_x]] = I_z S_x$$

In-phase から anti-phase が生じてくる現象は INEPT に似ている

磁化移動の方法の一つ：CRIPT

# 交差相関緩和を利用した in-phase から anti-phase の生成

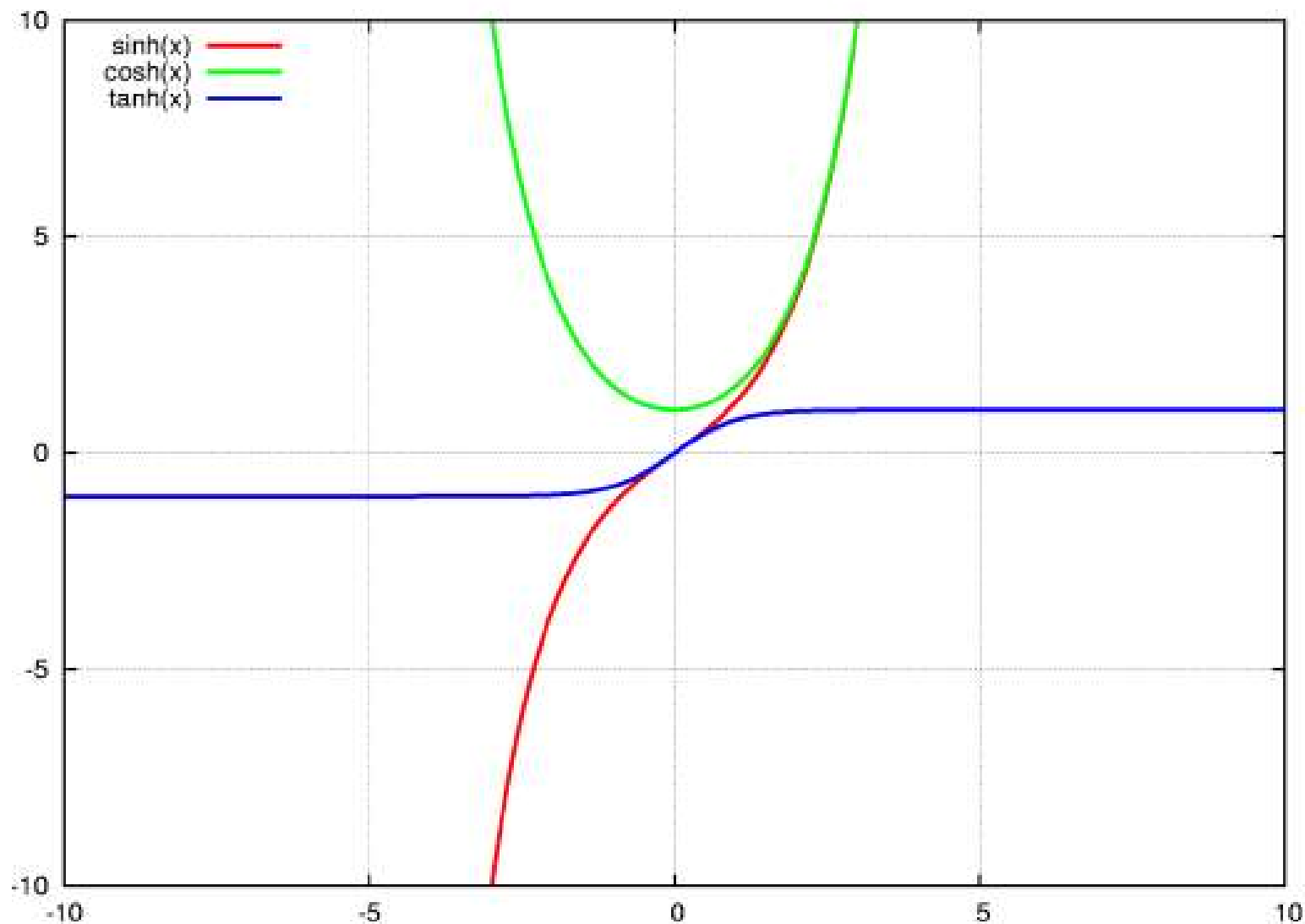


$$\begin{aligned}
 & (I_{\alpha\alpha} + I_{\beta\beta}) \exp(-(R+\eta)T) + (I_{\alpha\beta} + I_{\beta\alpha}) \exp(-(R-\eta)T) \\
 &= (I_x + 4I_x I_z I_z) \exp(-(R+\eta)T) + (I_x - 4I_x I_z I_z) \exp(-(R-\eta)T) \\
 &= I_x [\exp(-(R+\eta)T) + \exp(-(R-\eta)T)] + 4I_x I_z I_z [\exp(-(R+\eta)T) - \exp(-(R-\eta)T)] \\
 &= I_x \exp(-RT) \cosh(-\eta T) + 4I_x I_z I_z \exp(-RT) \sinh(-\eta T)
 \end{aligned}$$

$$I_x / 4I_x I_z I_z = -\tanh(\eta T)$$

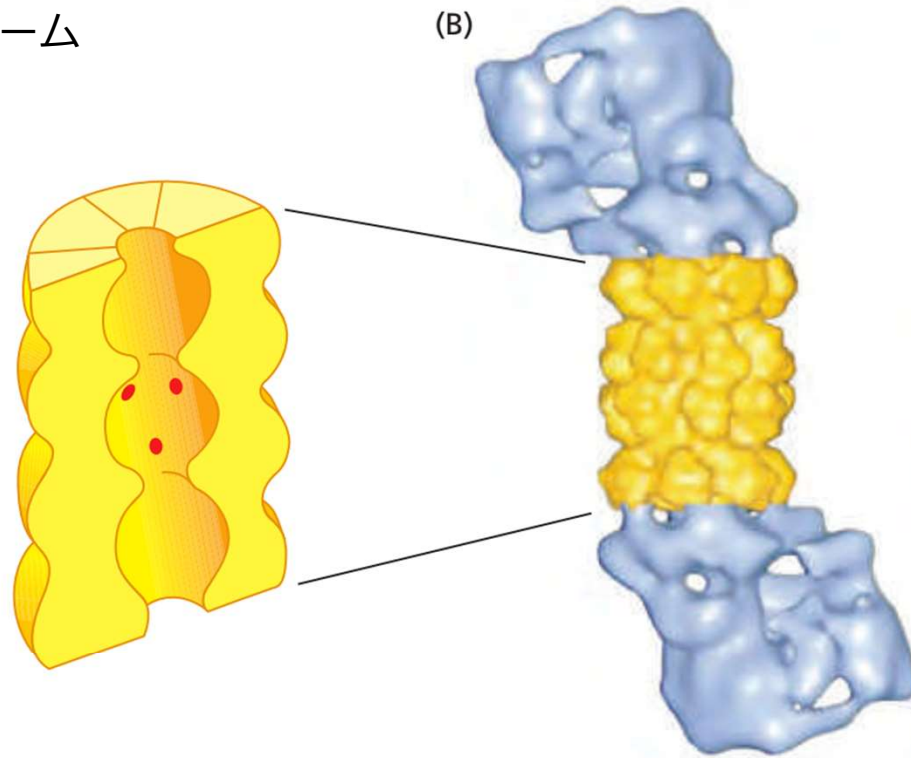
$\eta$  proportional to  $S_{\text{axis}}^2$

# 双曲線関数

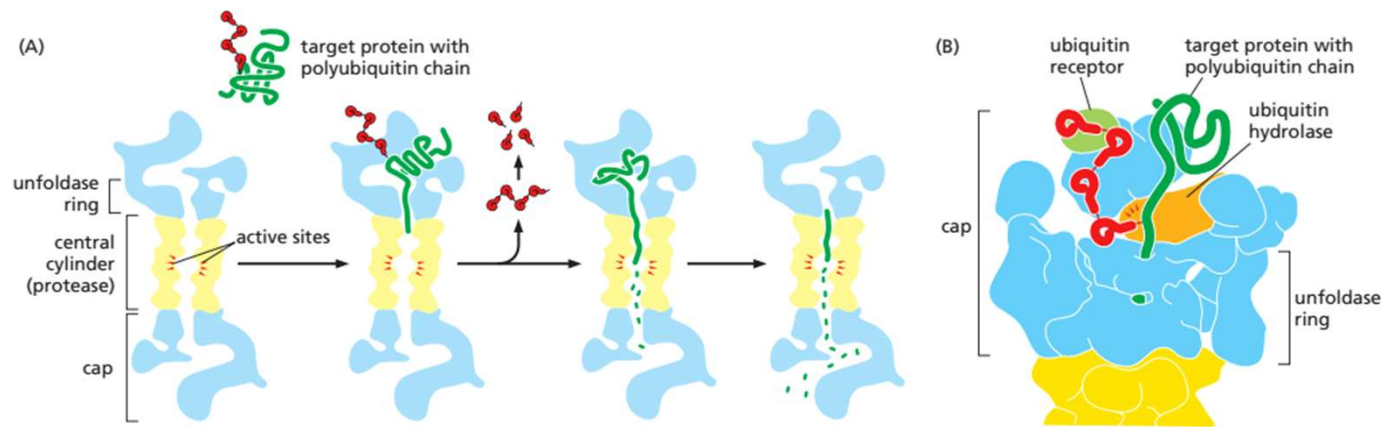


$$\sinh x = \frac{e^x - e^{-x}}{2}, \quad \cosh x = \frac{e^x + e^{-x}}{2}$$

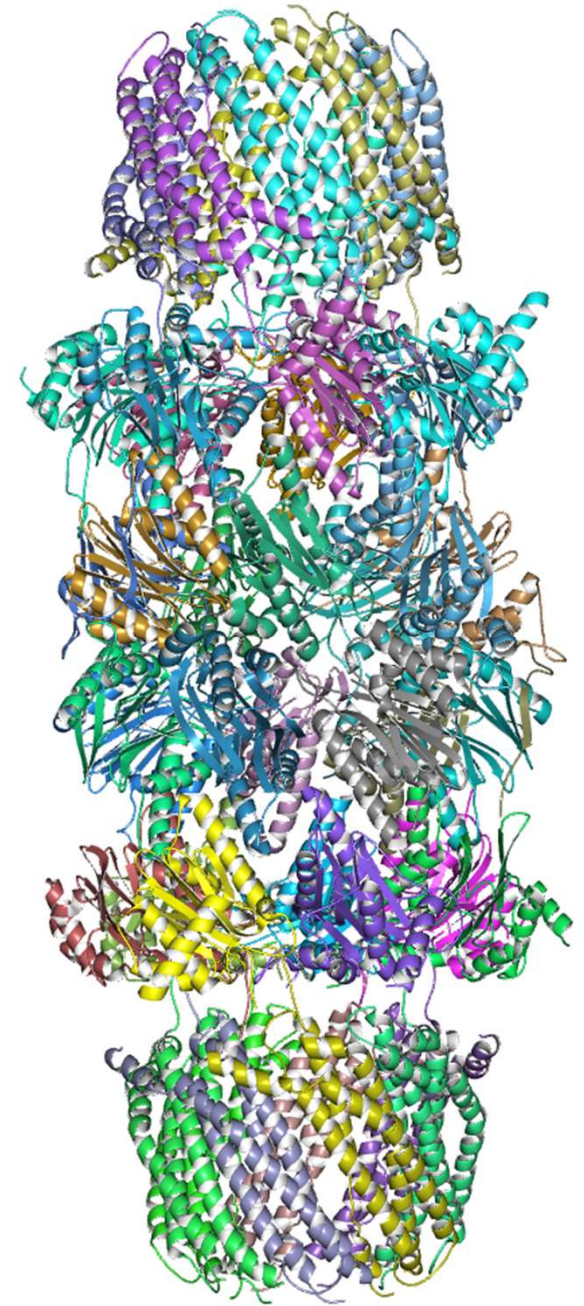
# プロテアソーム



大量の結晶構造が解かれたが、どのようにして対象物を送り込むのかのダイナミクスは？

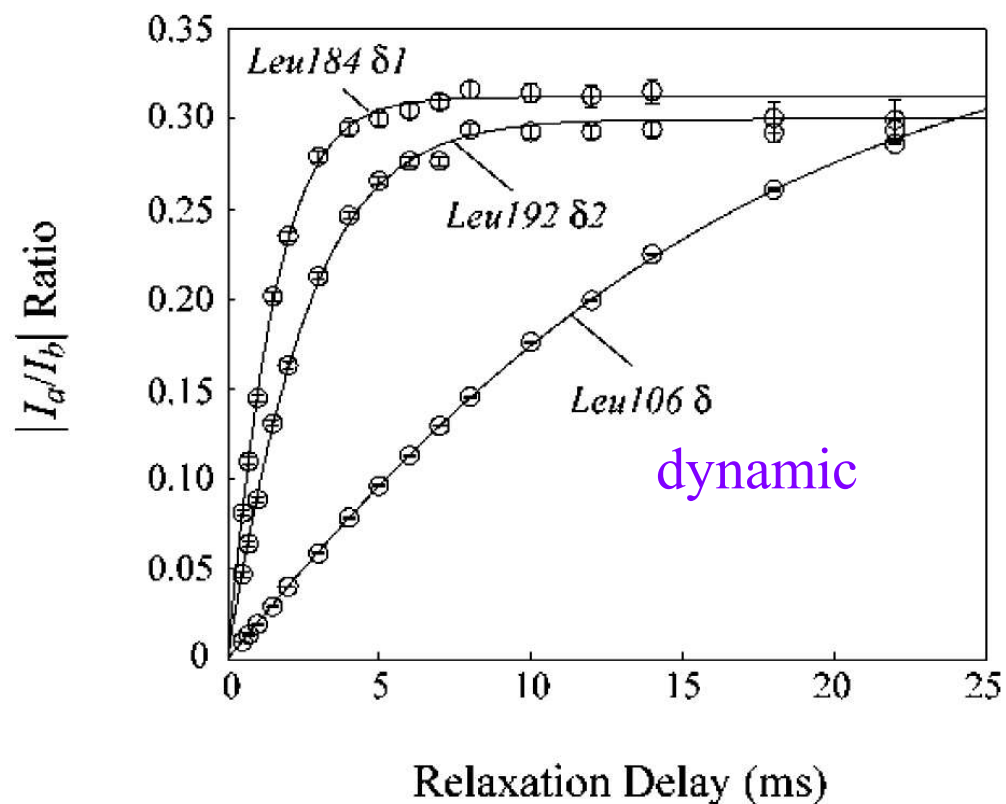


ユビキチンを付けられた蛋白質はシュレッダーに送られる運命に。。。

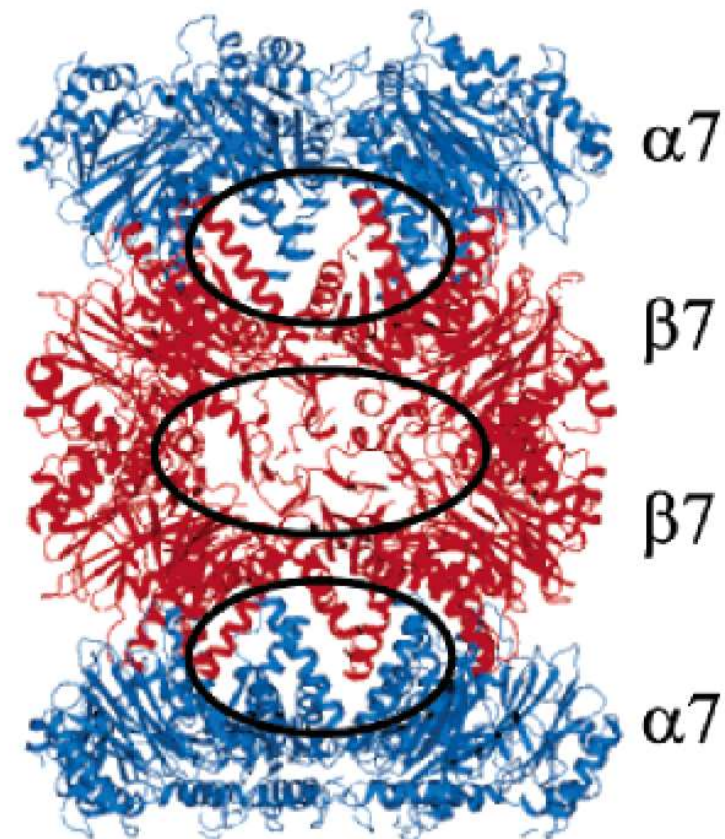


PDB: 1fnt

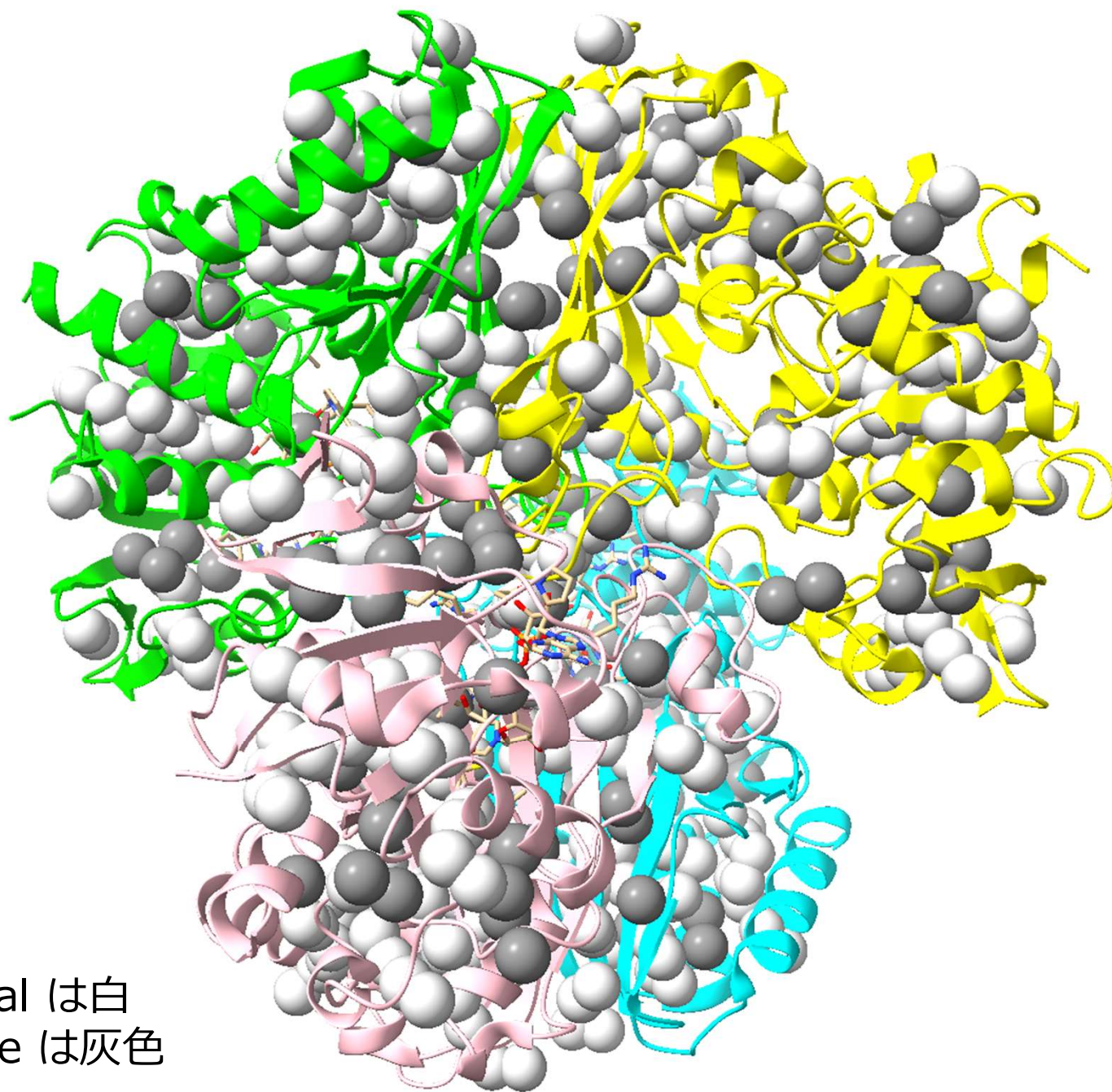




**Figure 6.** Build-up curves of  $|I_a/I_b|$  intensity ratios fit to the theoretical ratio, eq 13 for Leu106  $\delta$ , Leu184  $\delta 1$  and Leu192  $\delta 2$  of  $\{U-[^{15}N,^2H]; Ile\delta 1-[^{13}CH_3]; Leu,Val-[^{13}CH_3,^{12}CD_3]\}$ -WT  $\alpha_7\alpha_7$  (600 MHz, 50 °C).



half-proteasome  
360 kDa at 50°C



Leu, Val は白  
Met, Ile は灰色

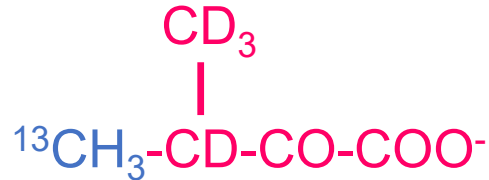
# I, L, V のメチル基以外が重水素化された蛋白質

[<sup>12</sup>C, <sup>2</sup>H]-glc, 100% D<sub>2</sub>O



2-keto-3,3-*d*<sub>2</sub>-4-<sup>13</sup>C-butyrate  
α-ketobutyric acid methyl-<sup>13</sup>C 3,3-*d*<sub>2</sub>

## 2-オキソ酪酸

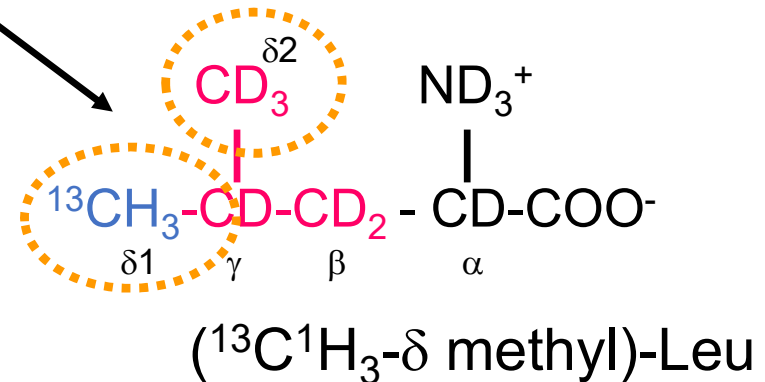
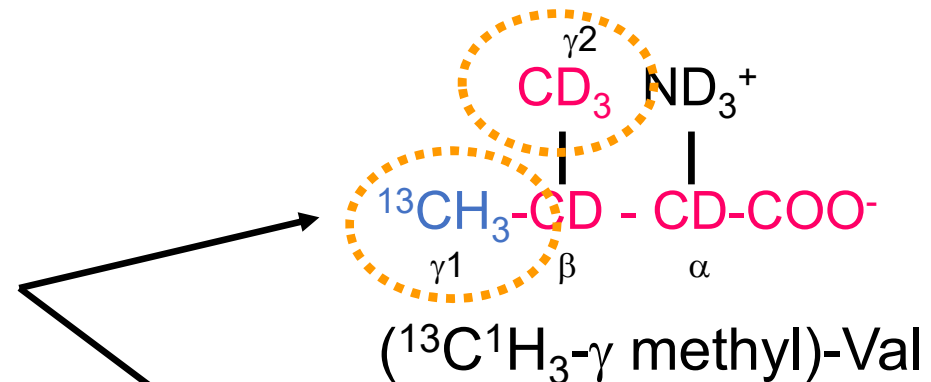
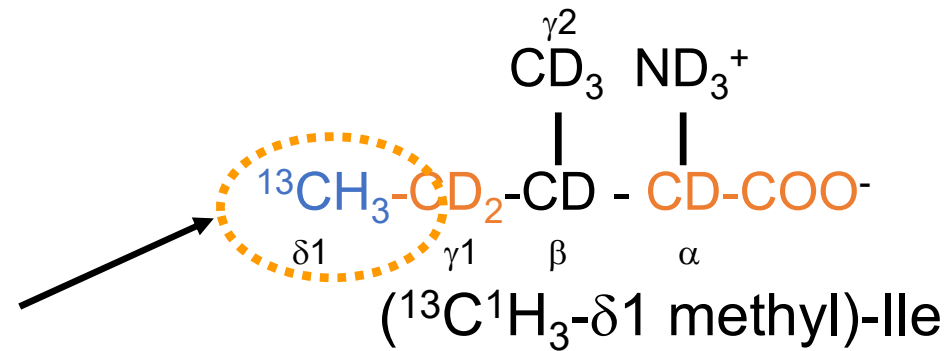


2-keto-3-methyl-*d*<sub>3</sub>-3-*d*<sub>1</sub>-4-<sup>13</sup>C-butyrate  
α-ketoisovaleric acid 3-methyl-<sup>13</sup>C 3,4,4,4-*d*<sub>4</sub>

## 2-オキソイソ吉草酸

発現誘導の1時間前に 125, 200 mg/L ずつ入れる

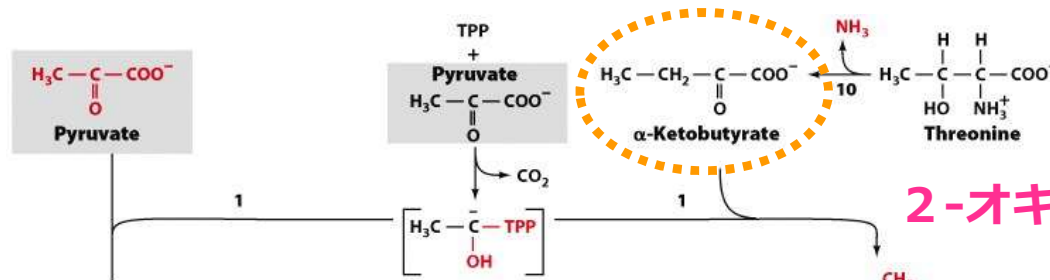
Tugarinov, V. *et al.* (2004) *J. Biomol. NMR* 28, 165.



[<sup>13</sup>C, <sup>2</sup>H]-glucose を入れると、Leu のみ Ca, Co はアセチル CoA から入るので <sup>13</sup>C となる。 75

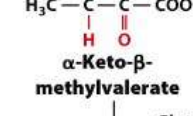
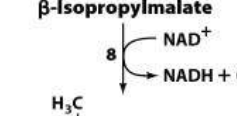
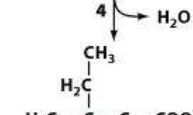
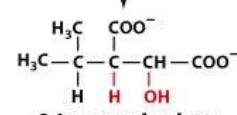
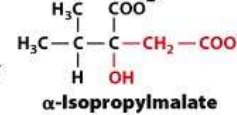
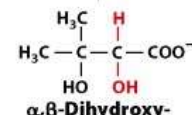
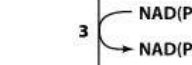
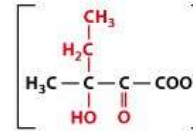
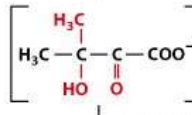
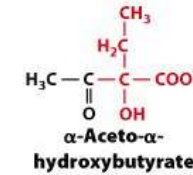
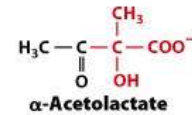


# ピルビン酸



# 2-オキソ酪酸

# アセト乳酸



# 2-オキソイソ吉草酸

# Val

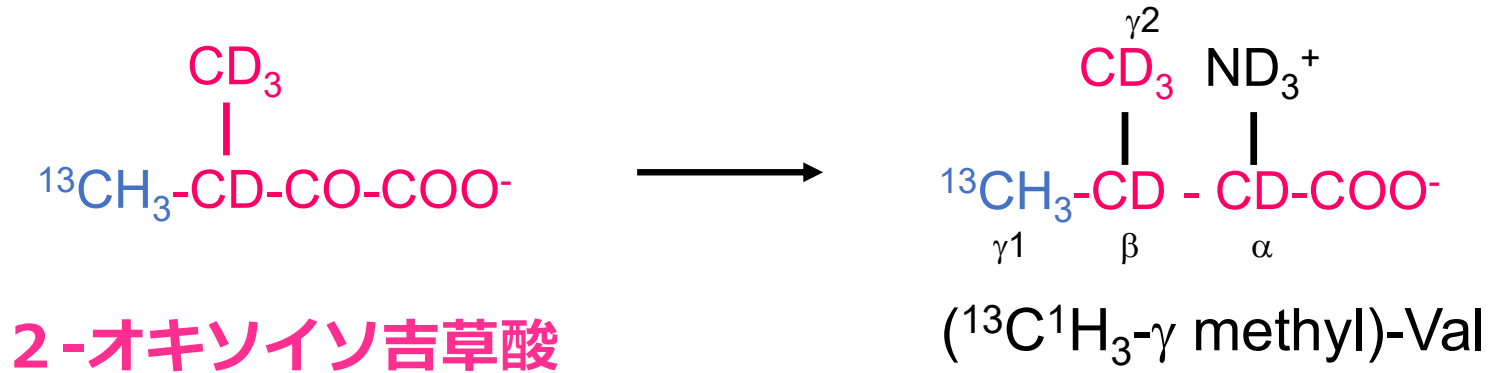
# Ile

アセチル CoA 由来

# Leu

Figure 26-61  
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

孤立していないと、 $^1J_{CC}$ -coupling あり

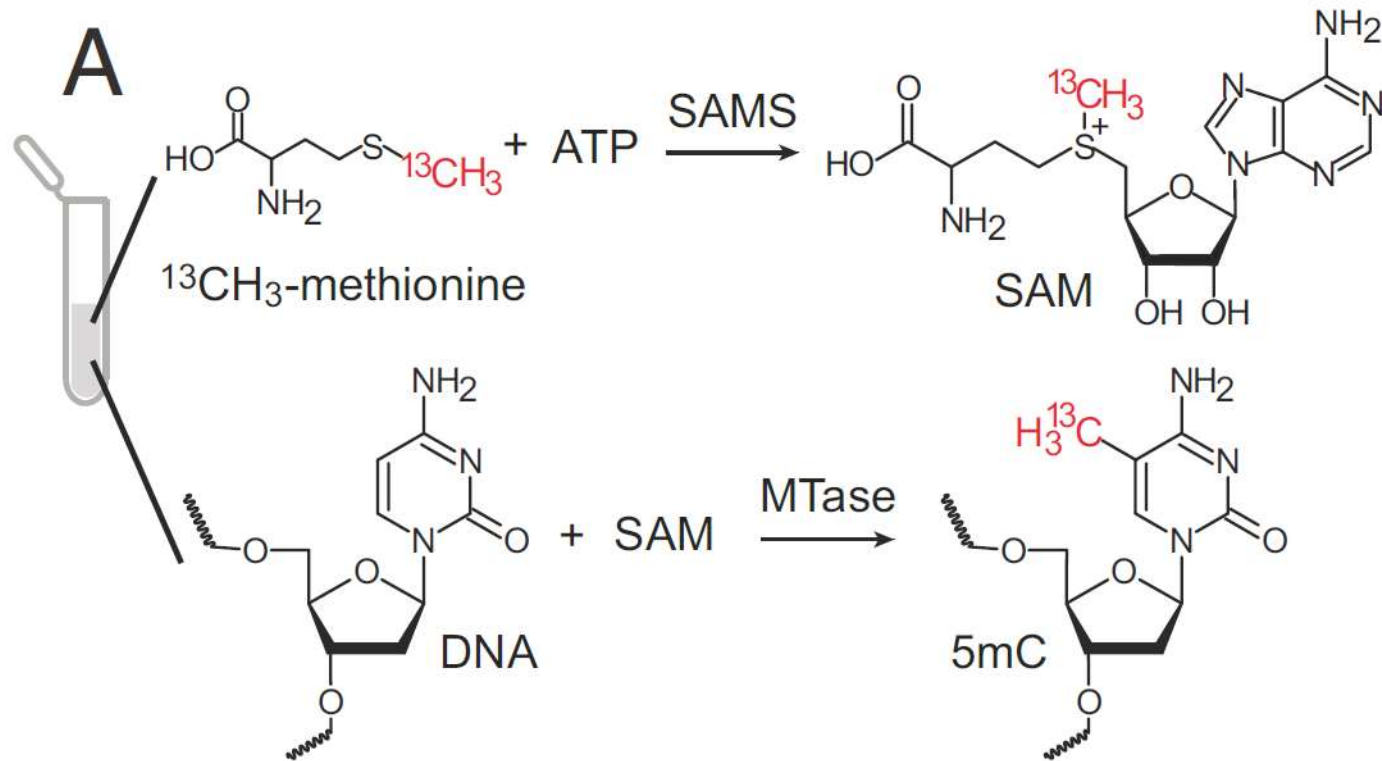


蛋白質アミド基  $^1\text{H-}^{15}\text{N}$  は孤立しているので使いやすい

中途半端な重水素化はかえって駄目 ( $^{13}\text{C}^1\text{HD}_2$ )

Abramov G., et al. (2020) *A methyl-TROSY approach for NMR studies of high-molecular-weight DNA with application to the nucleosome core particle.*

DOI:10.1073/pnas.2004317117Corpus ID: 218907515



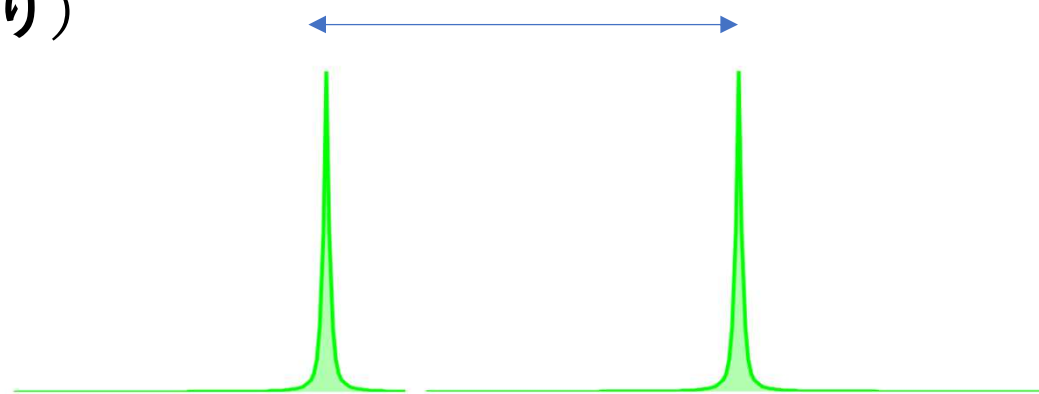
S-adenosylmethionine synthase (SAMS)

DNA methyltransferases (MTases)

蛋白質の微結晶のピークは何故シャープ？  
(ただし、 $^2\text{H}$  化、高速 MAS あり)

$$D = 10^4$$

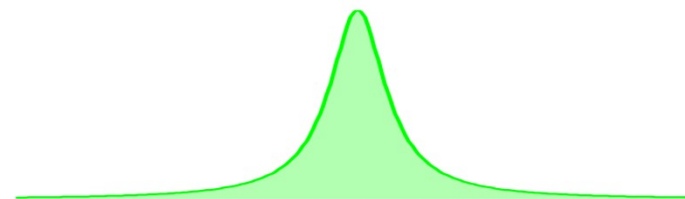
結晶・粉末 ( $10^0$ )



$^1\text{H}$  デカップリング ( $10^4$ )

MAS ( $10^4 \sim 10^5$ )

蛋白質 ( $10^7 \sim 10^9$ )



低分子 ( $10^9$ )

メチル基 ( $10^{11}$ )

