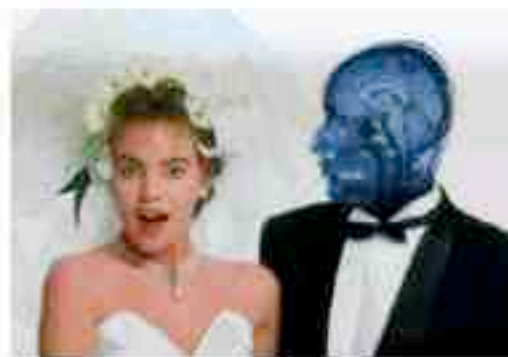
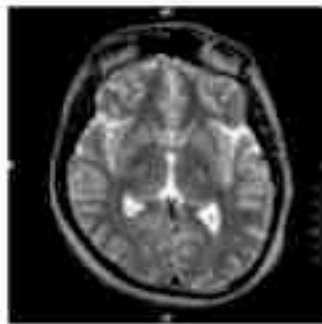


生物量子化学概論

1. ガイダンス
2. NMRの装置概要、歴史、スペクトルの例
3. NMRからわかること、最新の研究例
4. ベクトルモデルを用いた原理説明
5. 量子力学を用いた原理説明
6. パルスとフーリエ変換
7. 化学シフトとJ結合
8. 密度行列
9. 密度行列を用いたパルスNMR法の計算
10. 2次元NMR、3次元NMR
11. タンパク質の3次元構造決定の手順
12. 3次元構造の評価とグラフィックス

NMRの歴史

NMR実験は元来、原子核の性質（核磁気モーメントなど）を精密に測定するために行われた。しかし化学シフトやスピンスピン結合の発見により、分子構造解析、分子運動の研究（緩和時間測定）などに応用できることが判明し、化学や生化学などの分野で発展してきた。現在では、イメージング(MRI)装置などにも改良され、医学分野等でも活用されるに至っている。



装置の原理

原子番号あるいは質量数の一方または両方が奇数である核種の原子核はゼロでない原子核スピンを持ち、その結果、"**磁気双極子モーメント**"を持つ。すなわち、原子核は小さな**磁石**としての性質を持つので、**外部磁場**の中に置くと磁場との相互作用が生じる。NMRとは、**外部磁場**中に置かれた物質に含まれている原子の**原子核スピンの磁気的エネルギー準位**が分裂し、それらの準位間の**エネルギー差**に相当する**エネルギー**を持つ電磁波を**共鳴吸収**する現象をいう。

装置は、**超伝導磁石**、**分光計**、**コンピューター**で構成されている。超伝導磁石は**液体ヘリウム**で冷やされており、この磁石の中心にサンプルを**上部**から入れ、回転させる。電磁波の**照射**やシグナルの**検出**は**分光計**が制御し、コンピューターのCRT上に**NMRスペクトル**が現れる。

試料の状態と必要量

一般には、試料を**重水素化溶媒**に溶かし溶液状態で測定する。必要な試料の量は測定する**核種**、目的による。

NMRの歴史

・1936年

Negative result of an Attempt to Detect Nuclear Magnetic Spins, Physica, III, p.995. Cornelius J. Gorter (オランダ) の失敗,
1.4Tの磁場, 20MHz, 熱測定, ^1H (ミョウバン), ^7LiF , 長い緩和時間

・1942年

Negative result of an Attempt to Observe Nuclear Magnetic Resonance in Solids, Physica IX, p.591, Gorter and Broer (オランダ) の失敗
凝縮系のNMR, $^7\text{LiCl}$, K^{19}F , 低温, 長い緩和時間

1938年 分子線の磁気モーメント測定



Isidor Isaac Rabi

The Nobel Prize in Physics 1944

“for his resonance method for recording the magnetic properties of atomic nuclei”

Columbia University
New York, NY, USA
1898 - 1988

NMRの歴史

1946年 硝酸第二鉄水溶液(Bloch)、パラフィン(Purcell)において水素核(^1H)磁気共鳴の検出に成功



Felix Bloch
Stanford University
Stanford, CA, USA
1905 - 1983



Edward Mills Purcell
Harvard University
Cambridge, MA, USA
1912 - 1997

The Nobel Prize in Physics 1952

“for their development of new methods for nuclear magnetic precision measurements and discoveries in connection therewith”

1966~76年

フーリエ変換NMR法・
2次元NMR法の開発と
確立



Richard R. Ernst

The Nobel Prize in Chemistry 1991

“for his contributions to the development of the methodology of high resolution nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy”

NMRの歴史

2002年度ノーベル化学賞



Kurt Wuthrich

Eidgenössische Technische
Hochschule (Swiss Federal
Institute of Technology)
Zurich, Switzerland
1938 -

1986年

タンパク質の構造決定

The Nobel Prize in Chemistry 2002

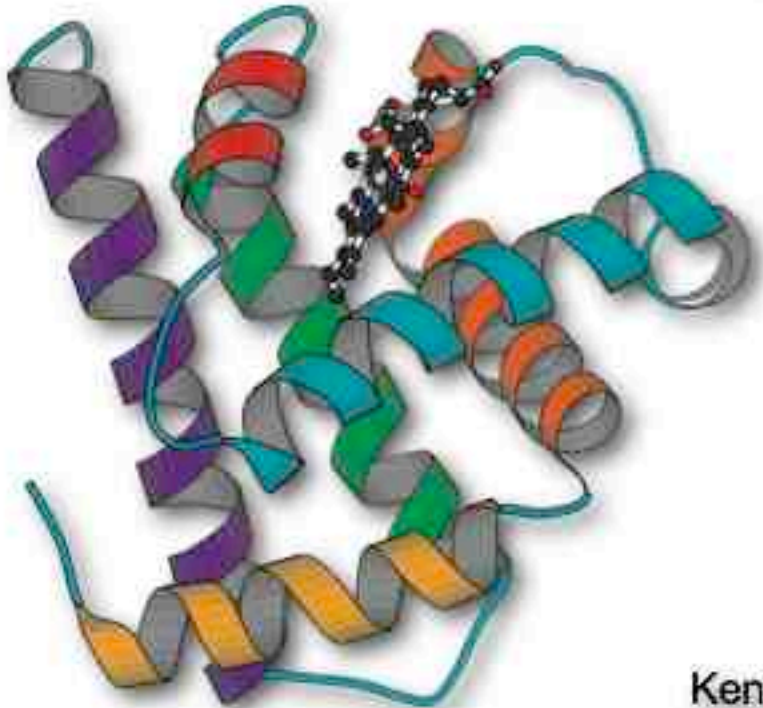
「生体高分子の同定および構造解析のための手法の開発」

"for the development of methods for identification and structure analyses of biological macromolecules"

「溶液中の生体高分子の立体構造決定のためのNMRの開発」

"for his development of nuclear magnetic resonance spectroscopy for determining the three-dimensional structure of biological macromolecules in solution"

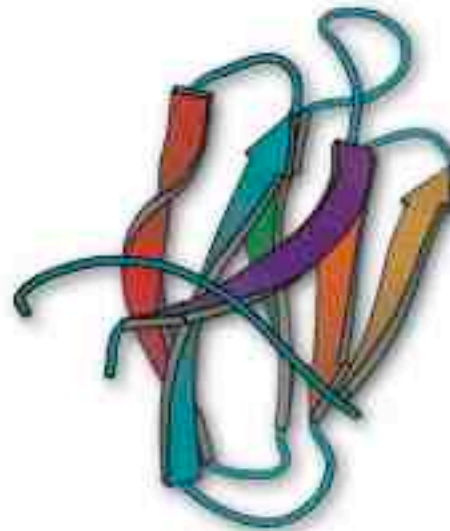
The first **X-ray** structure
1962



Kendrew, J.C.

Myoglobin

The first **NMR** structure
1986



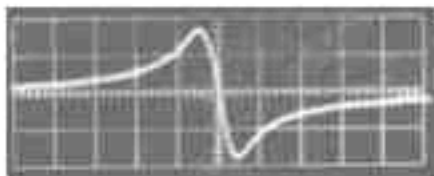
Wüthrich, K.

Tendamistat

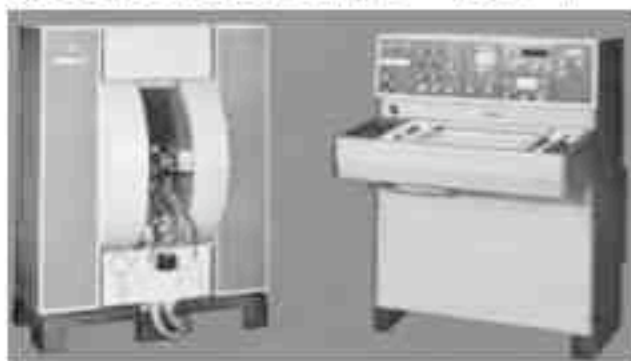
NMR装置の変遷

世界初の市販装置 Varian A-60 : 1961年

初期の頃のシグナル



JEOL FX-100 (FT法) : 1971年



Bruker WP60 (CW法) : 1984年

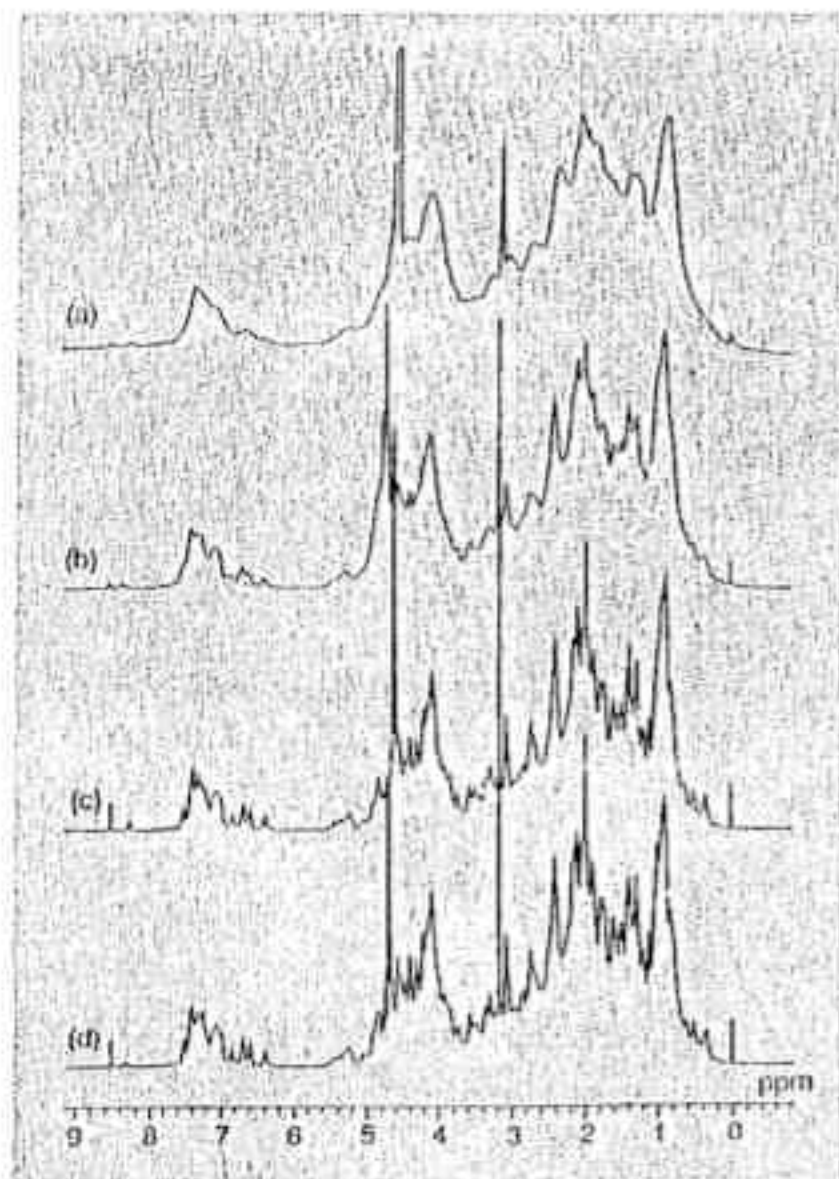


Bruker DRX300 : 1993年



Varian Inova 900 : 2001年





100MHz

270MHz

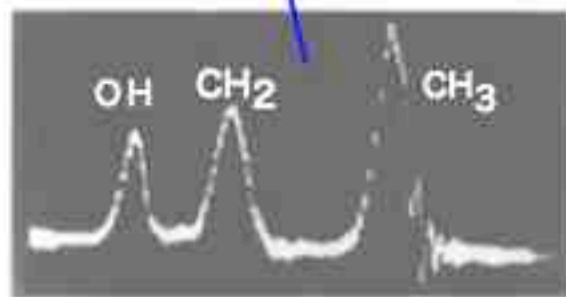
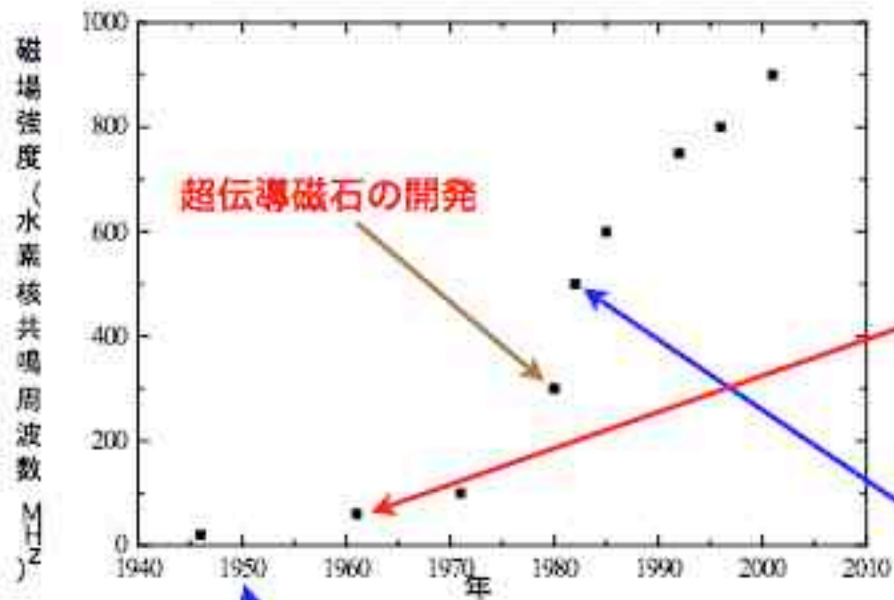
400MHz

500MHz

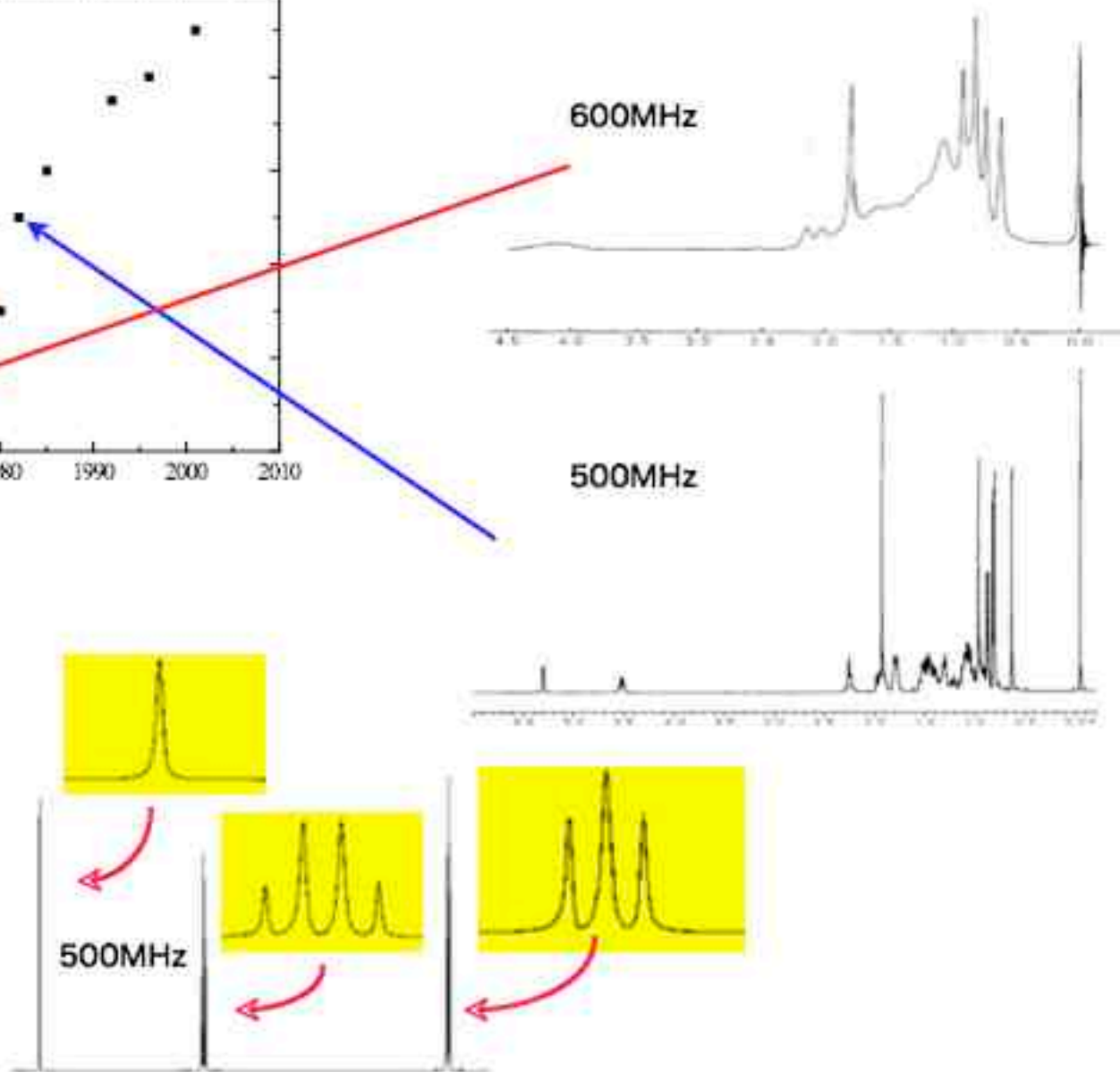
図1 カルモジュリン(Ca^{2+} 結合型)の 1D ^1H NMR
スペクトル
(a) 100 MHz, (b) 270 MHz, (c) 400 MHz, (d) 500
MHz.

磁場の強さの変遷

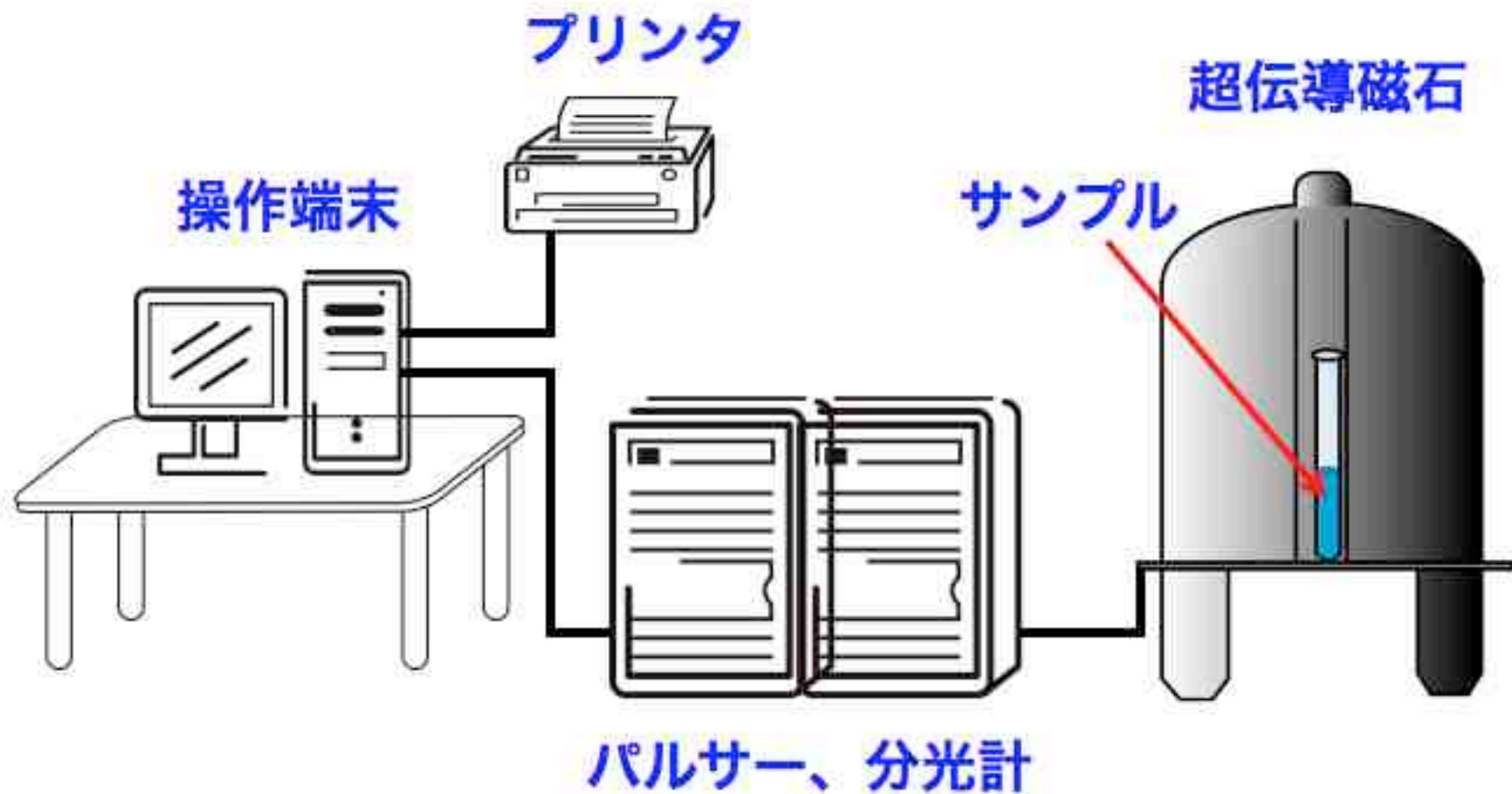
酢酸コレステリルの $^1\text{H-NMR}$ スペクトル



CH₃-CH₂-OHのシグナル



NMR分光計とはどんなものか？

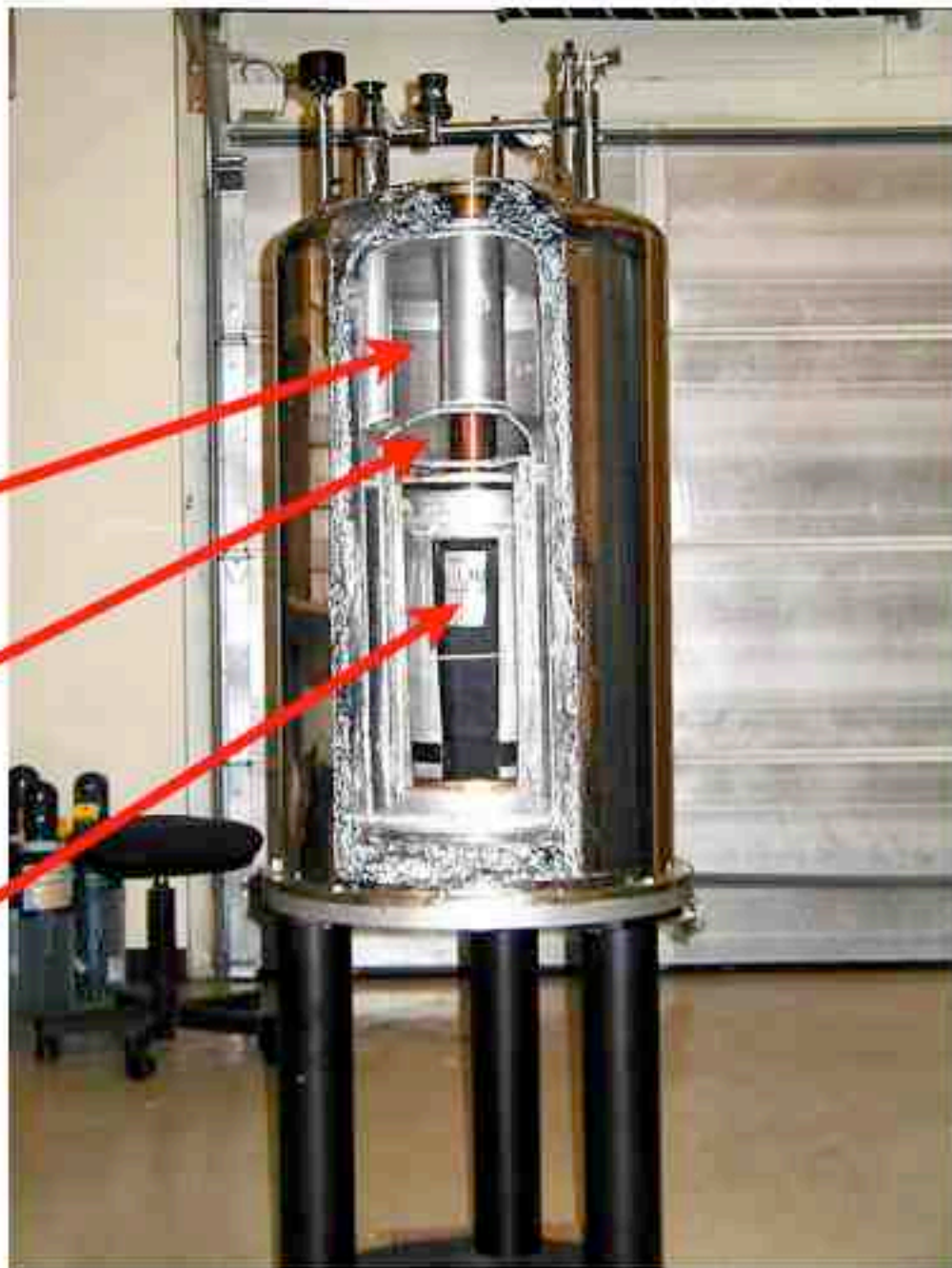


超伝導磁石の 断面図

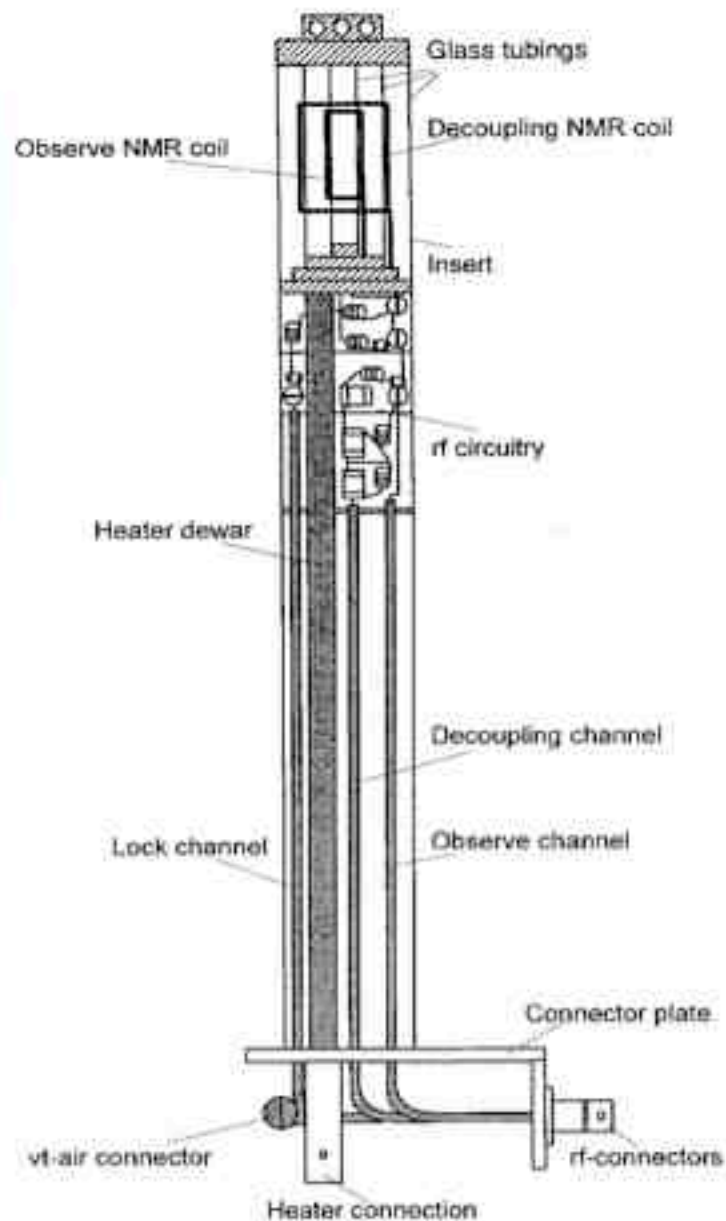
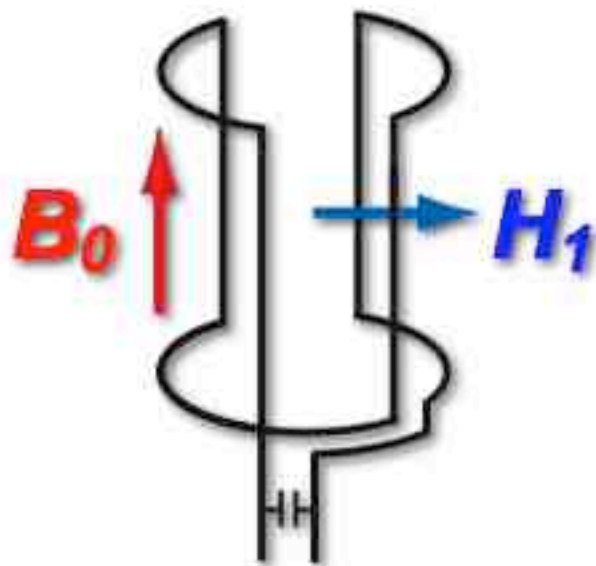
液体窒素デューワー
(-196 °C)

液体ヘリウムデューワー
(-269 °C)

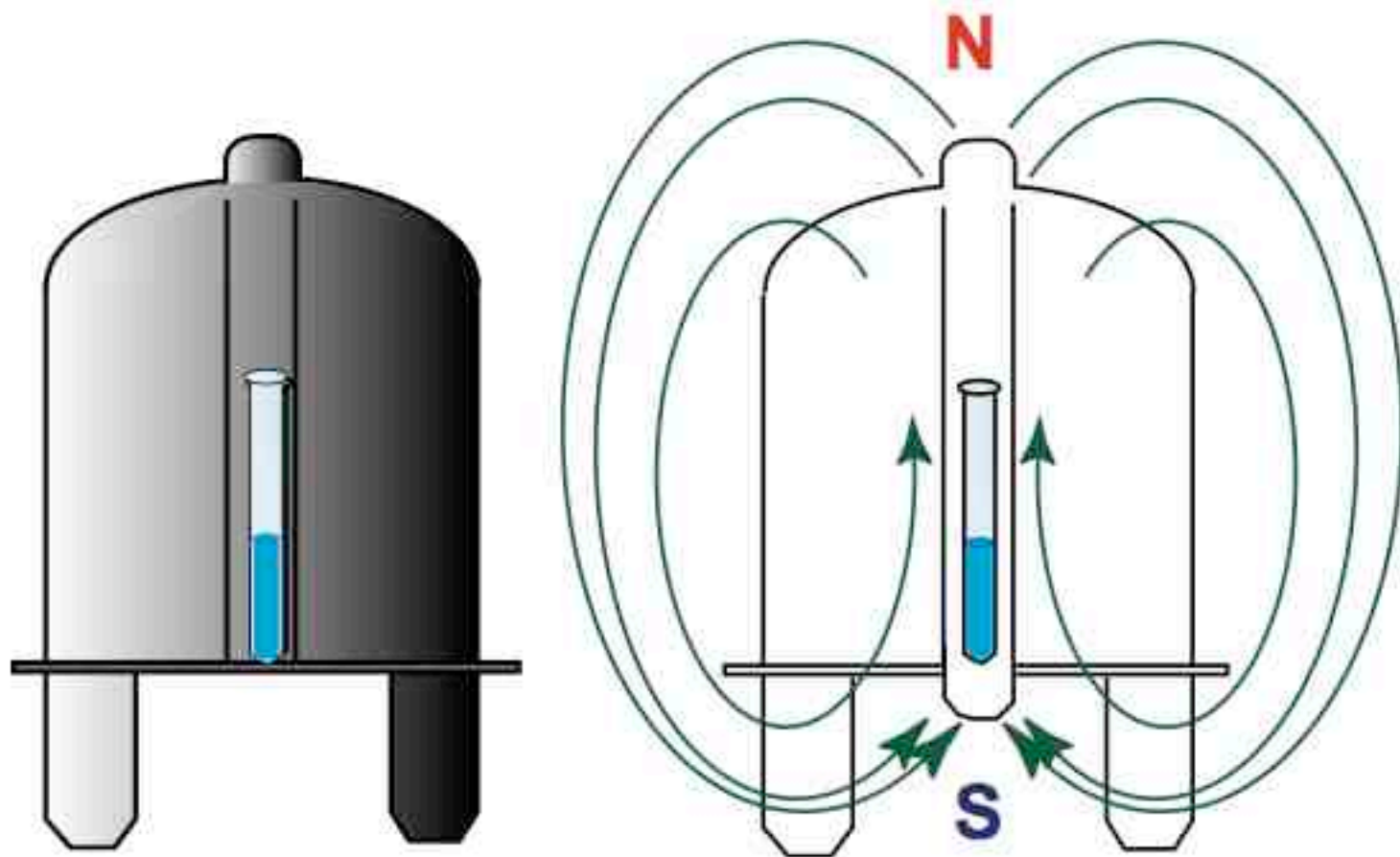
超伝導コイル



NMR検出器 (プローブ)



高磁場中に置くことで、磁石としての原子核の量子的性質を観測する事ができる。





試料コイル

ガラス二重管

スピナロータ

ホルダ

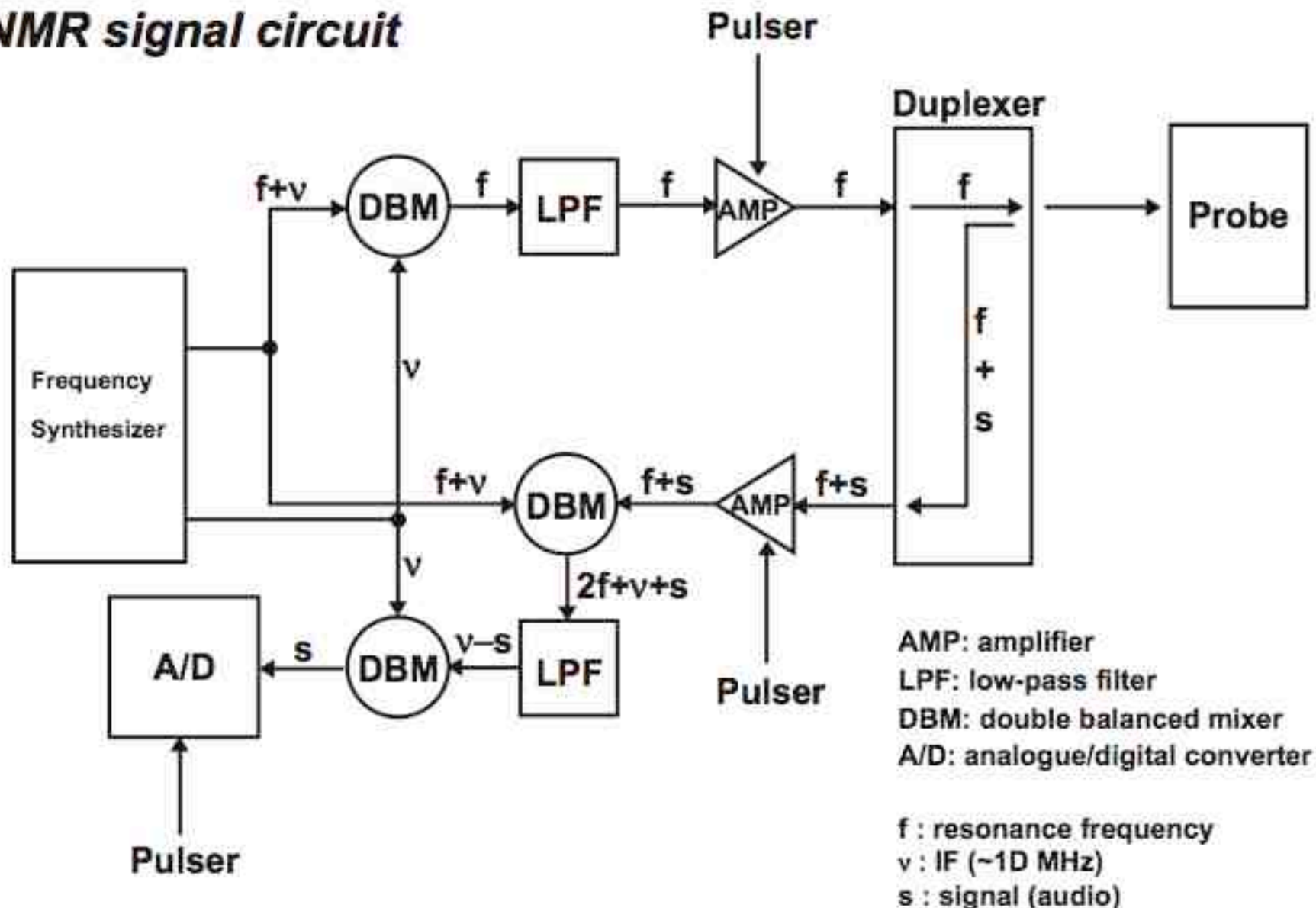
プローブ先端部分



NMR試料管

試料管をセットしたところ

NMR signal circuit



バリアン社製 UNITY-INOVA500 (産総研)

Unity-Inova 500 NMR Spectrometer

$^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 5mm PFG (x,y,z)

異種核多次元NMR測定用LH₂冷却プローブ

低温域測定用冷却ユニット、その他

- ^1H 分解能 : 0.66Hz
- ^1H 線幅 (0.55%) (non spin) : 7.23Hz
- ^1H 線幅 (0.11%) (non spin) : 16.35Hz
- ^1H 90度パルス幅 : 7.2 μs
- ^1H S/N (0.1% Ethylbenzene) : 3699
- ^1H S/N (2mM Sucrose in H₂O) : 570
- ^{13}C PWX1 (90度パルス幅) : 14.2 μs
- ^{15}N PWX2 (90度パルス幅) : 41.0 μs



NMRで何が見えるのか？

何を見るのか？

- 原子核（核スピンのないもの）
- ^1H 、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{29}Si など、ほぼ全ての原子核（ただし、同位体も含む）
- 同位体の場合信号強度は天然存在比に依存（ ^1H は100%、 ^{13}C は1.1%、 ^{12}C は98.9%）

どういう分子が得意か？

有機物質、CやHやNなどで構成されている低分子有機化合物、高分子、タンパク質など。

無機物質、ただし核スピンの1/2のものが好ましい。それ以外でも測定は可能だが、高分解能が得られない場合もある。天然存在比が高いものが良い。

何が分かるのか？

- 分子の種類がわかる
- 分子の運動性がわかる
- 分子の相互作用状態がわかる
- 分子の立体構造がわかる

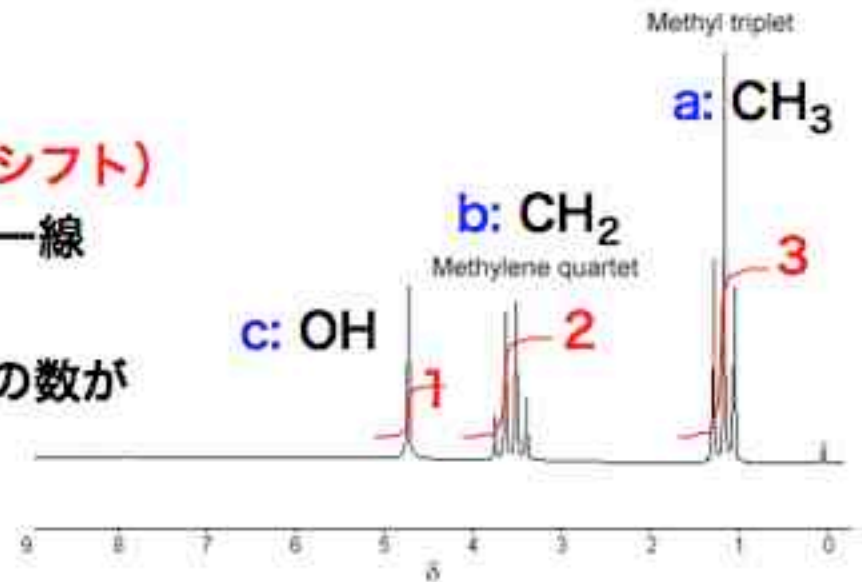
どういう分子が不得意か？

ラジカルや常磁性（ Fe^{3+} など）物質を多量に含むもの。つまり、石炭、導電率の良い材料、金属、磁石にくっつくものなど。

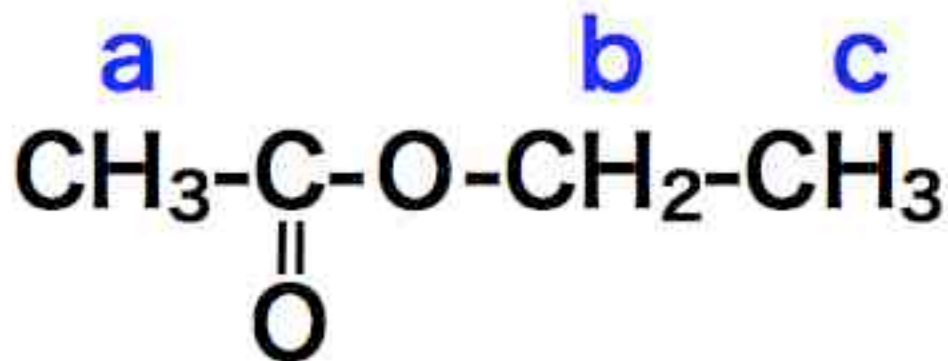
NMRスペクトルの例 (1)



1. 3種類の異なる水素がある (化学シフト)
2. aは3重線、bは4重線、cは単一線
(スピン結合)
3. 各ピークの積分比から、水素原子の数が分かる。

エタノールの ^1H -NMRスペクトル

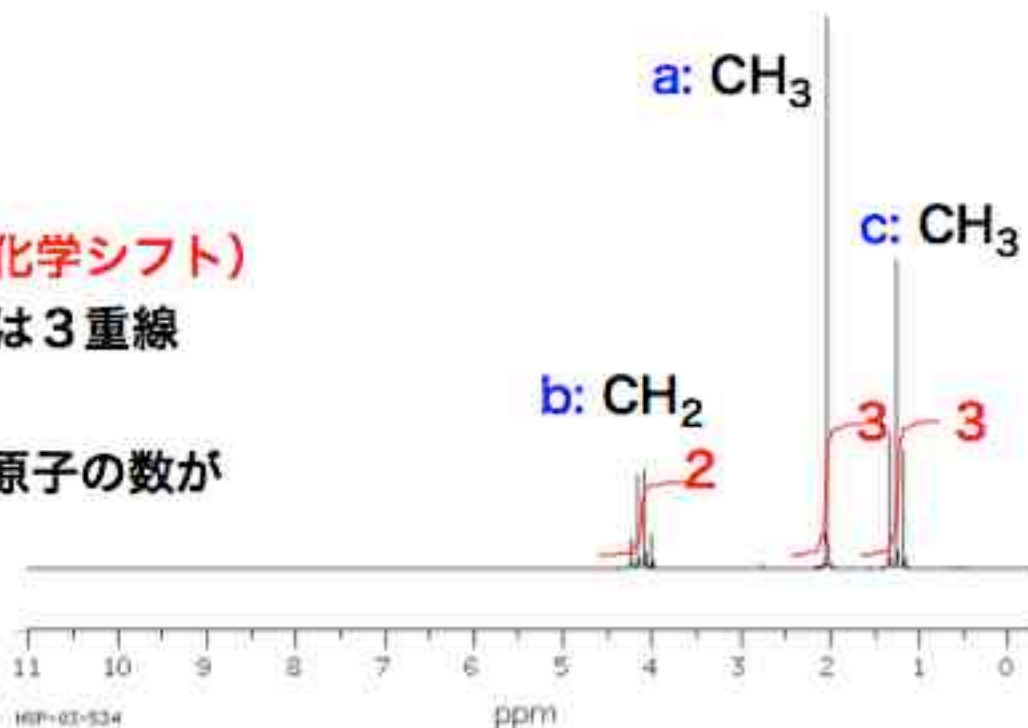
NMRスペクトルの例 (2)



ピーク面積比

$$a : b : c = 3 : 2 : 3$$

1. 3種類の異なる水素がある (化学シフト)
2. aは単一線、bは4重線、cは3重線
(スピン結合)
3. 各ピークの積分比から、水素原子の数が分かる。

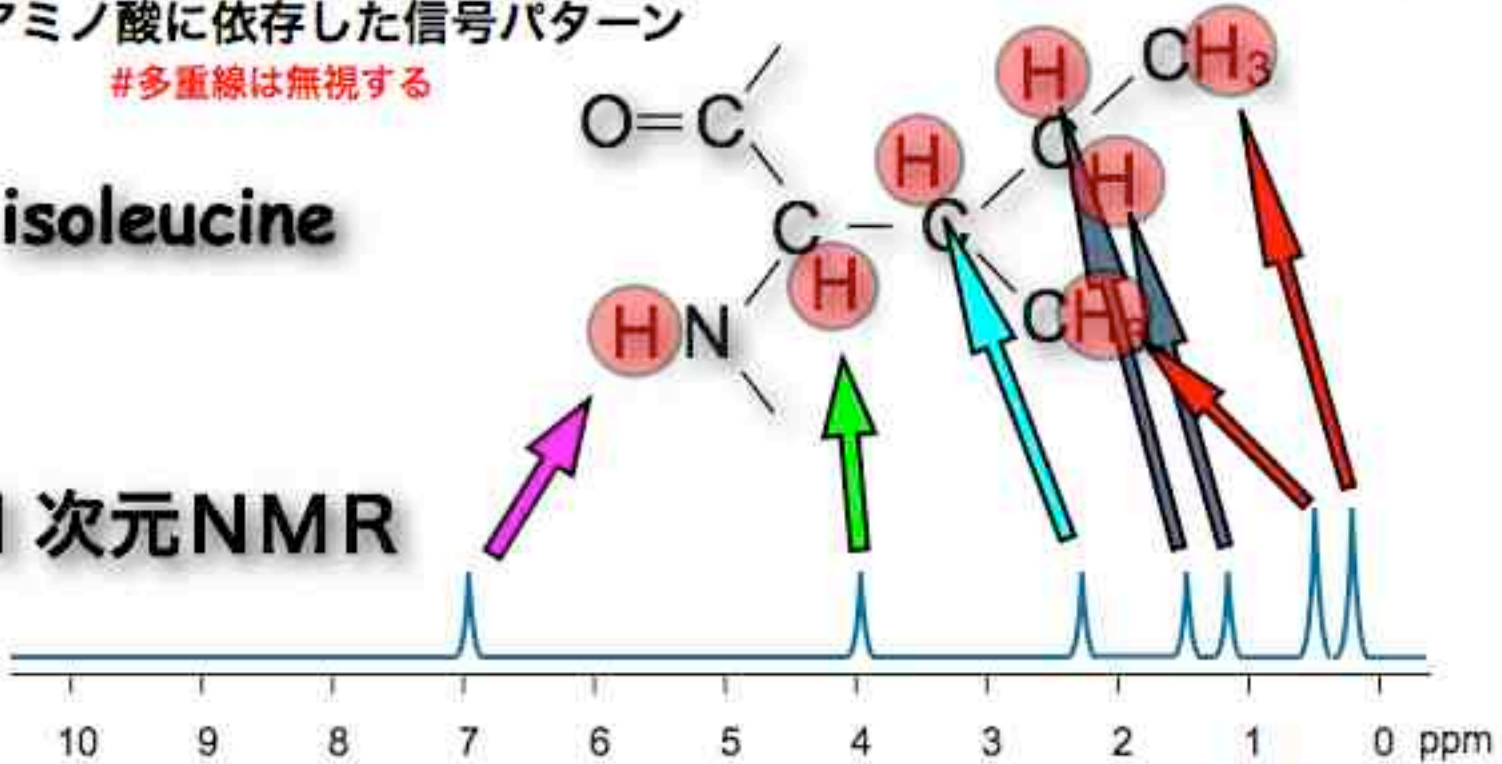
酢酸エチルの ^1H -NMRスペクトル

アミノ酸に依存した信号パターン

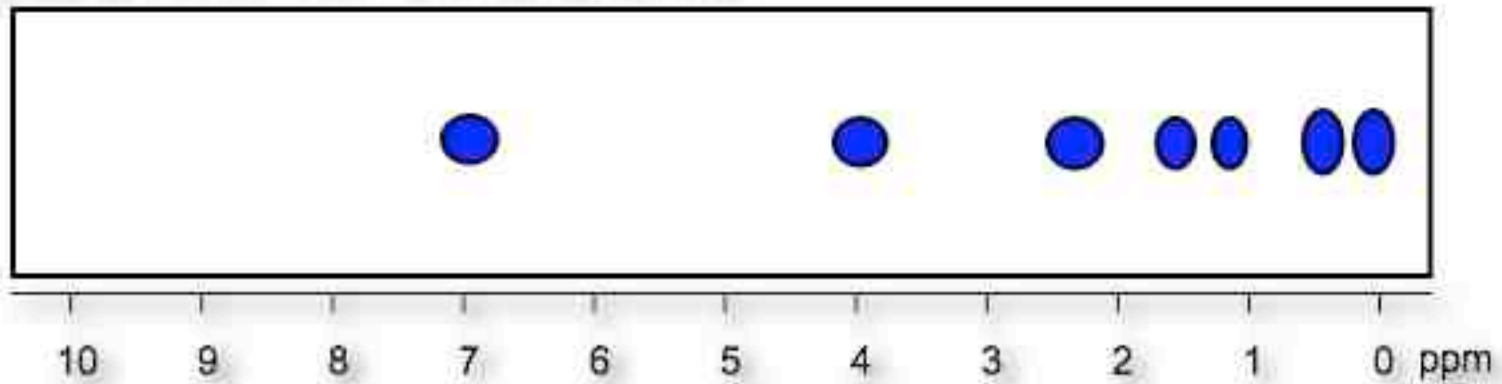
#多重線は無視する

isoleucine

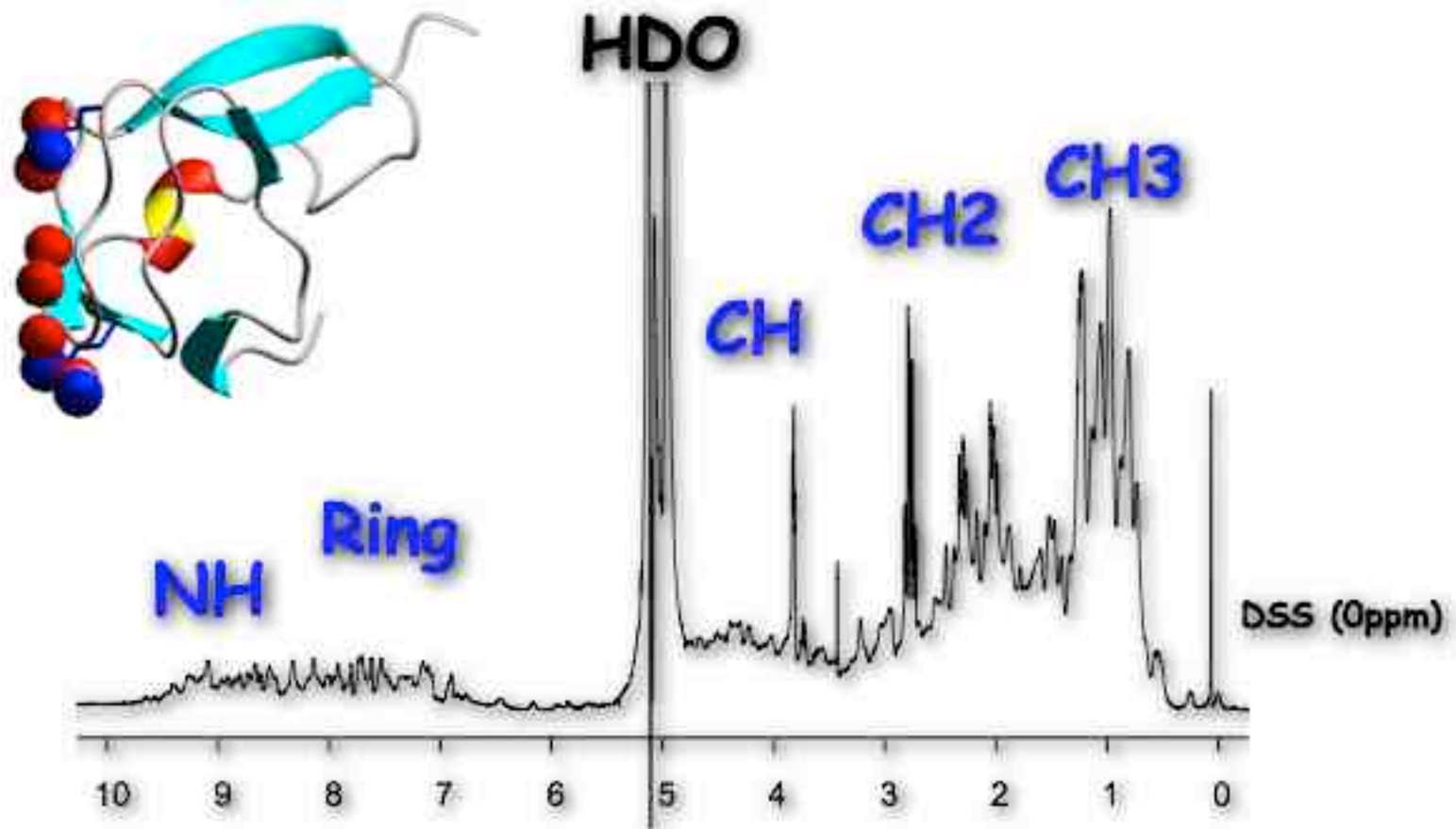
1次元NMR



2次元NMR (TOCSY)



タンパク質の¹H-NMRスペクトルの例



不凍タンパク質 nfe6アイソフォーム

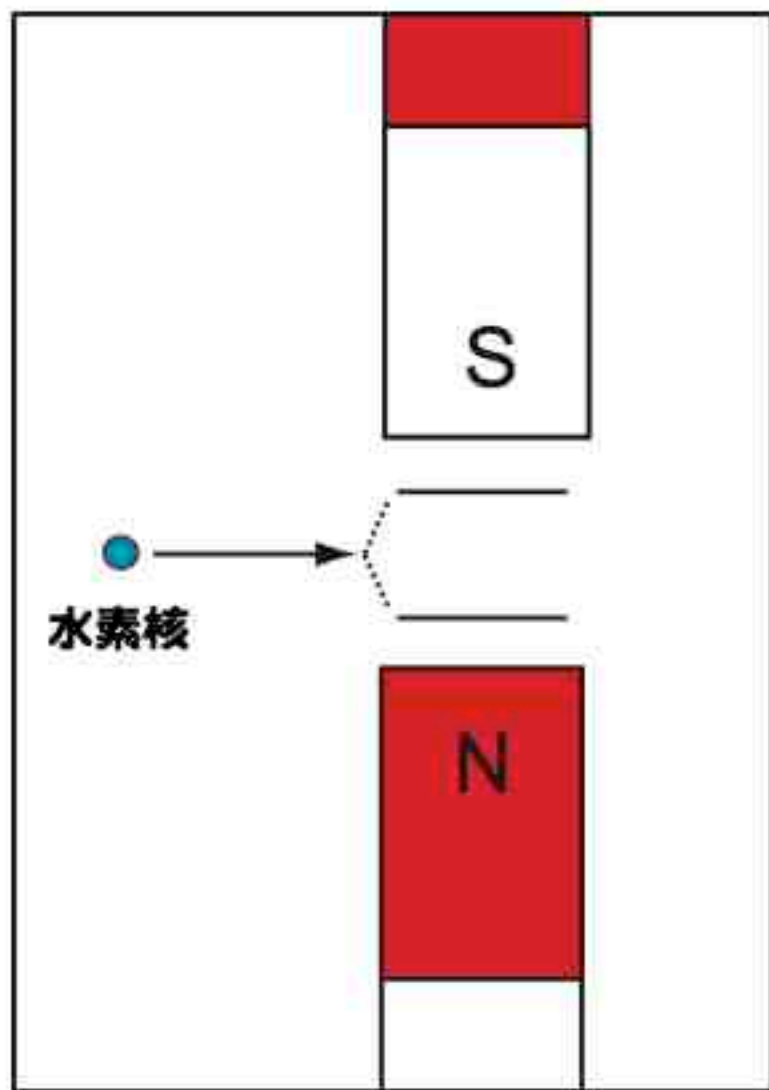
スピンのついて

スピンとは何か？

スピンは、多くの素粒子または、それらが組み合わさった粒子の量子力学的な性質である。それは角運動量の種類であるからスピンと呼ばれ、角運動量を取り扱う方程式によって記述される。

角運動量はベクトルである。理想的には、そのようなベクトルの3次元の成分(x, y, z成分)と長さを決定して、ベクトルを一義的に定義したいところである。しかし、量子力学によると、そのようなことは不可能である(不確定性原理)。

私たちは、1つの方向(z方向とする)の成分(I_z)と大きさ(I)を同時に知ることができるが、他の方向については全く分からない。同じことを別の言い方をすると、「z成分 (I_z)と大きさの自乗 (I^2) は、同時に同じ固有値方程式を満足する」と言うことができる。



**水素の原子核は
磁束密度B方向
に量子化する。**

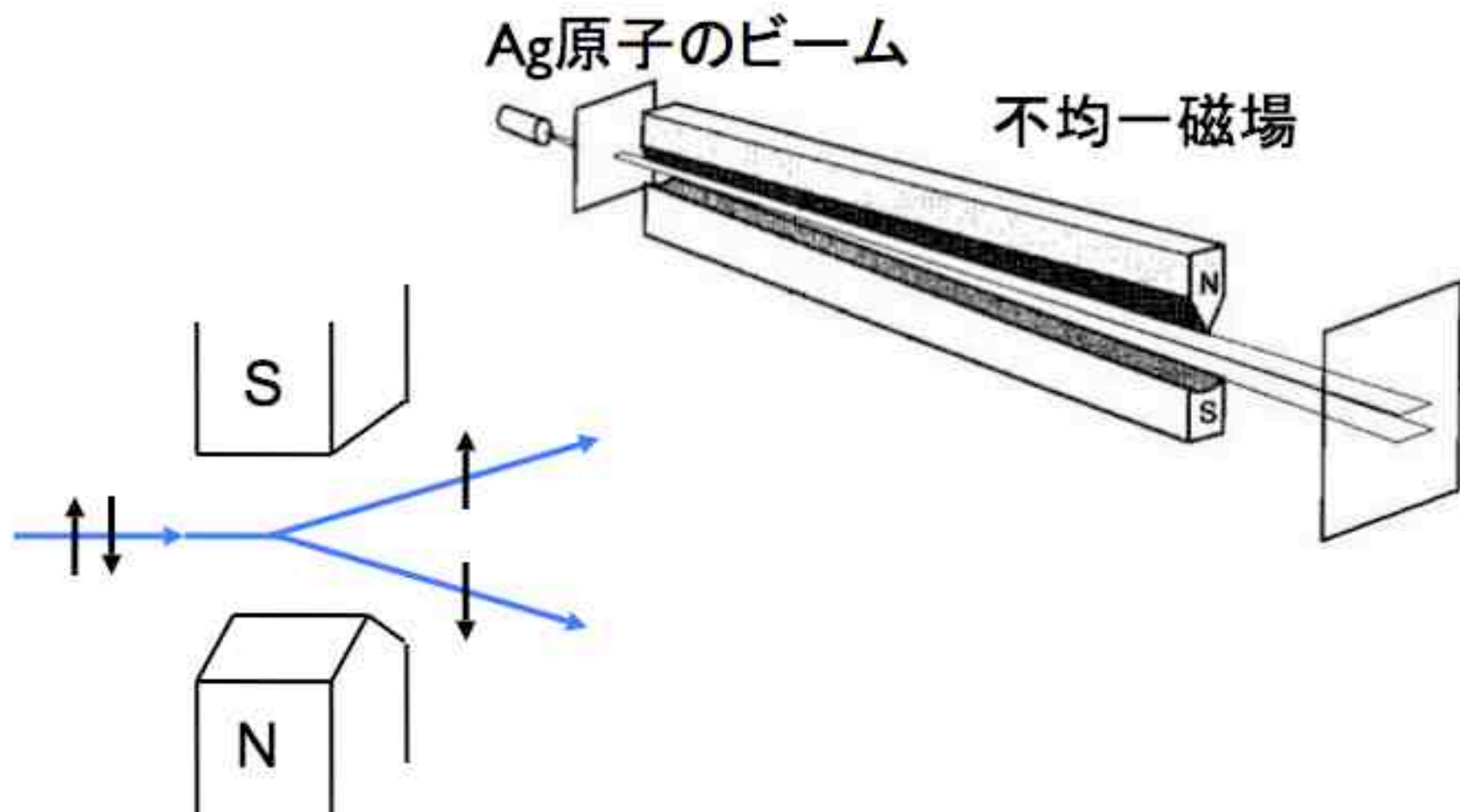
○シュテルン-ゲルラッハの実験(スピンの発見)

磁場の中で原子の角運動量の空間量子化が起こることを示した実験(1922). 装置全体を真空中におき, 炉に入れた銀の小片を電流で熱して銀原子を蒸発させ, スリットを通して原子線を作る. これに対して, 垂直な方向(z方向とする)に強さの不均一な磁場Hをかけると, 原子にはその全角運動量Jのz成分 M_J の値に応じて

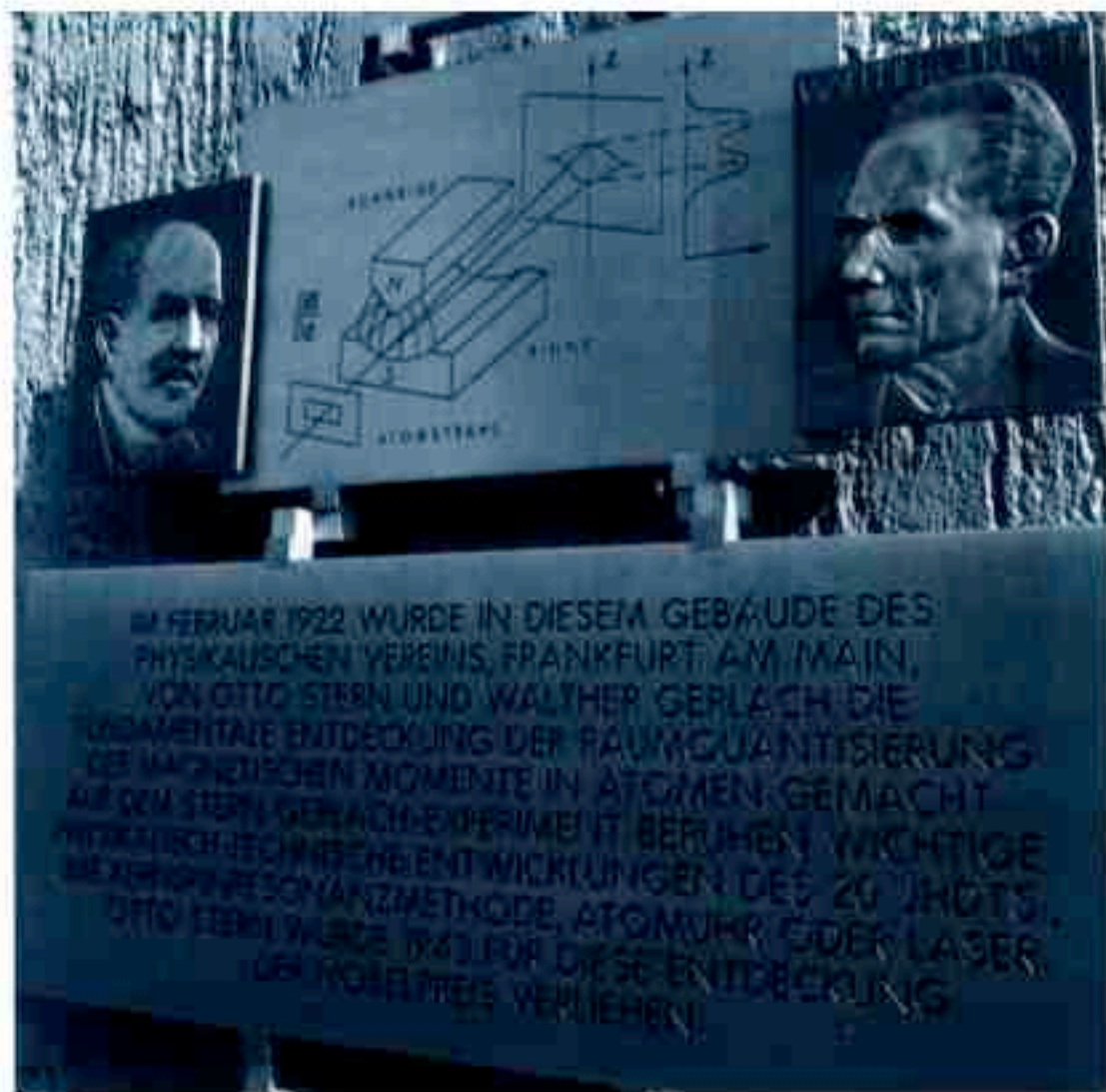
z方向に $g' \mu_B M_J \frac{\partial H}{\partial z}$ の力が働くので, M_J の異なる

原子は分離される.

シュテルン・ゲルラッハの実験



不均一な磁場中を通過したAg原子線は2つに分けられた。



ドイツのフランクフルトでシュテルンとゲルラッハが実験をした建物の入り口に2002年2月、彼らを記念して掲げられた記念碑

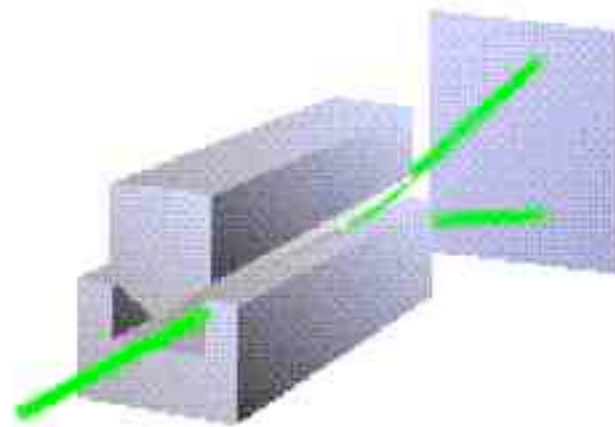
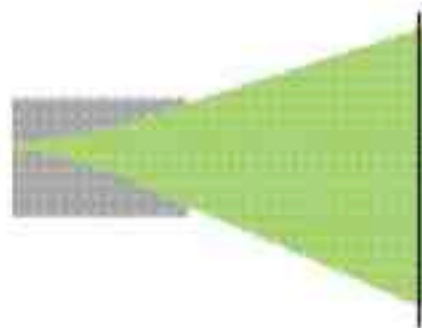


図12・32 シュテルン-ゲルラッハの実験

銀の原子線を不均一な磁場の中へ入射させた。古典力学からは(b)、量子力学からは(c)の結果が予想された。

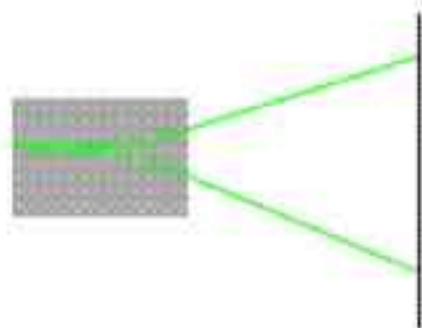
(a)



(b)古典力学から予想される結果。

角運動量の配向はどんな値でもとれるから、幅広い帯状になる。

(b)



(c)量子力学から予想される結果。

角運動量は量子化されているので数種類の鋭い帯になる。

(c)

