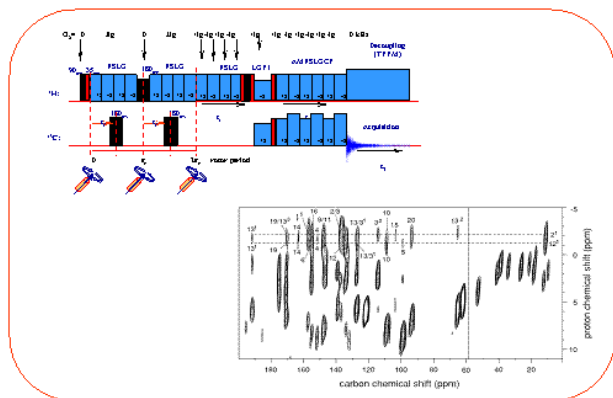


(6) 2D heteronukleární ¹H-X korelační experimenty

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JHPCAS CR



Jiří Brus

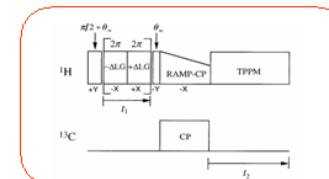
(Verze 1.0.1-2005)
(neupravená a neúplná)

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Heyrovského nám. 2, Praha 6 -
Petřiny 162 06
e-mail: brus@imc.cas.cz

2D korelační NMR v pevné fázi – 1990-2000

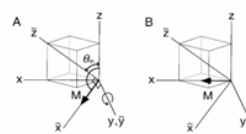
Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JHPCAS CR

van Rossum BJ., Foerster H., De Groot HJM.
High-Field and High-Speed CP-MAS ¹³C NMR Heteronuclear
Dipolar-Correlation Spectroscopy of Solids with Frequency-
Switched Lee-Goldburg Homonuclear Decoupling. *J. Magn.
Reson.* 124, 516, (1997).

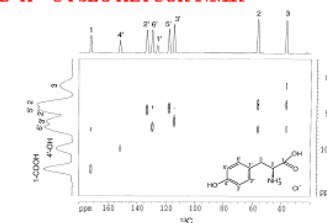


Mimorezonanční podmínka $\Delta LG(O2) = \omega_1/\sqrt{2}$
Doba trvání jednoho pulsu $\tau = \left(\frac{2\pi}{\omega_1}\right)\sqrt{\frac{2}{3}}$
Pak následuje změna fáze pulsu o 180° a rezonančního offsetu $\Delta LG(O2) = -\omega_1/\sqrt{2}$

≙ odpovídá 2π rotaci kolem efektivního pole.



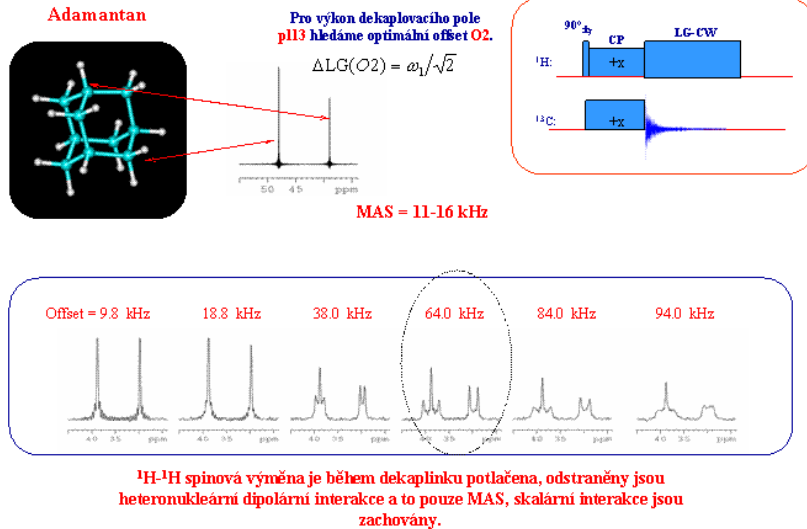
2D ¹H-¹³C FSLG HETCOR NMR



Na konci devadesátých let minulého století se díky digitální technologii a velmi dobré stabilitě NMR spektrometrů rozvinulo měření heteronukleárních korelačních spekter do té míry, že bylo možné velmi dobře rozlišit chemické posuny jednotlivých vodíkových atomů. Díky tomu je již možné poměrně přesně měřit některé meziatomové vzdálenosti. Pro získání informace o ¹H chemickém posunu však musí být ¹H-¹H dipolární interakce během první vývojové periody t_1 účinně potlačeny. Toho je dosaženo použitím některé z dekaplovacích technik zmíněných dříve. Nejčastěji jde o FSLG. Aplikace rf pole, které splňuje mimorezonanční podmínku produkuje efektivní pole, které je v rotující soustavě souřadné odkloněné od směru vnějšího magnetického pole a svírá s ním úhel 54,7°. Spiny začnou rotovat v rovině kolmé k této ose a díky tomu jsou odstraněny některé členy dipolárního Hamiltoniánu. Pokud se po uplynutí doby τ změní rezonanční offset a fáze rf pole, je účinnost dekaplinku značně vylepšena.

Optimalizace FSLG

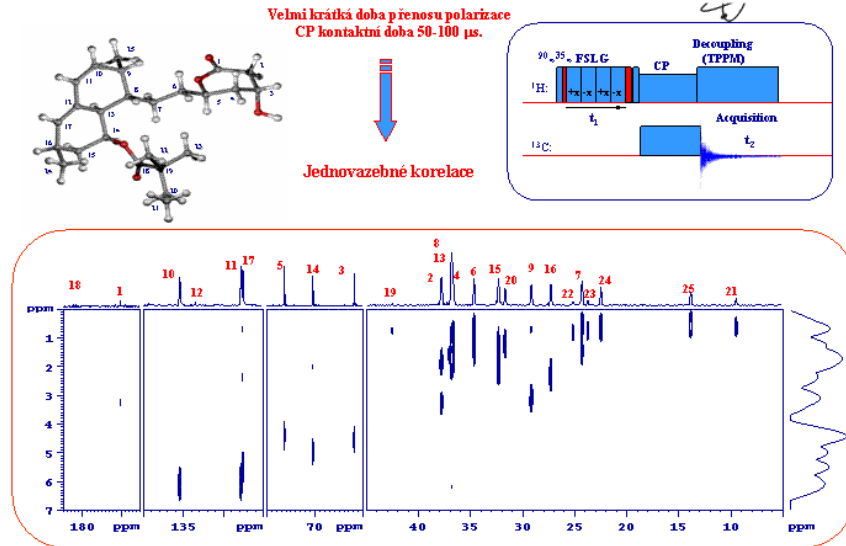
Joint Laboratory of Solid State NMR
IMC AS CR and JHPC AS CR



Jako téměř vše i FSLG optimalizujeme na standardech. V tomto případě je vhodným materiálem adamantán. Při zvoleném výkonu dekaplovacího pole p_{113} je nutné správně nastavit rezonanční offset. Přibližnou hodnotu lze získat výpočtem, přesnou je nutné experimentálně zoptimalizovat. Lze využít standardní CP experiment s proměnlivým offsetem heteronukleárního dipolárního dekaplinku. Je-li pole přesně v rezonanci, je výsledkem velmi úzký signál. S rostoucím offsetem se signál rozšiřuje, protože klesá účinnost heteronukleárního dekaplinku. Pak se v určitém okamžiku začne projevovat štěpení způsobené heteronukleární J -interakcí a objeví se dublet a triplet – v molekule je CH a CH_2 skupina. V určitém okamžiku je to štěpení nejlepší a to je optimální offset dekaplovacího pole. S dalším růstem O2 se rozlišení opět horší a horší. V určitém bodě je tedy ^1H - ^1H interakce během dekaplinku zcela potlačena.

2D ^1H - ^{13}C FSLG HETCOR

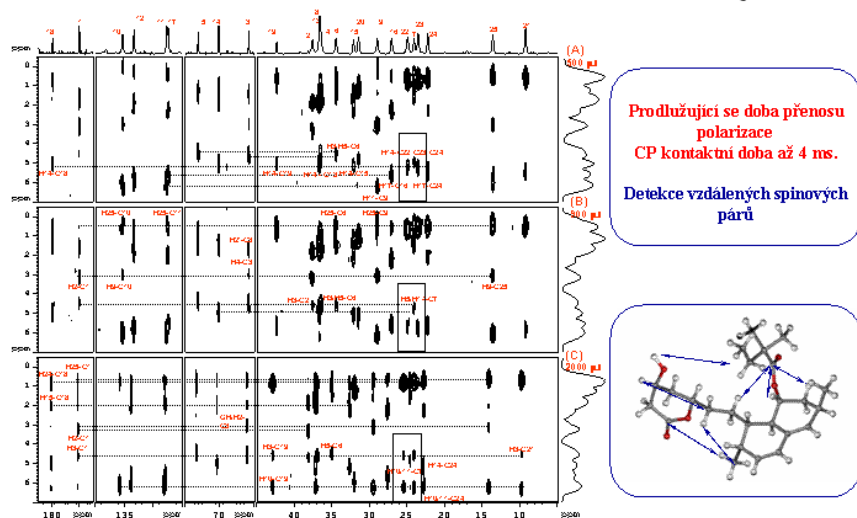
Joint Laboratory of Solid State NMR
IMC AS CR and JHPC AS CR



Nyní je tedy zřejmé, že kombinace homonukleárního dekaplinku s cross-polarizací vede k získání rozlišených heteronukleárních korelačních spekter. Vodíková magnetizace se po 90° pulsu vyvíjí především podle vodíkového chemického posunu. Vliv heteronukleárních dipolárních interakcí lze zanedbat, neboť je značně redukován MAS. V případě nutnosti lze ale doprostřed této periody vložit 180° refokusační puls. Na konci první detekční periody se vodíková magnetizace ze směru efektivního pole převede do směru roviny x-y na transversální magnetizaci, která se během cross-polarizace přenesou do uhlíkového spinového systému. Nakonec se výsledná uhlíková magnetizace přímo detekuje. Pokud je doba přenosu polarizace krátká - nepřesáhne 100 μs pak dojde k přenosu polarizace pouze z přímo vázaných atomů vodíku. Vzniklé korelační signály pak indikují pouze jednovazebné korelace a tedy i nejkratší CH spinové páry.

2D ^1H - ^{13}C FSLG HETCOR

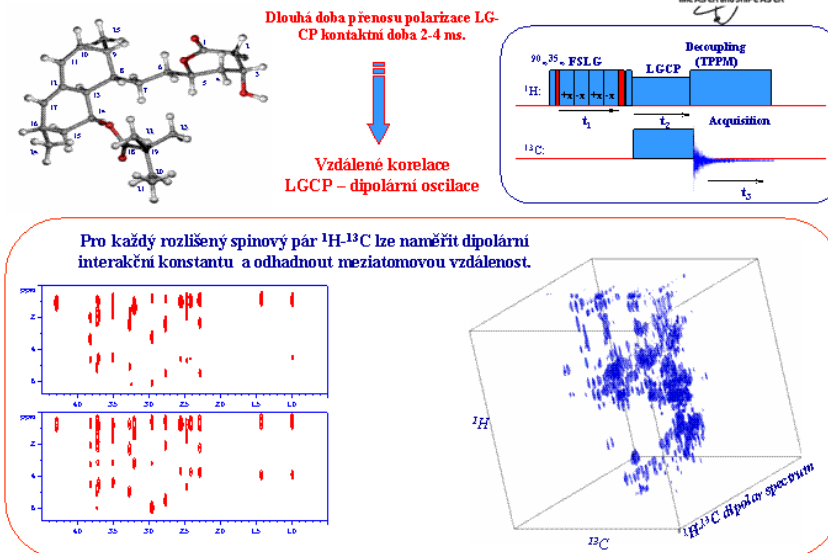
Joint Laboratory of Solid State NMR
IMC AS CR and JHPC AS CR



Jestliže se doba přenosu polarizace prodlužuje, zvětšuje se i vzdálenost odkud je možno vodíkovou polarizací přenést. A tak s postupující a prodlužující se dobou CP se ve spektrech objevují další a další signály, které identifikují středně velké a nakonec i vzdálené spinové páry. Maximální vzdálenost odkud lze přímo přenášet magnetizaci, tedy přímo z vodíku na uhlík je asi tak 4,5 Å. Tento experiment tedy již na první pohled poskytuje velmi zajímavé informace o struktuře zkoumané látky. Velmi jednoduchým rozšířením tohoto standardního 2D experimentu můžeme získat techniku, která umožní získání a změření poměrně rozsáhlé sady meziatomových vzdáleností.

3D ^1H - ^{13}C FSLG HETCOR

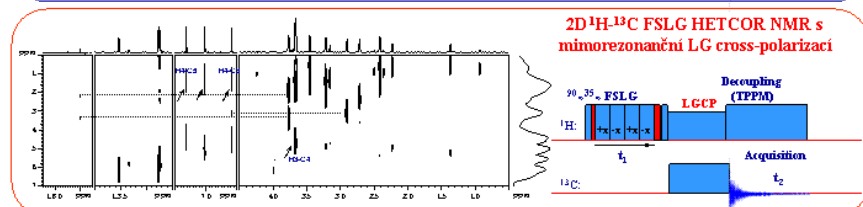
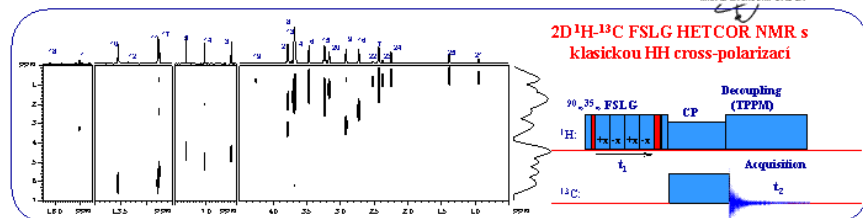
Joint Laboratory of Solid State NMR
IMC AS CR and JHPC AS CR



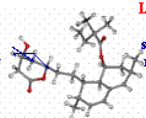
V zásadě je nutné provést 3D experiment a zkombinovat heteronukleární korelační experiment s heteronukleárním experimentem separace dipolárních interakcí. Místo standardní CP se musí použít mimořezonanční LGCP, která se inkrementuje. Tímto způsobem získáme sadu 2D korelačních spekter, ve kterých každý korelační signál reflektuje jeden (v ideálním případě) C...H spinový pár. Intenzita tohoto signálu je v závislosti na době LG CP proměnlivá, osciluje, a FT této oscilace produkuje dipolární spektrum. Jinými slovy, pro každý vodík - uhlíkový spinový pár identifikovaný ve 2D spektru dokážeme změřit velikost dipolární interakční konstanty a z ní vyextrahovat informaci o meziatomové vzdálenosti. To zní docela lákavě a zdá se že pro specifické systémy je možné určit konformaci molekul případně fragmenty lokálního uspořádání a vzájemné interakce několika molekul. Pro získání kvalitních dat je ale nutné dosáhnout toho aby se magnetizace šířila pouze z vodíků do uhlíků.

2D ^1H - ^{13}C FSLG HETCOR - selektivita

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JRPSCAS CR



HH-CP – K flip-flop přechodům dochází během CP jak mezi jádry ^1H - ^{13}C tak i mezi samotnými ^1H . Polarizace se mezi jádry ^1H snadno šíří. Heteronukleárním přechodům pak dominují pouze ty nejsilnější jednovazebné interakce (pro krátké doby přenosu polarizace do 100 μs). **Vysoká selektivita!!**



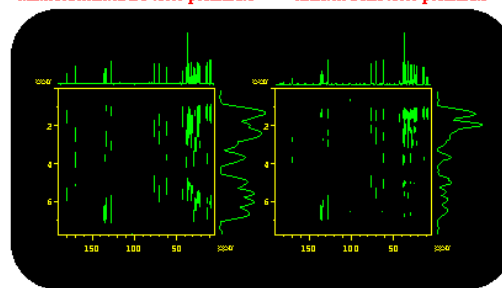
LG-CP – K flip-flop přechodům dochází během CP pouze mezi jádry ^1H - ^{13}C . Polarizace se nemůže šířit v ^1H systému. Díky tomu se při heteronukleárních přechodech mohou projevit i slabší nejenom jednovazebné interakce (pro krátké doby přenosu polarizace do 100 μs). **Nízká selektivita!!**

Ovšem aplikace LGCP má docela zajímavý dopad na selektivitu přenosu polarizace při použití krátkých kontaktních dob, kdy je naším cílem detekovat pouze jednovazebné C-H spinové páry. Při klasické HH-CP dochází k flip-flop přechodům jak mezi jádry ^1H - ^{13}C tak i mezi samotnými protony. Navíc se polarizace se mezi jádry ^1H šíří snadněji díky vyššímu gyromagnetickému poměru. Díky tomu existuje více cest kudy se může protonová magnetizace šířit a tak heteronukleárním přechodům dominují pouze ty nejsilnější „jednovazebné“ interakce. Pro krátké doby přenosu polarizace jsou ve spektrech pak patrné pouze korelační signály nejkratších spinových párů. Ovšem při aplikaci LG CP se potlačí možnost ^1H - ^1H přenosu polarizace. Vodíková magnetizace se může šířit pouze do uhlíkového spinového systému a díky tomu se při heteronukleárních přechodech mohou projevit i slabší nejenom jednovazebné interakce.

2D ^1H - ^{13}C HETCOR – selektivita (delší CP)

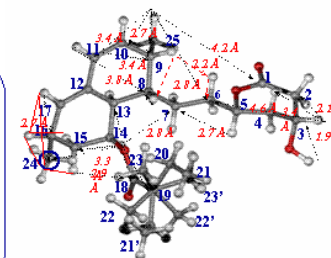
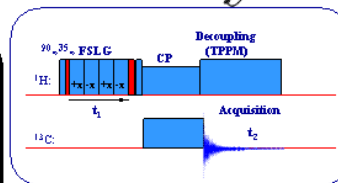
Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JRPSCAS CR

2D ^1H - ^{13}C FSLG HETCOR NMR s mimořádnou LG cross-polarizací



LG-CP – Ani během 300-900 ms se ^1H magnetizace nerozfázuje, neztrácí a šíří se přímo ze všech rozlišených protonů „rovněměrně“ i do vzdálených atomů ^{13}C . **Vysoká selektivita!!** Korelační signály reflektují pouze ^1H - ^{13}C transfer.

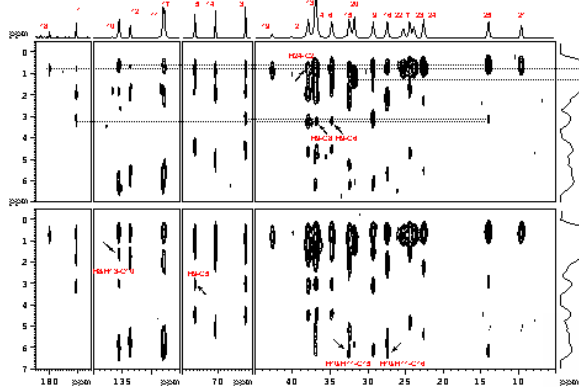
HH-CP – Během 300-900 μs se velká část ^1H magnetizace rozfázuje a zůstává pouze na rotujících methylech. Především z methyly se šíří buď přímo nebo přes další vodíky do vzdálenějších ^{13}C . **Nízká selektivita!!** Korelační signály reflektují ^1H - ^{13}C i ^1H - ^1H - ^{13}C transfer.



Ve spektru lze pak nalézt a identifikovat nové signály, které jsou relativně intenzivní a které reflektují přenos polarizace i ze vzdálenějších vodíkových atomů. Vznik těchto signálů je patrný i tehdy pokud je délka kontaktní doby kolem 50ms. S rostoucí délkou CP - přenosu polarizace - se situace ale dále vyvíjí. Při použití klasické HH-CP se během 300-900 ms velká část ^1H magnetizace rozfázuje a zůstává pouze na rotujících methylech. Následně se pak především z methyly magnetizace šíří, buď přímo nebo přes další vodíky do vzdálenějších atomů uhlíku. Korelační signály pak odpovídají nejenom přímému přenosu magnetizace z vodíků do uhlíků ale i štafetovému přenosu polarizace, který zahrnuje kratší nebo delší část přenosu mezi vodíky. V tomto bodě tedy selektivita experimentu prudce klesá a jak je patrné z tohoto spektra po určité době jsou nositelem vodíkové polarizace především methyly. Ovšem LGCP podporuje pouze přímý přenos magnetizace a stále zachovává vysoký stupeň selektivitu.

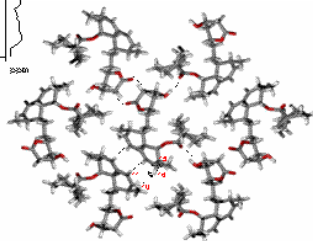
2D ^1H - ^{13}C HETCOR – detekce ^1H - $^1\text{H} \dots ^{13}\text{C}$

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JRCAS CR



H-H-CP – Během delší doby cross-polarizace se sice velká část ^1H magnetizace rozfázuje, ale také nastává spinová difuze v protonovém systému a magnetizace se šíří mezi vodíky. Teprve po jisté době se přenese do vzdálenějších ^{13}C .
Korelační signály reflektují ^1H - $^1\text{H} \dots ^{13}\text{C}$ transfer. To je výhodné pro detekci intermolekulárních kontaktů.

Uhlíkovíky – Uhlíkový skelet je obalen vrstvou skořápkou vodíkových atomů. Molekuly jsou tedy spíše spolu v kontaktu přes atomy vodíku a tak díky spinové difuzi se magnetizace snadno přenese z jedné molekuly do druhé.

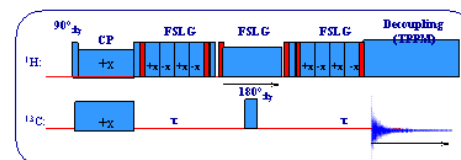


Štafetový přenos polarizace v protonovém spinovém systému tedy do jisté míry komplikuje sledování cesty vodíkové polarizace a snižuje „selektivitu“ experimentu. Lze ho ale i s velkou výhodou využít k detekci intermolekulárních kontaktů. Většina uhlíkovíků a organických látek je totiž tvořena uhlíkovým skeletem, který v obalen skořápkou ^1H atomů. Molekuly jsou ve vzájemném kontaktu právě prostřednictvím vodíkových atomů. Tam kde přímý přenos polarizace z ^1H do ^{13}C nestačí díky dosahu heterojaderných dipolárních interakcí, tam pomůže štafetový přenos H-H-C. Např. v tomto korelačním spektru změřeném s dostatečně dlouhou dobou standardní CP se objevují nové signály, které mohou indikovat mezimolekulární kontakty. Tím lze odhalit vzájemnou orientaci a pakování molekul v krystalu. To jsou velmi cenné informace např. při řešení krystalové struktury z práškových difrakčních dat.

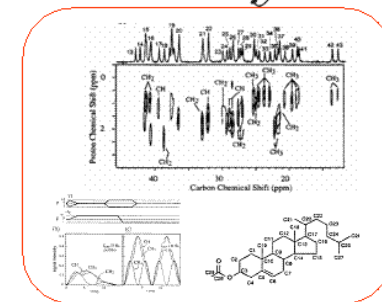
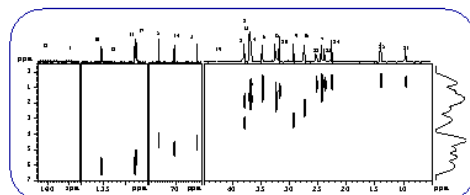
2D ^1H - ^{13}C HMQC-*J*-MAS – maximální selektivita

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JRCAS CR

A. Lesage, D. Sakellariou, S. Steuermann, L. Emsley
Carbon-Proton Chemical Shift Correlation in Solid-State NMR by Through-Bond Multiple-Quantum Spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.*, 120 (50), 13194-13201, 1998.



$$I_z \xrightarrow{90^\circ(\text{H})} I_x \xrightarrow{\text{CP}} S_x \xrightarrow{\epsilon J_{\text{CH}} \text{ FSLG/MAS}} 2 I_x S_y \xrightarrow{90^\circ(\text{H})} 2 I_x S_y \xrightarrow{\pi(\text{H}), 180^\circ(\text{C})} 2 I_x S_y \xrightarrow{90^\circ(\text{H})} 2 I_x S_y \xrightarrow{\epsilon J_{\text{CH}} \text{ FSLG/MAS}} S_x$$



HMQC-*J*-MAS

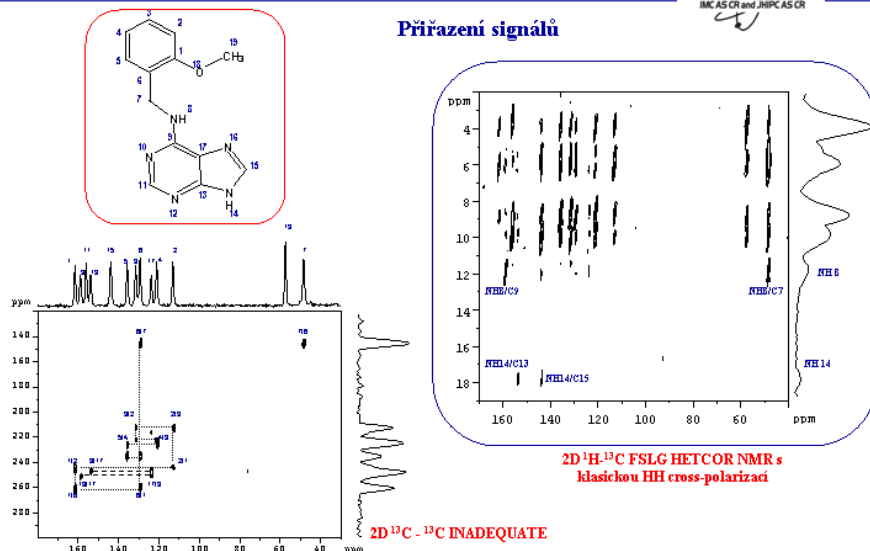
1. CP – ^{13}C magnetizace (S_x)
2. $\epsilon - S_x$ podle skalární interakce J_{CH} na anti-fázovou $I_x S_y$
3. FSLG a MAS - potlačí $1/2$ dipolární interakce + CSA
4. $90^\circ(\text{H})$ - anti-fázovou $I_x S_y$ na dvoukvantovou $I_x S_y$
5. t_1 - koherence $I_x S_y$ se vyvíjí podle ^1H chemického posunu
6. $180^\circ(\text{C})$ - refokusace ^{13}C chemického posunu
7. DQ koherence necíťvá na J_{CH} , FSLG, MAS a $180^\circ(\text{C})$
8. $90^\circ(\text{H})$ - dvoukvantovou $I_x S_y$ na anti-fázovou $I_x S_y$
9. $\epsilon -$ anti-fázová $I_x S_y$ se refokusuje podle J_{CH} na S_x
10. detekce

V některých případech je ale potřebné zcela bezpečně identifikovat přímo vázané vodíky. V tom případě lze využít přenosu polarizace, kdy hnací silou jsou spin-spinové skalární *J*-interakce. Během experimentu musí být všechny anizotropní interakce zcela potlačeny: nejprve vytvoříme uhlíkovou magnetizaci, která se během první periody vyvíjí podle heteronukleární *J*-interakce. Homonukleární dipolární interakce je potlačena FSLG, zatímco velmi rychlá rotace vzorku pod magickým úhlem potlačí CSA a heteronukleární dipolární interakce. Na konci periody se vzniklá antifázová koherence převede 90° pulsem na dvoukvantovou koherenci a tu necháme vyvíjet pod vlivem vodíkového chemického posunu. ^{13}C chemický posun je refokusován 180° pulsem. Pak je dvoukvantová koherence převedena na antifázovou a ta je refokusována do ^{13}C magnetizace během druhé periody τ . Tato magnetizace je potom detekována. Výsledkem je spektrum, ve kterém jsou pouze signály jednovazebných spinových párů.

HETCOR & CP-INADEQUATE

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JHPCAS CR

Přirazení signálů

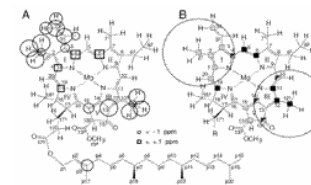
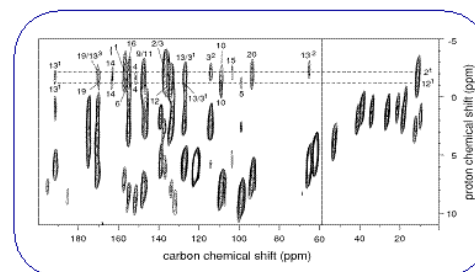


Využití předešlého experimentu je zřejmé – je to nepochybná identifikace jednovazebných spinových párů. Na druhou stranu pak klasický dipolární heteronukleární korelační experiment, který umožňuje identifikovat i vzdálené nebo středně vzdálené spinové páry lze s výhodou využít pro přiřazení signálů jednotlivým funkčním jednotkám. V tomto konkrétním případě problém rozlišení uhlíků C9 a C13, zcela řeší přítomnost korelačních signálů NH8-C7 a NH8-C9.

^1H - ^{13}C HETCOR – konformační neuspořádanost

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JHPCAS CR

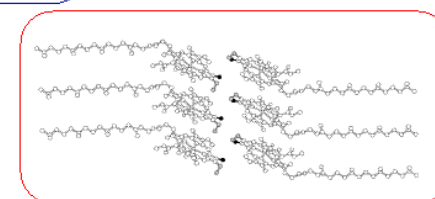
2D ^1H - ^{13}C FSLG HETCOR NMR s mimořádně LG CP



Chlorofyl a/ H_2O

Alifatické ocásky – Korelační signály jsou trochu skloněny – disperze ^1H a ^{13}C posunů je korelovaná – malé nehomogenní rozšíření: nepatrné změny v konformaci alifatických ocásků.

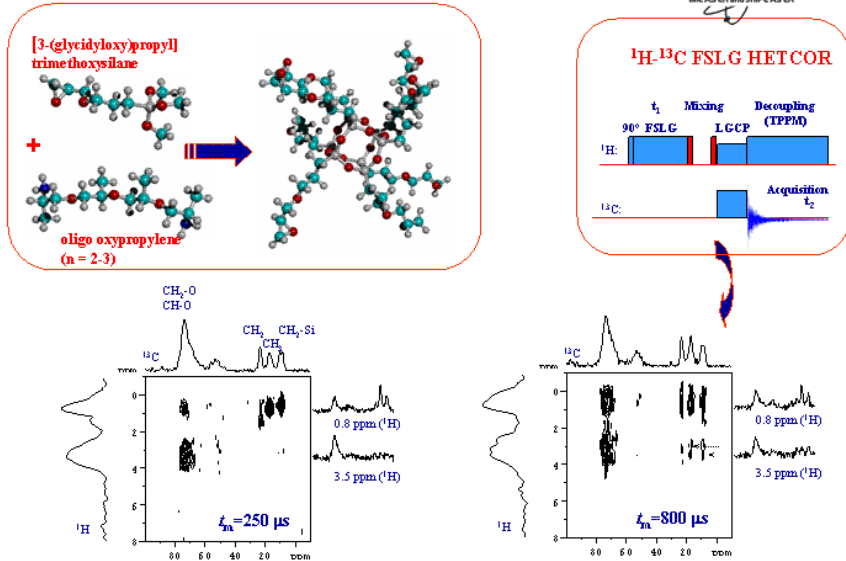
Polycyklická část – Korelační signály jsou paralelní s osou ^1H – žádná disperze ^{13}C posunů – zcela krystalické konformačně uniformní: pratorová separace obou částí molekuly.



Tato korelační spektra také sice velmi zřídka, ale přesto, obsahují i jiný typ informace. Ta se pojí s mírou uspořádání molekul v krystalu a s jednotností konformace molekul. V některých případech, které jsou poměrně vzácné, lze ve spektrech sledovat, že některé signály jsou poněkud nakloněné a nejsou zcela paralelní s osou ^1H chemických posunů. To indikuje korelovanou disperzi ^1H a ^{13}C chemických posunů a naznačuje tak mírné nehomogenní rozšíření signálů. To je způsobeno velice nepatrnou variabilitou v konformaci. V tomto případě nakloněné signály odpovídají uhlíkovým a vodíkovým atomům tohoto alifatického ocásku. Ten je tedy konformačně poněkud neuspořádaný, zatímco polycyklická část je konformačně jednotná. Je potřeba si uvědomit, že z ^{13}C CP/MAS NMR spektra nelze tuto konformační neuspořádanost odhalit, protože signály mají zcela symetrický tvar. To tedy ukazuje na celou sérii různých konformací alifatického ocásku, které se od sebe jen velmi nepatrně ale přesto liší.

Uspořádání polymerních sítí

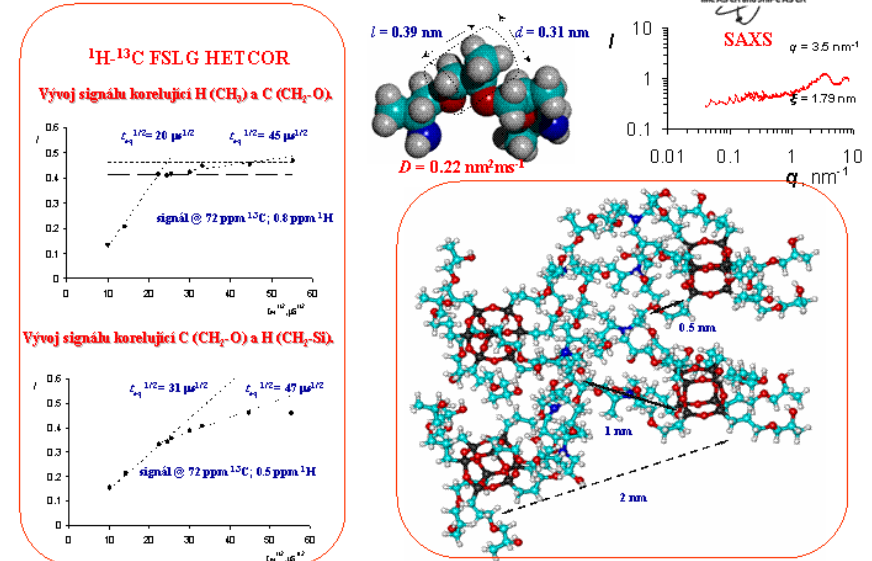
Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JRPSCAS CR



V každém případě dosažené spektrální rozlišení v ^1H dimenzi umožňuje i další aplikace. Při dříve zmíněných separačních experimentech WISE se zavedenou směšovací periodou se během spinové difuze šířila prostorem informace o pohybovém zúžení signálů. Toho bylo možné využít pro posouzení velikosti částic v heterogenních systémech, ve kterých se ale jednotlivé složky musely lišit v pohyblivosti. Takovýto typ experimentu nelze použít pro systémy s jednotnou pohyblivostí. Pokud ale vývojovou periodu, ve které se volně vyvíjela ^1H magnetizace nahradím FSLG, pak lze dosáhnout toho, že během směšovací periody se prostorem šíří informace o chemickém posunu. Stejně jako v předchozích případech mohou sledovat rychlost výstavby magnetizace v závislosti na dále směšovací periody. Tato modifikace spin-difuzního experimentu je samozřejmě obecnější a lze ji použít pro všechny systémy, na rozdíl od WISE.

Uspořádání polymerních sítí

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JRPSCAS CR

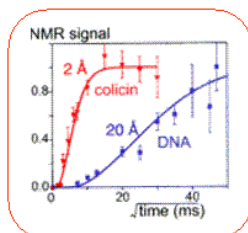
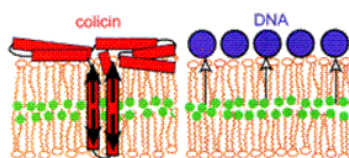


Příkladem takové aplikace může být posouzení architektury polymerní sítě připravené z těchto monomerních jednotek. Z rychlosti šíření ^1H magnetizace z CH₂-Si pak lze získat informaci o průměrné vzdálenosti mezi povrchem siloxanového klastru a středem propylenoxidové složky a tedy i vzdálenosti mezi siloxanovými klastry. Navíc je jasně patrné, že proces je striktně dvoustupňový. V prvním stupni sledujeme přenos polarizace uvnitř jedné monomerní jednotky. Toho lze využít pro stanovení spin-difuzního koeficientu. Druhý krok potom odráží přenos polarizace mezi monomerními jednotkami. Ta zcela zřetelná dvoustupňovost také naznačuje, že siloxanové klastry mohou být velmi pravidelně rozptýleny v polymerní matici. Toto pravidelné uspořádání se prokázalo maloúhlovým rozptylem světla. Siloxanové klastry jsou v polymerní matici od sebe vzdálené vždy zhruba 2 nm. To je zcela v souladu s NMR experimentem.

Uspořádání lipidové membráně

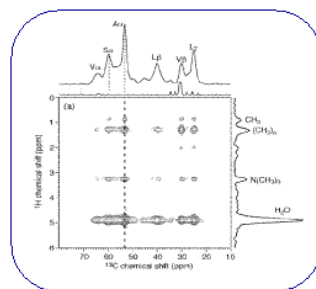
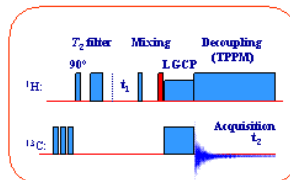
Joint Laboratory of Solid State NMR
IMC AS CR and JRPSC AS CR

Daniel Huster, Xiaolan Yao, and Mei Hong
Membrane Protein Topology Probed by ^1H Spin Diffusion from Lipids Using Solid-State NMR Spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.*, VOL. 124, NO. 5, 2002.



Colicin Ia – Částečně zabořeny do lipidové membrány – rychlá spinová difuze.

DNA – Řetězce jsou pouze na povrchu – pomalá spinová difuze.



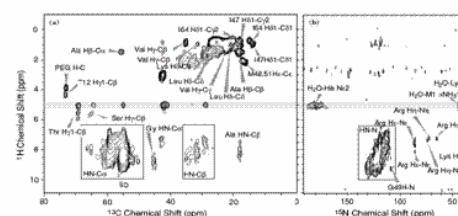
Podobný typ experimentu byl také uplatněn pro posouzení struktury topologie membránových proteinů. V tomto případě nebyla nejprve aplikována homodeklovací FSLG perioda, ale T_2 filtr. Tím se potlačila magnetizace rigidních složek a v koherenci zůstaly pouze spiny mobilní lipidové části. Následně se tato magnetizace vyvíjela podle ^1H chemického posunu a pak prostřednictvím spinové difuze šířila i do rigidních složek proteinu či DNA. Během CP byla tato magnetizace zakódována do ^{13}C spinového systému a posléze detekována. To samozřejmě umožňuje identifikovat části proteinu které jsou zabořeny do lipidové membrány, odhadnout i hloubku do jaké se protein ponoří. Zde jsou zcela patrné rozdíly v průběhu spinové difuze mezi systémem colicinu Ia a systémem s DNA. V prvním případě je část proteinu ponořena do membrány a díky tomu je proces spinové výměny velmi rychlý.

Lokalizace molekul vody

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMC AS CR and JRPSC AS CR

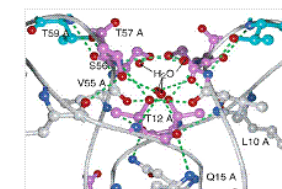
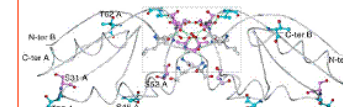
A. Böckmann, M. Juy, E. Bettler, L. Emsley, A. Gažmier, F. Penin, A. Lesage
Water-Protein Hydrogen Exchange in the Micro-Crystalline Protein Crh as Observed by Solid State NMR Spectroscopy, *Journal of Biomolecular NMR*, 32 195 (2005).

Hydratace proteinu – Stabilita, správná konformace, vodíkové vazby, rychlost výměny -OH...H₂O



Obohacený ^2H

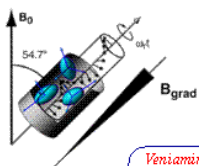
Mikrokrystalický protein Crh
(catabolite repression histidine containing phosphocarrier protein)



Obdobným způsobem lze také přistoupit k identifikaci pozice molekul vody a hydratovaném proteinu. Strukturované molekuly vody hrají významnou roli při vytváření správně sekundární i terciální struktury proteinu a identifikace pozice rychle vyměnitelných molekul vody pak ukazuje místa, která jsou snadno dostupná z roztoku. Korelační signály s ^1H chemickým posunem kolem 4,8-5,5 ppm indikují relativně dobře vázanou vodu. To znamená, že existuje specifická interakce mezi proteinem a vodou. Nejde pouze o sterické uzavření. V tomto konkrétním případě byla molekula vody identifikována v tomto místě. Zatímco fialová rezidua označují místo kde je voda pevně držena, pak modré části odhalují snadno dostupná místa, kde je rychlost výměny velmi rychlá.

Inverzní detekce a gradientová spektroskopie

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JHPCAS CR

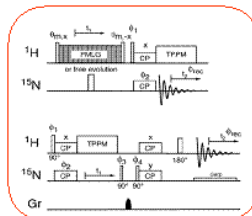


Speciální podmínky pro inverzní experiment:

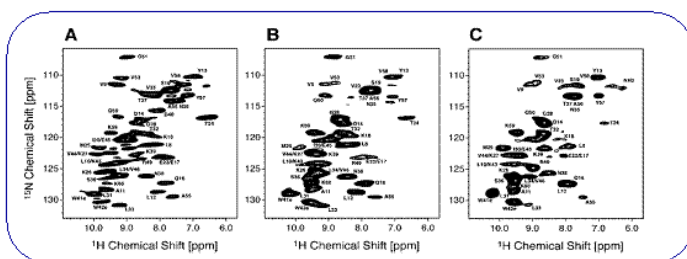
1. CP/MAS sonda s gradientovými cívkami
2. Peptidy, proteiny.
3. Plně obohacení deuteriem + následná výměna labilních ND na NH.
4. Potlačení signálů zbytkové vody – vzorky musí být hydratované

Veniamin Chevelkov, et al.

¹H Detection in MAS Solid-State NMR Spectroscopy of Biomacromolecules Employing Pulsed Field Gradients for Residual Solvent Suppression, *J. Am. Chem. Soc.*, 125 7788 2003.



α -Spectrin Sh3 Domain



Na závěr této kapitoly je vhodné se zmínit o možnosti inverzního uspořádání a tedy o možnosti přímé detekce ¹H magnetizace. Je-li systém plně deuterovaný, je velikost dipolárních interakcí natolik oslabena že je možné je odstranit MAS. Běžně je inverzní experiment stále nevýhodný. Pro potlačení signálů vody nelze použít standardní schéma, protože klasická presaturace způsobí pokles intenzit všech signálů. Binomické potlačení selhává protože pološířka čáry vody je velká. Proto se po CP a první vývojové periodě chemického posunu ¹⁵N se dusíková magnetizace uloží do směru osy z, gradientový puls rozfázuje transversální ¹H magnetizaci a během následující CP z dusíku do protonů se vytvoří nová ¹H magnetizace. Během detekce ¹H magnetizace je aplikován GARP dekaplink pro potlačení *J* interakcí.

Shrnutí

Joint Laboratory of Solid State NMR
IMCAS CR and JHPCAS CR

- a. Kontinuální homodekaplink ¹H – FSLG dobré spektrální rozlišení.
- b. Optimalizace výkonu a frekvence dekaplovacího pole – štěpení – adamantan.
- c. Jednovazebné korelace – krátký přenos polarizace HHCP – 100 μ s.
- d. Vzdálené spinové páry – dlouhý přenos polarizace LGCP – 1-4 ms.
- e. LGCP – dipolární oscilace – 3D experiment.
- f. Problém se selektivitou – LGCP vs. HHCP.
- g. Rychlá ztráta koherence při HHCP ale možnost detekce H-H... C přenosu.
- h. HMQC-*J*-MAS – přenos polarizace skalárními interakcemi.
- i. Aplikace – přiřazení signálů, posouzení konformačního uspořádání.
- j. Zavedení spin-difuzní periody.
- k. Lokalizace molekul vody.
- l. Inverzní detekce a gradientová spektroskopie.