

# Moderní metody buněčné biologie 2012

## Nukleární magnetická rezonance

NMR představuje metodu, která poskytuje informace o struktuře a pohybech látek (proteinů, nukleových kyselin) s atomovým rozlišením. Metoda je nedestruktivní, ale poměrně málo citlivá, proto je třeba pracovat ve vysokém magnetickém poli. Spektrometr se skládá ze silného velmi homogenního supravodivého magnetu, radiového vysílače (zdroj záření pro excitaci magnetických momentů jader) a radiového přijímače. Cívky sloužící jako vysílací a přijímací antény jsou součástí vyměnitelné sondy, do které je umístěn vzorek. Přijímač deteguje napětí indukované v cívce pohybem excitovaným magnetických momentů jader. Napětí osciluje s rezonanční frekvencí, která se liší pro jádra s různým chemickým okolím (odtud atomové rozlišení). Tento průběh napětí zaznamenává počítač a Fourierovou transformací převádí na frekvenční závislost (spektrum). Excitované momenty jader je možno dále ovlivňovat pulzy radiových vln. Existuje velmi mnoho možností kombinace radiových pulzů, každá z nich představuje experiment poskytující jinou informaci. Kombinací opakovaných měření je možno získat i spektra s více frekvenčními závislostmi (vícerozměrná spektra). Vzhledem k různorodosti jednotlivých experimentů a hloubce teoretického popisu nutného k jejich vysvětlení se soustředíme pouze na demonstraci základních principů.

**Vzorek: [ $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ]-ubikvitin v 10%  $^2\text{H}_2\text{O}$**

## Měření 1D $^1\text{H}$ spektra proteinu

Postup měření

- Nastavení teploty
- Vložení vzorku
- Naladění obvodů
- Kompenzace nehomogenit magnetického pole
- Kalibrace radiofrekvenčních pulzů
- Naměření 1D  $^1\text{H}$  spektra

## Otázky a úkoly:

- Co znamená označení spektrometru (například 600 MHz)?

**Rezonanční frekvence protonů (tedy jader  $^1\text{H}$ ) v magnetickém poli daného spektrometru.**

- Jaké záření se používá v NMR? Kolikrát je vyšší/nížší energie tohoto záření, než energie záření používaného v optické mikroskopii (viditelné světlo)? Proveďte výpočet pro záření používané k excitaci jader vodíku  $^1\text{H}$  v 500MHz spektrometru a pro oranžové světlo (vlnová délka 600 nm).

**Radiové vlny v rozsahu velmi krátkých vln ezonanční frekvence protonů (tedy jader  $^1\text{H}$ ) v magnetickém poli daného spektrometru. Energie záření použitého v NMR je milionkrát nižší. Výpočet: Frekvence radiových vln je 500 MHz =  $5 \cdot 10^8$  Hz, frekvence viditelného záření je  $c/\lambda$ , tedy pro náš příklad  $3 \cdot 10^8 / 600 \cdot 10^{-9}$  Hz =  $5 \cdot 10^{14}$  Hz, poměr frekvencí  $10^6$  a energie je přímo úměrná frekvenci, tedy poměr energií je taky  $10^6$ .**

- Proč se vzorky proteinů obohacují isotopy  $^{13}\text{C}$  a  $^{15}\text{N}$ ? Jaké z toho vyplývají důsledky pro bezpečnost práce (ochrana před radiativním zářením)?

**Pro zvýšení citlivosti experimentů využívajících těchto isotopů (jejich přirozené zastoupení je nízké). Důsledky pro bezpečnost práce nejsou žádné, tyto isotopy nejsou radioaktivní.**