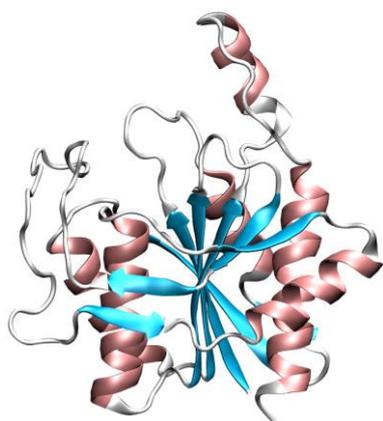


# タンパク質NMRの物理的基礎：スピン状態の量子論から2次元スペクトル測定法まで

著者	瀬川 新一, 野田 康夫
発行年	2018-09
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10236/00027165">http://hdl.handle.net/10236/00027165</a>



表紙 Pyrrolidone Carboxyl Peptidase (PCP) の  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC スペクトル  
S. Iimura et al. *Biochemistry* **46** (2007), 3664-3672.



PCP : Pyrrolidone Carboxyl Peptidase の  
立体構造、残基数 208 のタンパク質



関西学院大学工学部の 600 MHz  
NMR 分光器 (1998-2014)

# 目 次

## 序 タンパク質 NMR

i) はじめに	i
ii) タンパク質の構造とプロトンのスピン網	ii
iii) プロトン NMR の基礎用語	
(1) 化学シフト	iii
(2) 非選択的 90°パルス	iv
(3) アミノ酸残基のプロトンの標準的化学シフト	v

## 第 I 章 スピン状態の量子論

1. スピン角運動量ベクトルの古典力学的歳差運動—Bloch 方程式	1
2. Bloch 方程式の量子論的解釈	2
3. 密度行列 $\hat{\sigma}$ は系の量子状態を表す演算子	4
4. Liouville – von Neumann の式	5
5. 回転座標系への変換	7
6. ラジオ波 ( <i>rf</i> ) パルスと回転演算子	9
7. 熱平衡状態におけるスピン系の密度演算子	13
8. 孤立した 1 スピン系の 90°パルス後の自由歳差運動	14
9. スピン結合する 2 スピン系の量子力学：直積空間	16
10. スピン間の <i>J</i> -結合項を含むハミルトニアン	16
11. 2 スピン系の量子状態 $\hat{\sigma}$ を直積演算子の線形結合で表す	18
12. 2 スピン系の自由歳差運動	21
13. 1 量子コヒーレンスの時間発展 (single quantum coherence)	23
14. 多量子コヒーレンス (multi-quantum coherence)	27
15. コヒーレンス移行と多量子コヒーレンスの生成	28
16. スピンエコー法	29

17. INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer)	32
18. Refocused INEPT	34

## 第II章 2次元 NMR スペクトル

19. FID 信号の位相検波	36
20. COSY (Correlation Spectroscopy)	38
21. DQF-COSY (Double Quantum Filtered COSY)	42
22. HSQC (Hetero Nuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy)	44
23. TOCSY (Total Correlation Spectroscopy)	
(1) 等方的混合パルス (isotropic mixing pulse)	48
(2) 2 スピン系における TOCSY スペクトル	50
24. NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)	
(1) Solomon の方程式と自発緩和、交差緩和過程	52
(2) 2次元 NOESY スペクトル (2D-NOESY)	55

## 第III章 コヒーレンス選択

25. コヒーレンス次数	
(1) コヒーレンス次数の定義	58
(2) コヒーレンス次数に関する諸性質	59
26. <i>rf</i> -パルスや受信器の位相を変える	
(1) <i>rf</i> -パルスの位相を変える具体的方法	60
(2) 受信器の位相を変える具体的方法	62
(3) <i>rf</i> -パルスや受信器の位相を変えて FID データを積算する	62
(4) 「位相回し」によるコヒーレンスの選別	63
(5) 複合パルス列に対する「位相回し」	64
27. コヒーレンス選択の実例	
(1) COSY における「位相回し」	66

(2) DQF-COSY における「位相回し」	68
(3) HSQC における「位相回し」	69
(4) TOCSY および NOESY における「位相回し」	71
28. $t_1$ 時間展開期における周波数識別法	
(1) $t_1$ 時間展開期における cos あるいは sin 振幅変調信号の生成	73
(2) States 法 (States-Harborkone-Ruben 法)	74
(3) TPPI 法 (time-proportional-phase-incrementation 法)	75
29. 磁場勾配パルス (Field Gradient Pulse)	
(1) 磁場勾配パルス (FGP) によるスピનેコー	78
(2) 磁場勾配パルス (FGP) による水の信号の消去	79
(3) FGP による特定のコヒーレンス移行パス (CTP) の選択	80
(4) 異種核 NMR 実験系における FGP による CTP の選択	81
(5) FGP による CTP 選択の実例	82
第IV章 タンパク質の 2 次元 NMR スペクトルの測定例	
30. DQF-COSY スペクトル	87
31. $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ HSQC スペクトル	91
32. プロトン間の 2 次元 NOESY スペクトル	93
33. 3 次元 HSQC-NOESY-HSQC スペクトルの測定原理	98
34. ピーク帰属の実例	101
あとがき	108

## 序 タンパク質 NMR

### (i) はじめに

筆者たちは「タンパク質の折りたたみ反応」を研究してきた。NMR 分光器を用いてタンパク質の立体構造変化を研究してきたが、我々は決して NMR 分光学の専門家ではなく、入門書や参考書を頼りにタンパク質の NMR 分光学的研究を始めた者である。2次元 NMR のスペクトル変化はタンパク質の構造変化を原子レベルの分解能で追跡できる非常に強力な研究手段である。分光器には標準的な測定プログラムが付属していて、コンピュータのアプリケーションを操作するのと同じ感覚で、タンパク質の多次元 NMR スペクトルを測定することができる。しかし、NMR 分光器の使用経験があり、スペクトルの測定原理についても一通りの知識がある者でも、どのようにして多次元スペクトルが得られるのかを理解しようとするると障壁は相当高かった。分光器に付属している最も標準的な DQF-COSY や NOESY、TOCSY、HSQC などという測定法でも、スペクトルを得るためには、プロトンのスピンの運動をその位相まで含めて巧妙に仕組まれた方法で操作して測定が行われるからである。また、NMR 分光学の分野には、特有のアクロニムの略記号や馴染みのない専門用語が多く、それだけで当惑して理解することを妨げられる。NMR 関連の参考書は入門書から相当専門的な参考書まで多数出版されているが、入門書の場合、測定法のコア部分になると専門家には通じるが初心者には意味のよく分からない簡単な説明で終わることが多かった。厚くて本格的な専門書では丁寧な解説を得ることができても、もとより初心者には荷が重すぎる。そのような経験から筆者たちは、タンパク質の研究によく利用される代表的な測定法に限って、2次元スペクトルの表示という最終結果に至るまでの論理を核スピンの運動という基本原理から丁寧にたどって説明する量的にも手頃な入門書が必要だと思った。そのため、解説する対象の範囲を狭く絞って、代わりに常に基本原理に立ち返って考察することを心がけた。本書の目標は、得られた各種の NMR スペクトルを併用して、数百を超えるプロトンの共鳴線をタンパク質の特定残基の特定水素原子に帰属する「ピーク帰属」を完成することまでとした。

本書を書くに当たって、核磁気モーメントの古典力学的な歳差運動や、量子力学の

初歩的な知識を持っていることを前提とした。量子力学といっても、電子状態を扱う波動関数とは違い、核スピンの運動は、スピン角運動量の交換関係だけが必要な知識である。スピンの状態変化を記述するには、密度演算子  $\hat{\sigma}$  の時間変化を Liouville - von Neumann の方程式で追跡する。難しそうに聞こえるが、 $\hat{\sigma}(t)$  の変化はスピン角運動量演算子  $\hat{I}$  の回転運動である。回転演算子  $e^{-i\hat{I}t}$  の演算規則を理解すれば、核スピンの「ベクトル模型」と対比しながら直感的な理解が得られる。本書における理論の根幹は、密度演算子  $\hat{\sigma}$  の時間変化が、 $\hat{\sigma}(t) = e^{-i\hat{I}t} \sigma(0) e^{i\hat{I}t}$  と表せるということに尽きる。この式に従って  $\hat{\sigma}$  内の各スピン演算子の時間変化をたどっていくと、DQF-COSY も HSQC も物理的な基本原理に基づいて 2 次元スペクトルの表示に至るまで、すべて理解できる。そう信じて本書を著わした。

巨大分子であるタンパク質の NMR スペクトルをいとも簡単に測定してくれる各種の測定プログラムが存在して、それらを併用すると、数百を超えるプロトンの共鳴線を特定残基の水素原子に帰属することが可能になる。その「からくり」を知るためには、プロトンのスピンの運動を物理的に理解することが、初心者にとっては遠回りのようで結局一番近道であると考えた。

## (ii) タンパク質の構造とプロトンのスピン網

タンパク質は、20 種類のアミノ酸が連結した鎖状高分子である。ポリペプチドの主鎖に沿って NH 基や  $C_{\alpha}H$  が分布し、側鎖には、アミノ酸の種類に応じて、 $C_{\beta}H_2$ 、 $C_{\gamma}H_2$ 、あるいは側鎖末端の  $CH_3$  基、芳香環の CH、NH などが存在している。これらの水素原子のプロトン NMR スペクトルはタンパク質の構造変化に敏感で、強力な分光学的研究手段である。特にプロトンはタンパク質全体に網目のように広がっているため、NMR スペクトルの各共鳴線を特定残基の水素原子として同定することができれば、水素原子間の距離情報を基にしてタンパク質全体の立体構造を決めることも可能である。X 線結晶構造解析が水素原子を除く全原子の空間配置からタンパク質の立体構造を決定するのと似た関係にある。そのために最も重要な仕事は、プロトン NMR スペクトルのピーク帰属という作業である。129 残基からなるリゾチームというタンパク質の場合、共鳴周波数が識別されて特定残基に同定されたピークの数は約 660 である。約 6000 Hz

という狭い周波数範囲にこれだけ多数の共鳴線が密集しているので、多くの共鳴線は重なり合って分離することは不可能であった (図 a 参照)。その壁に穴を開けたのは、FT-NMR 法の開発とその 2 次元化という偉業である。それが前述の様々な測定プログラムに進化し、さらに  $^{13}\text{C}$  や  $^{15}\text{N}$  という同位体の核スピンの交えた異種核多次元 NMR 測定プログラムとなって定着し、独自の Protein-NMR という分野として確立してきた。

本書の第 I、II、III 章では、スピン状態を密度演算子  $\hat{\sigma}$  で表し、Liouville - von Neumann の式に従って、その状態変化を記述するという立場で NMR 現象を考察する。第 I 章では、スピン演算子の和で表される量子状態  $\hat{\sigma}$  がハミルトニアン  $\hat{H}$  の下でどのように時間変化するかという物理的な基本問題を考察する。特に、in-phase single quantum coherence  $\hat{I}_x$  とか、anti-phase single quantum coherence  $\hat{I}_x\hat{S}_z$  の時間変化は頻繁に扱う重要な概念なので、その物理的意味を十分把握できるまで説明する。第 II 章は、タンパク質 NMR において最もポピュラーな 2 次元 NMR スペクトル測定法について、基本原理に忠実に詳しく説明する。密度演算子  $\hat{\sigma}$  はスピン演算子  $\hat{I}_x$  や  $\hat{I}_y\hat{S}_z$  などの和で表されるが、パルス照射によってそれが時間変化するとき、様々なスピンの直積演算子の項が現れてくるので、極めて煩雑な計算が必要になる。しかし、「位相回し」によって不必要な直積演算子を巧みに消去して、非常に簡単な形で  $\hat{\sigma}$  の時間変化を追跡することができる。それが「コヒーレンス選択」という方法である。 $\hat{\sigma}$  によってスピンの量子状態を記述することが最適の方法である理由はそこにある。従って、第 III 章では「コヒーレンス選択」について詳しく解説する。最後に、第 IV 章では、タンパク質の構造解析にとって不可欠の「ピーク帰属」という問題を考察する。これは実例をもって説明するのが最も分かりやすいので、我々が実際に経験してきたタンパク質のデータ解析を具体例として紹介する。

その前に、ppm 単位で表す化学シフト、非選択的  $90^\circ$  パルス、アミノ酸残基の標準的化学シフトなど、NMR 分光法の基礎用語を簡単に説明しておく。

### (iii) プロトン NMR の基礎用語

#### (1) 化学シフト

静止磁場  $B_0$  内に存在するプロトンの Lamor 周波数の大きさは  $\omega_0 = \gamma B_0$  ( $\gamma$  は磁気

角運動量比) と表される。これを Hz 単位の周波数に直すと  $\nu_0 = \omega_0/2\pi$  である。  $B_0$  は永久磁石の磁場の大きさであるが、通常はプロトンの共鳴周波数で磁場の大きさを表すので、今は  $\nu_0 = 600 \text{ MHz}$  の磁場 ( $B_0 \approx 14 \text{ T}$ ) だとする。タンパク質中のプロトンは、水素原子が属している原子団の種類に応じて局所磁場が僅かに異なる。従って、プロトンの共鳴周波数は  $\nu_0$  とは僅かに異なる様々な値をとって分布している。適当な標準物質のメチルプロトンの Larmor 周波数を  $\nu_{ref}$  として、観測プロトンの Larmor 周波数  $\nu_{obs}$  との差を ppm という単位を用いて  $\delta$  と表記する。この値を化学シフトという。

$$\delta = \left[ (\nu_{obs} - \nu_{ref}) / \nu_{ref} \right] \times 10^6$$

タンパク質の場合は、通常  $\delta = 0 \sim 10 \text{ ppm}$  程度の値である。

## (2) 非選択的90°パルス

タンパク質のプロトン NMR スペクトルを測定するために、pulse-FT-NMR という方法を用いる。単一周波数  $\nu_0$  で振動するラジオ波を矩形状のパルス (時間幅  $\Delta t_p$ ) にして振動磁場  $B_1$  を発生させると、Larmor 周波数  $\nu_0$  で歳差運動しているプロトンは振動磁場に完全に共鳴して、パルス幅が  $\gamma B_1 \cdot \Delta t_p = \pi/2$  を満たすように  $B_1$  を決めると、核スピンは丁度90°倒れる (パルス幅は  $10 \mu\text{s}$  程度)。このとき中心周波数  $\nu_0$  から僅かに異なる Larmor 周波数のプロトンもほぼ90°倒れる。その理由を説明しよう。タンパク質中のプロトンの Larmor 周波数は  $600 \text{ MHz}$  近傍で約  $10 \text{ ppm}$  の幅をもって分布している。すなわち、中心周波数から  $\pm 3000 \text{ Hz}$  の領域に広がっている。ラジオ波の周波数が  $\nu_0$  で単一だったとしても、パルス状の波の場合、不確定性関係から  $\Delta\nu \cdot \Delta t \approx 1$  となるので、 $\Delta t = 10 \mu\text{s}$  のとき、 $\Delta\nu$  は  $10^5 \text{ Hz}$  の幅を持っている。すなわち、振動磁場をフーリエ変換してその周波数成分を求めると、 $600 \text{ MHz}$  を中心として  $\pm 10^5 \text{ Hz}$  程度は白色光と同じ平坦な強度分布を示す。従って、 $\pm 3000 \text{ Hz}$  程度の広がりであれば、どのプロトンも同程度の強度の振動磁場を感受してそれに共鳴し90°倒れることになる。それゆえ、このようなパルスを非選択的90°パルスという。  $\Delta t_p$  を短くしようと思えば、  $B_1$  を大きくしなければならないので、ラジオ波の強度は当然強くなり、このようなパルスをハードパルスとも呼ぶ。逆に、周波数分布が狭い単一周波数に近いパルスを照射しようと思えば、パルス幅が長くて強度が小さいラジオ波になり、それは選択的90°パルスとかソフトパルスと呼ばれる。

### (3) アミノ酸残基のプロトンの標準的化学シフト

図 a は軽水 ( $\text{H}_2\text{O}$ ) 中で測定されたニワトリ・リゾチームのプロトン NMR スペクトルを示している。アミノ酸残基中の様々な原子団に属するプロトンの化学シフトの値の範囲が横棒で示されている。 $\delta$  の値からどんな原子団に属する水素原子なのか大まかな判別ができて便利である。例えば、2 次元の COSY スペクトルにおいて、横軸 (F2 軸) の範囲が 7.0~9.0 ppm、縦軸 (F1 軸) の範囲が 3.5~5.5 ppm であったとすると、それはアミノ酸残基内の主鎖 NH と  $\text{C}_\alpha\text{H}$  の交差ピークであると判断できるからである。

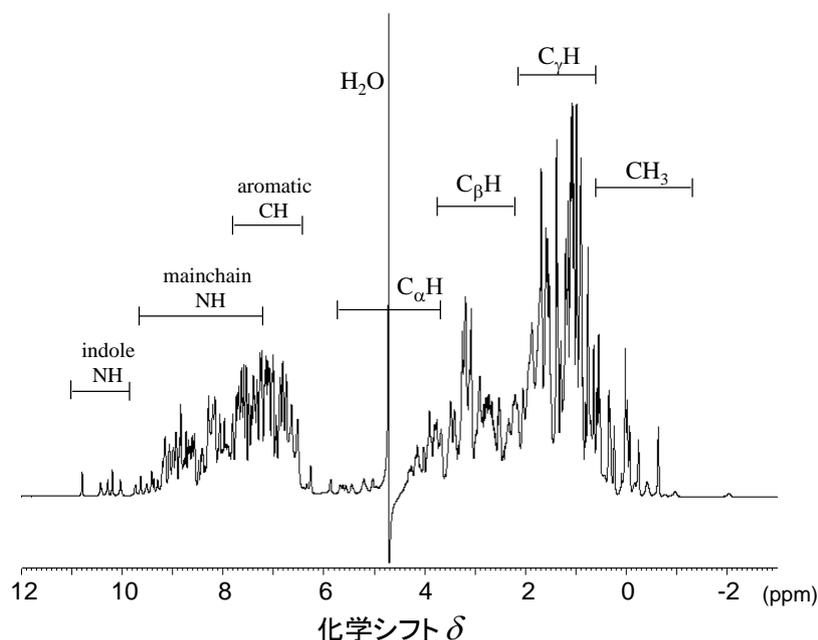


図 a タンパク質の 1 次元プロトン NMR スペクトル。600 MHz の分光器を用いて 129 残基のニワトリ・リゾチームを軽水中で測定した。横軸は ppm 単位で表示した化学シフト  $\delta$ 。周波数軸を左向きにとるのが NMR スペクトル表示の習慣。

軽水中でタンパク質のプロトン NMR スペクトルを測定すると、普通 4.8 ppm 付近に巨大な  $\text{H}_2\text{O}$  のピークが現れて  $\text{C}_\alpha\text{H}$  領域のスペクトルを観測することは不可能である。溶媒を重水に変えて実験すると、 $\text{H}_2\text{O}$  の邪魔がなくなるので  $\text{C}_\alpha\text{H}$  領域のスペクトル観測は簡単に行える。しかし、主鎖 NH (アミドプロトン) が重水素交換反応によって急速に消失するため、NH プロトンの測定は困難になる。そこで、図 a のスペクト

ルを測定するためには、**WATERGATE** という名前の水消しのための特別なパルスが採用された。この方法の詳細は 29 節で説明するが、磁場勾配パルスの照射という方法によって核スピンの位相を制御し、**H<sub>2</sub>O** のプロトンは横磁化を消失した状態にし、タンパク質のプロトンだけは横磁化の位相を揃えて **NMR** スペクトルが観測できる状態にする。その結果、図 a では 4.8 ppm 近傍の **H<sub>2</sub>O** の共鳴線がほぼ完全に消失している。

# 第 I 章 スピン状態の量子論

## 1. スピン角運動量ベクトルの古典力学的歳差運動—Bloch 方程式

核スピンの角運動量ベクトルを  $\vec{I}$  と表すと、それに伴う磁気モーメントは  $\vec{\mu} = \gamma \vec{I}$  と表される。ここで  $\gamma$  は磁気角運動量比である。静止磁場  $\vec{B}_0$  が存在する中に磁気モーメントが置かれると、トルク  $\vec{\mu} \times \vec{B}_0$  が働くので、角運動量  $\vec{I}$  の運動方程式は古典力学に従って次式で与えられる。これが核スピンの運動の Bloch 的描像である。

$$\frac{d\vec{I}}{dt} = \vec{\mu} \times \vec{B}_0 = \gamma \vec{I} \times \vec{B}_0 \quad (1.1)$$

$\vec{B}_0$  が  $z$  軸の正方向であることに注意して、 $x, y, z$  成分に分けて微分方程式を解くと、

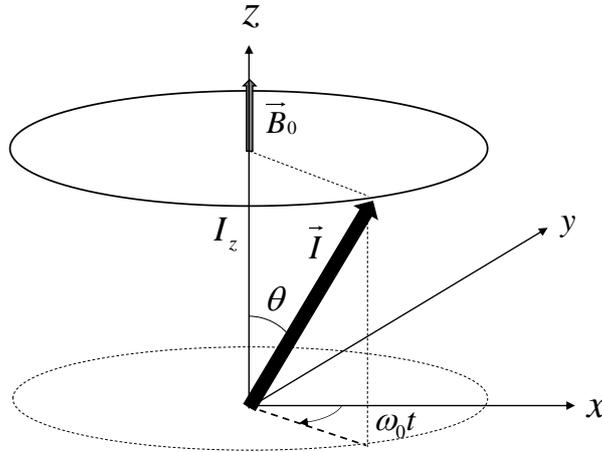


図 1 スピン角運動量ベクトルの歳差運動。  $\gamma > 0$  の場合、  $\vec{I}$  は  $z$  軸の負の向きに歳差運動する。  $\omega_0 = -\gamma B_0$  とする。

$$\frac{dI_z}{dt} = 0, \quad \frac{dI_x}{dt} = \gamma B_0 I_y, \quad \frac{dI_y}{dt} = -\gamma B_0 I_x \quad (1.2)$$

この解は自転角運動量が  $\vec{I}$  である「こま」が、重力によるトルクを受けて行う歳差運動とまったく同一である。  $\vec{I}$  の  $z$  成分は時間的に一定値をとり、  $z$  軸と  $\vec{I}$  の間の角度を  $\theta$  とすると、  $I_z = I_0 \cos \theta$  ( $I_0$  は  $\vec{I}$  の大きさ) である。また、  $-\gamma B_0 \equiv \omega_0$  と表すと、

$$I_x(t) = (I_0 \sin \theta) \cos \omega_0 t, \quad I_y(t) = (I_0 \sin \theta) \sin \omega_0 t \quad (1.3)$$

ただし、初期位相を0とする。 $\gamma > 0$ の場合、 $\vec{I}$ は $\vec{B}_0$ のまわりをz軸の負の向きに角速度 $|\omega_0|$ で、「こまの芯」のように歳差運動する。これが核スピンの歳差運動である。

## 2. Bloch 方程式の量子論的解釈

核スピンの運動を厳密に取り扱うためには、量子力学的考察を避けることはできない。量子力学の基礎に基づくと、量子状態を波動関数 $\Psi$ で表し、物理量を表す演算子 $\hat{A}$ の期待値 $\langle A \rangle$ を求めることによって、その状態における物理量の観測値を知ることができる。量子状態の時間変化は系のエネルギーを表すハミルトニアンという演算子 $\hat{H}$ を用いて次のように記述できる。

$$i \frac{\partial \Psi}{\partial t} = \hat{H} \Psi \quad (2.1)$$

左辺は本来 $i\hbar(\partial\Psi/\partial t)$ であるが、簡単化のため、今後しばしば $\hbar=1$ として記述する。

この式は time-dependent Schrödinger equation と呼ばれる。

$\hat{H}$ が時間 $t$ に依存しない場合は、 $\Psi(\mathbf{x}, t) = \psi(\mathbf{x}) \cdot \varphi(t)$ と表して上記式を解くと

$$i \frac{\partial \Psi}{\partial t} = i \frac{\partial \varphi}{\partial t} \psi(\mathbf{x}) = \varphi \hat{H} \psi, \quad \text{ただし } \mathbf{x} \text{ は空間座標を表す。}$$

両辺に左から $\psi^*$ を掛けて $\mathbf{x}$ で積分すると、

$$i \frac{\partial \varphi}{\partial t} = E \varphi \quad \text{ただし、} \quad E \equiv \int \psi^*(\mathbf{x}) \hat{H} \psi(\mathbf{x}) d\mathbf{x} \quad (2.2)$$

一般に、物理量を表す演算子 $\hat{A}$ の期待値 $\langle A \rangle$ は $\langle A \rangle = \int \psi^* \hat{A} \psi d\mathbf{x}$ によって与えられる。

したがって、 $E$ はエネルギーの期待値(観測量)である。その結果、 $\varphi(t) = e^{-iEt}$ となり、

$$\Psi(\mathbf{x}, t) = e^{-iEt} \cdot \psi(\mathbf{x}) \quad (2.3)$$

と表される。 $\hbar=1$ としているので、 $e^{-iEt}$ となっているが、正しくは $E/\hbar$ である。

$I = 1/2$ のスピンの( $\hbar=1$ として表記)の磁気モーメントの時間変化を考察しよう。時間に依存する任意の状態の波動関数を、スピン角運動量のz成分 $I_z$ が $1/2$ と $-1/2$ のエネルギー固有関数 $\psi_\alpha$ と $\psi_\beta$ (固有値 $E_\alpha$ と $E_\beta$ )の線形結合で表現すると、 $a, b$ を任意の実数係数として次のように表される。

$$\Psi(\mathbf{x}, t) = ae^{-iE_\alpha t} \cdot \psi_\alpha(\mathbf{x}) + be^{-iE_\beta t} \cdot \psi_\beta(\mathbf{x}), \quad a^2 + b^2 = 1 \quad (2.4)$$

静止磁場  $\vec{B}_0$  ( $z$  軸正方向) 内に存在する磁気モーメント  $\vec{\mu} = \gamma \vec{I}$  のハミルトニアンは  $\hat{H} = -\vec{\mu} \cdot \vec{B}_0 = -\gamma \vec{I} \cdot \vec{B}_0 = -\gamma B_0 \hat{I}_z$  である。今後は、 $I_z$  を表す演算子を  $\hat{I}_z$  と書く。従って、演算子  $\hat{H}$  のエネルギー固有値は次のようになる。

$$E_\alpha = -(1/2)\gamma B_0, \quad E_\beta = (1/2)\gamma B_0 \quad (\hbar = 1 \text{ としていることに注意}) \quad (2.5)$$

磁気モーメント  $\vec{\mu}$  の期待値を求める。積分のかわりにブラケット表記を用いると

$$\begin{aligned} \langle \mu_z \rangle &= \int \Psi^* \mu_z \Psi d\mathbf{x} \equiv \langle \Psi | \mu_z | \Psi \rangle = \gamma \langle ae^{-iE_\alpha t} \psi_\alpha + be^{-iE_\beta t} \psi_\beta | \hat{I}_z | ae^{-iE_\alpha t} \psi_\alpha + be^{-iE_\beta t} \psi_\beta \rangle \\ &= \gamma \left\{ a^2 \langle \psi_\alpha | \hat{I}_z | \psi_\alpha \rangle + ab \cdot e^{-i(E_\beta - E_\alpha)t} \langle \psi_\alpha | \hat{I}_z | \psi_\beta \rangle + ab \cdot e^{i(E_\beta - E_\alpha)t} \langle \psi_\beta | \hat{I}_z | \psi_\alpha \rangle \right. \\ &\quad \left. + b^2 \langle \psi_\beta | \hat{I}_z | \psi_\beta \rangle \right\} = (\gamma/2)(a^2 - b^2) \end{aligned} \quad (2.6)$$

上記の計算において、基底波動関数の規格・直交性を用いた。確かに、磁気モーメントの  $z$  成分は時間に依存しない定数であることが分かる。

一方、その  $x, y$  成分を求めてみよう。今後は簡単化のために、 $\langle \psi_\alpha | \hat{I}_x | \psi_\beta \rangle \equiv \langle \alpha | \hat{I}_x | \beta \rangle$  と表記する。スピン角運動量、 $\hat{I}_x, \hat{I}_y, \hat{I}_z$  の間に成り立つ不確定性関係を用いると

$$\hat{I}_x |\alpha\rangle = \frac{1}{2} |\beta\rangle, \quad \hat{I}_x |\beta\rangle = \frac{1}{2} |\alpha\rangle \quad (2.7)$$

が成り立つ (3 節末尾の補足的解説を参照)。これを用いると、

$$\begin{aligned} \langle \mu_x \rangle &= \langle \Psi | \mu_x | \Psi \rangle = \gamma \left\{ a^2 \langle \alpha | \hat{I}_x | \alpha \rangle + abe^{-i(E_\beta - E_\alpha)t} \langle \alpha | \hat{I}_x | \beta \rangle \right. \\ &\quad \left. + abe^{i(E_\beta - E_\alpha)t} \langle \beta | \hat{I}_x | \alpha \rangle + b^2 \langle \beta | \hat{I}_x | \beta \rangle \right\} = \gamma ab \cos \omega_0 t \end{aligned} \quad (2.8)$$

ただし、式(2.5)より  $E_\alpha - E_\beta = -\gamma B_0 \equiv \omega_0$  である。一方、 $y$  成分は、

$$\hat{I}_y |\alpha\rangle = \frac{i}{2} |\beta\rangle, \quad \hat{I}_y |\beta\rangle = -\frac{i}{2} |\alpha\rangle \quad (2.9)$$

が成り立っているので、これを用いると、

$$\begin{aligned} \langle \mu_y \rangle &= \langle \Psi | \mu_y | \Psi \rangle = \gamma \left\{ a^2 \langle \alpha | \hat{I}_y | \alpha \rangle + abe^{-i(E_\beta - E_\alpha)t} \langle \alpha | \hat{I}_y | \beta \rangle \right. \\ &\quad \left. + abe^{i(E_\beta - E_\alpha)t} \langle \beta | \hat{I}_y | \alpha \rangle + b^2 \langle \beta | \hat{I}_y | \beta \rangle \right\} = \gamma ab \sin \omega_0 t \end{aligned} \quad (2.10)$$

量子力学的なスピン角運動量の期待値の計算から得られた上記の解は、ベクトル  $\vec{I}$  が角速度  $\omega_0$  で  $z$  軸のまわりを歳差運動することに一致している ( $\gamma > 0$  とすれば  $\omega_0 < 0$  より  $z$  軸のまわりを負の向きに歳差運動する;  $z$  軸の正の方向から  $xy$  平面を見下ろして、 $\vec{I}$  は時計回りに回転する)。この結果は、式(1.3)に示した古典力学にしたがう Bloch 方程式の解のふるまいと全く同一である。

### 3. 密度行列 $\hat{\sigma}$ は系の量子状態を表す演算子

系の量子状態  $|\Psi\rangle$  を基底関数  $|n\rangle$  の線形結合で表すと、 $c_n$  を複素係数として  $|\Psi\rangle = \sum_n c_n |n\rangle$  のように表される。基底関数  $|n\rangle$  には時間依存性がなく、係数  $c_n$  が時間に依存すると考える。物理量を表す演算子を  $\hat{A}$  とすると、状態  $|\Psi\rangle$  において観測される物理量は  $\hat{A}$  の期待値である。 $c_m^*$  を  $c_m$  の共役複素数とすると、

$$\langle A \rangle = \langle \Psi | \hat{A} | \Psi \rangle = \sum_{m,n} c_m^* c_n \langle m | \hat{A} | n \rangle = \sum_{m,n} c_n c_m^* \cdot A_{m,n} \quad (3.1)$$

と表される。スピンを取り囲むミクロな環境（格子とも呼ぶ）は熱的に様々な状態をとるので、 $\langle A \rangle$  の熱的集団平均値  $\overline{\langle A \rangle}$  が実際に観測される物理量である。 $\overline{c_n c_m^*} = \sigma_{n,m}$  と表して、それを演算子  $\hat{\sigma}$  の  $(n,m)$  成分と定義すると、

$$\overline{\langle A \rangle} = \sum_{m,n} \overline{c_n c_m^*} \cdot A_{m,n} = \sum_n \sum_m \sigma_{n,m} A_{m,n} = \sum_n (\hat{\sigma} \hat{A})_{n,n} = \text{Tr} \{ \hat{\sigma} \hat{A} \} \quad (3.2)$$

$\hat{\sigma}$  のことを密度行列（密度演算子）と呼び、 $\overline{c_n c_m^*} = \sigma_{n,m}$  は、格子の様々な状態で係数行列を熱平均したものである。観測量  $A$  の熱平均値は  $\hat{\sigma}$  と  $\hat{A}$  の積のトレース（対角和）で表される。 $\hat{\sigma}$  が分かれば、任意の観測量の期待値が得られるので、 $\hat{\sigma}$  は波動関数形式の量子力学における状態関数  $\Psi$  に対応している。すなわち物理量  $\hat{A}$  の期待値は、

$$\begin{aligned} \langle A \rangle &= \int \Psi^* \hat{A} \Psi dx \quad (\text{波動関数形式}) \\ \langle A \rangle &= \text{Tr} \{ \hat{\sigma} \hat{A} \} \quad (\text{演算子形式}) \end{aligned} \quad (3.3)$$

と表現される。

.....

**【補足的解説】** 量子力学が古典力学と基本的に異なる点は、不確定性原理と呼ばれるものの存在である。この原理が適用される相補的な一組の物理量の典型が位置座標  $\mathbf{x}$  と運動量  $\mathbf{p}$  の関係である。この不確定性関係を数学的に定式化するものが物理量を表す演算子の交換関係である。例えば、 $\hat{x}$  と  $\hat{p}_x$  の交換関係、 $[\hat{x}, \hat{p}_x] \equiv \hat{x}\hat{p}_x - \hat{p}_x\hat{x} = i\hbar$  は、 $x$  座標と運動量の  $x$  成分  $p_x$  が同時に確定的な値を取ることができないことを表している。NMR 現象の場合には、角運動量の  $x, y, z$  成分の間に不確定性関係が存在している。それは次の交換関係によって定式化される。

$$[\hat{I}_x, \hat{I}_y] = i\hat{I}_z, \quad [\hat{I}_y, \hat{I}_z] = i\hat{I}_x, \quad [\hat{I}_z, \hat{I}_x] = i\hat{I}_y \quad (3.4)$$

最初の式を巡回置換したものが次の 2 式である。 $\hat{I}_z$  の固有値が  $1/2, -1/2$  となる固有状態を

$|\alpha\rangle, |\beta\rangle$  とし、それを基底ベクトルとして、 $\hat{I}_z$  を行列表現すると、

$$\hat{I}_z = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{pmatrix} \quad (3.5)$$

となる。 $\hat{I}^+ \equiv \hat{I}_x + i\hat{I}_y, \hat{I}^- \equiv \hat{I}_x - i\hat{I}_y$  という演算子を導入すると、 $[\hat{I}_z, \hat{I}^+] = \hat{I}^+, [\hat{I}_z, \hat{I}^-] = -\hat{I}^-$  という交換関係が成り立つ。両辺に  $|\beta\rangle$  あるいは  $|\alpha\rangle$  を作用させると、 $\hat{I}^+|\beta\rangle = |\alpha\rangle, \hat{I}^-|\alpha\rangle = |\beta\rangle$  が成り立ち、同時に  $\hat{I}^+|\alpha\rangle = 0, \hat{I}^-|\beta\rangle = 0$  も成り立つ。すなわち、 $\hat{I}^+, \hat{I}^-$  を行列表現すると次のようになる。

$$\hat{I}^+ = \begin{pmatrix} 0 & 1 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad \hat{I}^- = \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ 1 & 0 \end{pmatrix} \quad (3.6)$$

$\hat{I}_x = \frac{1}{2}(\hat{I}^+ + \hat{I}^-), \hat{I}_y = \frac{1}{2i}(\hat{I}^+ - \hat{I}^-)$  を用いると、下記のパウリ行列が得られる。

$$\hat{I}_x = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 0 & 1 \\ 1 & 0 \end{pmatrix}, \hat{I}_y = \frac{i}{2} \begin{pmatrix} 0 & -1 \\ 1 & 0 \end{pmatrix}, \hat{I}_z = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{pmatrix} \quad \text{、単位演算子 } \hat{E} = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (3.7)$$

また、以下の式も覚えておくと便利な関係式である。

$$\begin{aligned} \hat{I}_x^2 = \hat{I}_y^2 = \hat{I}_z^2 = \hat{E}/4 \\ \hat{I}_x \hat{I}_y = -\hat{I}_y \hat{I}_x, \hat{I}_x \hat{I}_y = i\hat{I}_z/2, \text{ その巡回置換をして } \hat{I}_y \hat{I}_z = i\hat{I}_x/2, \hat{I}_z \hat{I}_x = i\hat{I}_y/2 \end{aligned} \quad (3.8)$$

$\sigma_{n,m} = \langle n | \hat{\sigma} | m \rangle = \overline{c_n c_m^*}$  によって密度演算子 (行列) を定義した。 $c_n c_m^* = \langle n | \Psi \rangle \langle \Psi | m \rangle$  であることを考慮すると、 $\hat{\sigma} \equiv |\Psi\rangle\langle\Psi|$  と表すことができる。

#### 4. Liouville - von Neumann の式

状態関数  $\Psi$  の時間変化は、式(2.1)のように時間依存性のある Schrödinger 方程式にしたがって、ハミルトニアン  $\hat{H}$  によって決定される。 $i(\partial\Psi/\partial t) = \hat{H}\Psi$  に  $\Psi = \sum_n c_n(t)|n\rangle$  を代入して、係数  $c_n$  の時間微分を求めよう。ただし  $|n\rangle$  は時間に依存しない基底関数とする。

$$i \sum_n \frac{dc_n}{dt} |n\rangle = \sum_n c_n \hat{H} |n\rangle \quad (4.1)$$

左から  $\langle k |$  を作用させると

$$i \frac{dc_k}{dt} = \sum_n c_n \langle k | \hat{H} | n \rangle \quad (4.2)$$

係数  $k$  を  $m$  に変換し、両辺の共役複素数を取り、 $\hat{H}$  がエルミート演算子 (複素対称行

列) であることを考慮すると  $\langle m | \hat{H} | n \rangle^* = \langle n | \hat{H} | m \rangle$  が成り立つので、

$$-i \frac{dc_m^*}{dt} = \sum_n c_n^* \langle m | \hat{H} | n \rangle^* = \sum_n c_n^* \langle n | \hat{H} | m \rangle \quad (4.3)$$

上の2式を用いて、 $\sigma_{k,m}$  の時間微分を計算する。

$$\begin{aligned} \frac{d\sigma_{k,m}}{dt} &= \frac{d}{dt} (\overline{c_k c_m^*}) = \overline{\frac{dc_k}{dt} c_m^*} + c_k \overline{\frac{dc_m^*}{dt}} = -i \sum_n \overline{c_n c_m^*} \langle k | \hat{H} | n \rangle + i \sum_n \langle n | \hat{H} | m \rangle \overline{c_k c_n^*} \\ &= -i \left\{ \sum_n \langle k | \hat{H} | n \rangle \langle n | \hat{\sigma} | m \rangle - \sum_n \langle k | \hat{\sigma} | n \rangle \langle n | \hat{H} | m \rangle \right\} = -i \langle k | \hat{H} \hat{\sigma} - \hat{\sigma} \hat{H} | m \rangle \\ \therefore i \frac{d\hat{\sigma}}{dt} &= \hat{H} \hat{\sigma} - \hat{\sigma} \hat{H} = [\hat{H}, \hat{\sigma}] \quad (4.4) \end{aligned}$$

これが Liouville - von Neumann の式である。密度演算子  $\hat{\sigma}$  は、波動関数  $\Psi$  と同様、系の状態を表す演算子で、その時間変化は  $\hat{H}$  によって決定される。

$$i \frac{\partial \Psi}{\partial t} = \hat{H} \Psi \quad (\text{Schrödinger 方程式})$$

$$i \frac{d\hat{\sigma}}{dt} = [\hat{H}, \hat{\sigma}] \quad (\text{Liouville - von Neumann の方程式})$$

2 節では波動関数  $\Psi$  を用いてスピン角運動量の期待値を計算し、磁化ベクトル  $\vec{\mu}$  の運動が古典的なベクトル模型にしたがう  $\vec{I}$  の運動と同じであることを見た。しかし、NMR 現象を考察する場合、今後は波動関数  $\Psi$  ではなく状態を表す演算子として直接  $\hat{\sigma}$  を考察する。それは、 $\hat{\sigma}$  の時間変化がスピン  $\vec{I}$  の古典力学的運動とよく対応しているからである。これからそれを詳しく見ていくが、先に少し具体例を述べておこう。例えば、スピンの角運動量ベクトル  $\vec{I}$  が熱平衡状態で  $z$  軸方向 ( $\vec{B}_0$  方向) を向いているとき、状態演算子  $\hat{\sigma}^{eq}$  は  $\hat{I}_z$  に比例している (7 節で考察)。 $90^\circ_y$  パルスでベクトル  $\vec{I}$  が  $x$  軸方向に倒された直後の  $\hat{\sigma}$  は  $\hat{I}_x$  で表される。さらに、この横磁化  $\hat{I}_x$  が  $\hat{H}$  のもとで自由歳差運動する様子は、Liouville - von Neumann の方程式の解として、 $\hat{\sigma}(t) = e^{-i\Omega t \hat{I}_z} \hat{I}_x e^{i\Omega t \hat{I}_z}$  と表されるが、この演算子  $e^{-i\Omega t \hat{I}_z}$  は  $\hat{I}_z$  軸のまわりで  $\hat{I}_x$  を角度  $\Omega t$  だけ回転させるという意味を持っている (8 節で考察)。この回転演算子の作用の一般的規則を学ぶと、状態演算子は  $\hat{\sigma}(t) = \cos \Omega t \cdot \hat{I}_x + \sin \Omega t \cdot \hat{I}_y$  と書き表せる。 $\vec{e}_x, \vec{e}_y$  を回転座標系の  $x$  軸、 $y$  軸方向の単位ベクトルとして、 $\hat{I}_x$  および  $\hat{I}_y$  が  $\hat{I}_x = I_0 \vec{e}_x, \hat{I}_y = I_0 \vec{e}_y$  に対応すると考えると、

$$\hat{\sigma}(t) = I_0 \cos(\Omega t) \vec{e}_x + I_0 \sin(\Omega t) \vec{e}_y$$

と表せる。つまり  $\hat{\sigma}(t)$  の時間変化は、最初  $x$  軸上にあったベクトル  $\vec{I}$  が角速度  $\Omega$  で回転する古典的な歳差運動と全く同じ描像を与える。これが「 $\hat{\sigma}$  をスピンの状態を表す演算子と考えると、スピンの量子力学的状態変化を古典的なベクトル模型と対比しながら直感的に把握することが容易になる」という最大の理由である。

2 つのスピンの間にスピン-スピン結合という相互作用が存在する問題になると、ハミルトニアン  $\hat{H}$  にはスカラーカップリングという項が入ってくる。その状況でスピンの運動を考えると、古典力学に従うベクトル模型では全く対応できなくなる。例えば、スピン結合した  $\mathbf{I}$  と  $\mathbf{S}$  という 2 スピン系の場合、 $\hat{\sigma}$  が  $\hat{I}_x$  とか  $\hat{S}_y$  という単純なものではない  $2\hat{I}_x\hat{S}_z$ ,  $2\hat{I}_z\hat{S}_y$  という状態が存在する。そのような量子力学系特有のスピンの状態を理解し、ハミルトニアン  $\hat{H}$  のもとでそれがどのように変化するかを考察することが、タンパク質の NMR 分光法を理解するために不可欠なこととなる。

スピンの状態変化を考察するために密度演算子  $\hat{\sigma}$  は波動関数  $\Psi$  による状態変化より直感的な理解が得やすく優れているため、Liouville - von Neumann の式に従って  $\hat{\sigma}(t)$  の時間変化を考察することが重要になる。Liouville - von Neumann の式の解を求めてみよう。 $\hat{H}$  が time-independent の場合、その式は容易に解けて、 $\hat{\sigma}(t)$  は次のように表すことができる。

$$\hat{\sigma}(t) = e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma}(0) e^{i\hat{H}t} \quad (4.5)$$

これが Liouville - von Neumann の式の解になっていることを確かめてみよう。

【証明】 演算子  $\hat{H}$  の指数関数については 5 節末の補足的説明を参照するとよい。

$\hat{\sigma}(t) = e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma}(0) e^{i\hat{H}t}$  と仮定すると、 $d/dt(e^{i\hat{H}t}) = i\hat{H} \cdot e^{i\hat{H}t}$  となるので (補足説明参照)、

$$\begin{aligned} d\hat{\sigma}/dt &= d/dt(e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma}(0) e^{i\hat{H}t}) = -i\hat{H} \cdot e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma}(0) e^{i\hat{H}t} + e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma}(0) e^{i\hat{H}t} \cdot i\hat{H} \\ &= -i(\hat{H}\hat{\sigma} - \hat{\sigma}\hat{H}) = -i[\hat{H}, \hat{\sigma}] \end{aligned}$$

以上、 $\hat{\sigma}(t) = e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma}(0) e^{i\hat{H}t}$  は確かに Liouville - von Neumann の式(4.4)の解である。

## 5. 回転座標系への変換

$\hat{H}$  が time-dependent な場合、Liouville - von Neumann の式を解くために、 $\hat{H}$  が time-independent になるように座標変換する必要がある。NMR 測定実験の場合、ラジオ波 (rf-パルス) を照射中のハミルトニアンは time-dependent である。複素直交行列

$\hat{U}$  (ユニタリ行列) を用いて、実験室系の物理量を回転座標系における観測量に変換する。 $\hat{\sigma}$  や  $\hat{H}$  をユニタリ変換して、回転座標系における Liouville - von Neumann の式を導いてみよう。 $\hat{U}$  を用いて  $\hat{\sigma}$  をユニタリ変換し、添え字  $r$  を付けて表示すると、

$$\hat{\sigma}^r = \hat{U}\hat{\sigma}\hat{U}^{-1} = \hat{U}\hat{\sigma}\hat{U}^\dagger, \quad \text{ここで } \hat{U}^\dagger \text{ は } \hat{U} \text{ の複素転置行列} \quad (5.1)$$

ユニタリ行列とは  $\hat{U}^{-1} = \hat{U}^\dagger$  が成り立つことである。 $\hat{\sigma}^r$  を時間微分したものは、

$$\begin{aligned} \frac{d\hat{\sigma}^r}{dt} &= \hat{U} \frac{d\hat{\sigma}}{dt} \hat{U}^{-1} + \frac{d\hat{U}}{dt} \hat{U}^{-1} \hat{U} \hat{\sigma} \hat{U}^{-1} + \hat{U} \hat{\sigma} \hat{U}^{-1} \hat{U} \frac{d\hat{U}^{-1}}{dt} \\ &= i\hat{U} [\hat{\sigma}, \hat{H}] \hat{U}^{-1} + \frac{d\hat{U}}{dt} \hat{U}^{-1} \hat{\sigma}^r + \hat{\sigma}^r \hat{U} \frac{d\hat{U}^{-1}}{dt} \end{aligned} \quad (5.2)$$

$\hat{H}$  をユニタリ変換したものを  $\hat{H}^r = \hat{U}\hat{H}\hat{U}^{-1}$  と表すと、 $\hat{U} [\hat{\sigma}, \hat{H}] \hat{U}^{-1} = [\hat{\sigma}^r, \hat{H}^r]$  となり、さらに、 $(d\hat{U}/dt)\hat{U}^{-1} = -\hat{U}(d\hat{U}^{-1}/dt)$  を用いると、

$$\frac{d\hat{\sigma}^r}{dt} = i[\hat{\sigma}^r, \hat{H}^r] + \hat{\sigma}^r \hat{U} \frac{d\hat{U}^{-1}}{dt} - \hat{U} \frac{d\hat{U}^{-1}}{dt} \hat{\sigma}^r = i \left[ \hat{\sigma}^r, \hat{H}^r - i\hat{U} \frac{d\hat{U}^{-1}}{dt} \right] \quad (5.3)$$

となる。ここで、 $\hat{H}_e \equiv \hat{H}^r - i\hat{U}(d\hat{U}^{-1}/dt)$  と定義すると、次式が成り立つ。

$$i \frac{d\hat{\sigma}^r}{dt} = [\hat{H}_e, \hat{\sigma}^r] \quad (5.4)$$

$\hat{H}_e$  を有効ハミルトニアンと呼び、これが回転座標系における Liouville - von Neumann の式である。回転系へ変換後、 $\hat{H}_e$  はユニタリ変換したハミルトニアン  $\hat{H}^r$  の他に  $-i\hat{U}(d\hat{U}^{-1}/dt)$  という項を含んでいる。この項が、回転座標系に変換したとき運動方程式に新たに加わる慣性力に対応している。

【補足説明】 指数関数： $e^{i\theta\hat{A}}$  は指数関数をテイラー展開したもので定義する。すなわち、

$$e^{i\theta\hat{A}} \equiv \hat{E} + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n!} (i\theta\hat{A})^n \equiv \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{n!} (i\theta)^n \hat{A}^n \quad (5.5)$$

ただし、 $\hat{E}$  を単位演算子とし、 $0! = 1$ ,  $\hat{A}^0 = \hat{E}$ ,  $\hat{A}^2 = \hat{A} \cdot \hat{A}$  という関係式を適用する。

式(5.5)の定義を用いると、これからよく使う以下の関係式が成り立つ。

(i)  $d/d\theta(e^{i\theta\hat{A}}) = i\hat{A}e^{i\theta\hat{A}}$  ; 式(5.5)の右辺の微分を実行すれば証明は容易。

(ii) 演算子  $\hat{A}$  と  $\hat{B}$  が交換可能ならば、 $e^{i(\hat{A}+\hat{B})} = e^{i\hat{A}} \cdot e^{i\hat{B}}$

## 6. ラジオ波 ( rf ) パルスと回転演算子

静止磁場  $\vec{B}_0$  ( Z 軸 ) の他に、XY 平面上で角振動数  $|\omega_{rf}|$  の rf-パルスが照射されているとき、そのハミルトニアンを考察する。今後は、実験室系の座標軸を XYZ とし、回転系の座標軸を xyz と標記することにする。  $\vec{e}_x$  を X 軸方向の単位ベクトルとして、X 軸上を直線的に周波数  $|\omega_{rf}|$  で振動している直線偏光磁場を  $B_X(t) \cdot \vec{e}_x$  とする。振幅を

$$B_X(t) = B_X^0 \cos(|\omega_{rf}|t - \phi) = (B_X^0/2) \left[ e^{i(|\omega_{rf}|t - \phi)} + e^{i(-|\omega_{rf}|t + \phi)} \right] \quad (6.1)$$

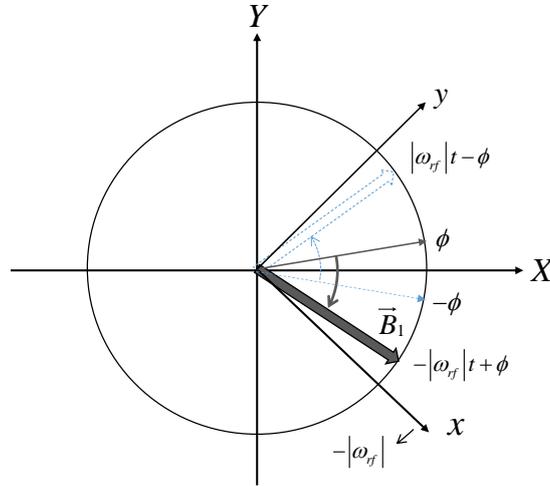


図 2 直線偏光磁場は 2 つの円偏光磁場の重ね合わせ。複素振幅の直線偏光磁場： $e^{i\omega t} \cdot \vec{e}_x = \cos \omega t \cdot \vec{e}_x + \sin \omega t \cdot i\vec{e}_x$  は、 $i\vec{e}_x = \vec{e}_y$  と考えると、 $e^{i\omega t} \cdot \vec{e}_x = \cos \omega t \cdot \vec{e}_x + \sin \omega t \cdot \vec{e}_y$  となるので、円偏光磁場と考えることが出来る。つまり左回り円偏光磁場と右回り円偏光磁場を重ね合わせたものが式(6.1)の直線偏光磁場になる。青色のベクトルは反時計回りの円偏光磁場を表す。濃い灰色のベクトルが回転座標系の xy 平面と一緒に時計回りに回転する円偏光磁場である。

と表現すると、第 1 項は X 軸から角度  $-\phi$  の初期位置から反時計回りに  $|\omega_{rf}|t$  回転する円偏光磁場を表し、第 2 項は X 軸から角度  $\phi$  の初期位置から時計回りに  $-|\omega_{rf}|t$  回転する円偏光磁場を表す (図 2 の脚注参照)。  $\gamma > 0$  の場合 (プロトンの  $\gamma_H$  は正)、Lamor 周波数は  $\omega_0 < 0$  となるので、時計回りに回転する回転座標系が選ばれる。回転座標系で静止磁場となる円偏光磁場だけが磁気共鳴を起こすので、式(6.1)の第 1 項は無視して

よい。第2項の磁場を $\vec{B}_1(t)$ と標記すると、複素振幅の直線偏光磁場が円偏光磁場に対応することに注意して、 $B_x^0/2 = B_1$ とし、 $-\left|\omega_{rf}\right| = \omega_{rf} (<0)$ と表すと、

$$\vec{B}_1(t) = B_1 \cos(\omega_{rf}t + \phi) \cdot \vec{e}_x + B_1 \sin(\omega_{rf}t + \phi) \cdot \vec{e}_y \quad (6.2)$$

となる。 $\vec{e}_x, \vec{e}_y$ は実験室系の単位ベクトルである。 $Z$ 軸のまわりを角速度 $\omega_{rf} (<0)$ で回転する回転座標系 $xyz$ を選び、 $t=0$ のとき $x$ 軸が $X$ 軸と一致していたとすると、円偏光磁場 $\vec{B}_1(t)$ は $xy$ 平面上で $x$ 軸から角度 $\phi$ の方向に静止している。従って、回転座標系で $rf$ -磁場を観測すると、 $\phi=0$ の場合は $x$ 軸上に静止した磁場となり、 $\phi=\pi/2$ のときは $y$ 軸上に静止した磁場となる。 $\vec{B}_1(t)$ の影響を考慮して、 $rf$ -パルスを照射中のハミルトニアンは次のように表される。

$$\hat{H} = -\vec{\mu} \cdot (\vec{B}_0 + \vec{B}_1) = -\gamma B_0 \hat{I}_z - \gamma B_1 \left[ \cos(\omega_{rf}t + \phi) \hat{I}_x + \sin(\omega_{rf}t + \phi) \hat{I}_y \right] \quad (6.3)$$

ただし、 $\hbar=1$ として省略されている。このハミルトニアンは確かに time-dependent である。回転座標系から観測して time-independent にしてみよう。回転座標系に変換するために、ユニタリ行列を $\hat{U} = e^{i\omega_{rf}t \hat{I}_z}$ と選んで計算する。

$$\begin{aligned} \hat{H}^r &= \hat{U} \hat{H} \hat{U}^{-1} = \omega_0 e^{i\omega_{rf}t \hat{I}_z} \hat{I}_z e^{-i\omega_{rf}t \hat{I}_z} \\ &\quad + \omega_1 \left[ \cos(\omega_{rf}t + \phi) e^{i\omega_{rf}t \hat{I}_z} \hat{I}_x e^{-i\omega_{rf}t \hat{I}_z} + \sin(\omega_{rf}t + \phi) e^{i\omega_{rf}t \hat{I}_z} \hat{I}_y e^{-i\omega_{rf}t \hat{I}_z} \right] \end{aligned} \quad (6.4)$$

ただし、 $\omega_0 \equiv -\gamma B_0$ ,  $\omega_1 \equiv -\gamma B_1$ である。式(6.12)で一般的に証明する次の関係式

$$\begin{aligned} e^{-i\theta \hat{I}_z} \hat{I}_x e^{i\theta \hat{I}_z} &= \hat{I}_x \cos \theta + \hat{I}_y \sin \theta \\ e^{-i\theta \hat{I}_z} \hat{I}_y e^{i\theta \hat{I}_z} &= \hat{I}_y \cos \theta - \hat{I}_x \sin \theta \end{aligned} \quad (6.5)$$

を用いて式(6.4)を変形すると、

$$\begin{aligned} \hat{H}^r &= \omega_0 \hat{I}_z + \omega_1 \hat{I}_x \left\{ \cos(\omega_{rf}t + \phi) \cos(\omega_{rf}t) + \sin(\omega_{rf}t + \phi) \sin(\omega_{rf}t) \right\} \\ &\quad + \omega_1 \hat{I}_y \left\{ \sin(\omega_{rf}t + \phi) \cos(\omega_{rf}t) - \cos(\omega_{rf}t + \phi) \sin(\omega_{rf}t) \right\} \\ &= \omega_0 \hat{I}_z + \omega_1 \hat{I}_x \cos \phi + \omega_1 \hat{I}_y \sin \phi \end{aligned} \quad (6.6)$$

一方、コレオリ力の寄与による項は

$$-i\hat{U} \frac{d\hat{U}^{-1}}{dt} = -ie^{i\omega_{rf}t \hat{I}_z} \frac{d}{dt} \left( e^{-i\omega_{rf}t \hat{I}_z} \right) = -\omega_{rf} \hat{I}_z \quad (6.7)$$

したがって、回転座標系における有効ハミルトニアンは time-independent になり、次のように表される。

$$\hat{H}_e = (\omega_0 - \omega_{rf}) \hat{I}_z + \omega_1 (\hat{I}_x \cos \phi + \hat{I}_y \sin \phi) \quad (6.8)$$

$\hat{H}_e$ は $Z$ 軸のまわりを角速度 $\omega_{rf} (<0)$ で回転している回転座標系で $\vec{I}$ の歳差運動を考察したことに対応している。従って、 $z$ 軸まわりの歳差運動の回転角速度は相対的に

$\omega_0 - \omega_{rf} = \Omega$ と表される。また、 $rf$ -パルスは確かに  $x$  軸から角度  $\phi$  の位置に静止した大きさ  $B_1$  の磁場に対応している。直線偏光磁場  $B_x(t)$  の初期位相が  $\phi = 0$  の場合、磁場  $B_1$  は回転座標系の  $x$  軸上に静止しているので、 $rf$ -パルスを  $x$  軸から照射したという。 $\phi = \pi/2$  のときは  $y$  軸からパルスを照射したことになる。

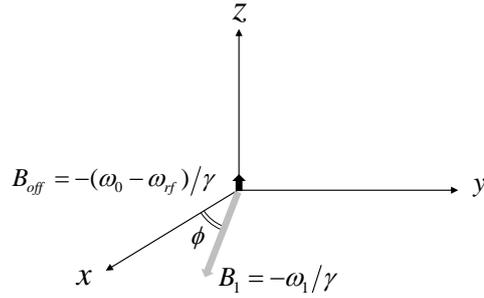


図 3 回転座標系で観測される磁場。コレオリ力に相当する磁場  $\omega_{rf}/\gamma$  が静止磁場  $\vec{B}_0$  を打ち消すように発生している。 $B_{off} = -(\omega_0 - \omega_{rf})/\gamma = -\Omega/\gamma$  を磁場の off-resonance 項と呼ぶ。

タンパク質中の個々のスピンの感じる局所磁場は静止磁場  $\vec{B}_0$  から少しずつ違っているため、様々な Lamor 周波数をもつスピンの共存している。照射するラジオ波の周波数  $|\omega_{rf}|$  と同じ大きさの共鳴周波数をもつスピンを on-resonance、異なる周波数のスピンを off-resonance と呼び、 $\Omega$  はオフセット周波数という。タンパク質内のプロトンは様々な化学分子中の水素原子の核スピンであるため、結合原子の化学種に応じて局所磁場が異なる。 $\Omega \hat{I}_z$  は回転座標系で残留している off-resonance 磁場 (図 3 参照) によって核スピンが受ける歳差運動の項であるため化学シフト項と呼ばれる。

時刻  $t=0$  のとき  $\hat{\sigma}^r(0)$  であった密度演算子は、time-independent に変換された  $\hat{H}_e$  のもとで時間発展して、時刻  $t$  のとき、 $\hat{\sigma}^r(t) = e^{-i\hat{H}_e t} \hat{\sigma}^r(0) e^{i\hat{H}_e t}$  となる。今後は、常に回転座標系でスピンの運動を考察するので、必要でない限り添字の  $e$  や  $r$  などを省いて表記する。ハミルトニアン  $\hat{H}$  で、 $\hat{\sigma}$  を  $t$  だけ時間展開することを今後次のように表示する。

$$\hat{\sigma}(0) \xrightarrow{\hat{H}t} \hat{\sigma}(t) \quad (6.9)$$

$rf$ -パルスを on-resonance スピンに  $x$  軸から照射する場合、ハミルトニアンは  $\hat{H} = \omega_1 \hat{I}_x$  と表されるので、密度演算子の時間発展は次のようになる。

$$\hat{\sigma}(0) \xrightarrow{\omega_1 t \cdot \hat{I}_x} \hat{\sigma}(t); \quad \hat{\sigma}(t) = e^{-i\omega_1 t \hat{I}_x} \hat{\sigma}(0) e^{i\omega_1 t \hat{I}_x} \quad (6.10)$$

この  $rf$ -パルスを  $\tau$  時間照射すると、 $\omega_1\tau = \theta$  として、 $\hat{\sigma}(0)$  を  $\hat{I}_x$  軸のまわりに角度  $\theta$  だけ回転させたことに対応するので、演算子  $e^{-i\theta\hat{I}_x}$  を  $\hat{I}_x$  軸まわりの回転演算子という。 $\theta = \pi/2$  のとき  $90^\circ_x$  パルスという。演算子  $e^{-i(\pi/2)\hat{I}_x}$  の演算規則を考察した後、8 節で  $90^\circ_x$  パルスによって  $\hat{I}_z$  が回転して  $-\hat{I}_y$  になることを確かめる。

ハミルトニアンを **time-independent** にするために作用させたユニタリー演算子が  $\hat{U} = e^{i\omega_f t \hat{I}_z}$  のとき、回転系で観測した物理量を  $\hat{A}' = \hat{U}\hat{A}\hat{U}^{-1}$  と表現するのは、物理量  $\hat{A}$  を  $\hat{I}_z$  軸のまわりに角速度  $-\omega_f$  で回転させることに対応している。すなわち、回転座標系が実験室系の  $Z$  軸のまわりに角速度  $\omega_f$  で回転しているので、物理量  $\hat{A}$  はそれとは逆方向に回転したことに対応している。

回転演算子に関連して、便利な次の関係式が成り立つ。演算子  $\hat{A}, \hat{B}, \hat{C}$  があって、次の交換関係： $[\hat{C}, \hat{A}] = i\hat{B}$  および  $[\hat{B}, \hat{C}] = i\hat{A}$  が成り立っているとす。このとき、 $\hat{A}$  を  $\hat{C}$  のまわりで角度  $\theta$  だけ回転させると、

$$e^{-i\theta\hat{C}}\hat{A}e^{i\theta\hat{C}} = \hat{A}\cos\theta + \hat{B}\sin\theta \quad (6.11)$$

となる。この関係式を導いてみよう。

[証明]

$$\begin{aligned} f(\theta) &= e^{-i\theta\hat{C}}\hat{A}e^{i\theta\hat{C}} \text{ とおく。} \quad [\hat{C}, \hat{A}] = i\hat{B}, \quad [\hat{B}, \hat{C}] = i\hat{A} \text{ を用いて、} \\ f'(\theta) &= d/d\theta \left( e^{-i\theta\hat{C}}\hat{A}e^{i\theta\hat{C}} \right) = e^{-i\theta\hat{C}} i \left( -\hat{C}\hat{A} + \hat{A}\hat{C} \right) e^{i\theta\hat{C}} = e^{-i\theta\hat{C}} \hat{B} e^{i\theta\hat{C}} \\ f''(\theta) &= d/d\theta \left( e^{-i\theta\hat{C}} \hat{B} e^{i\theta\hat{C}} \right) = e^{-i\theta\hat{C}} i \left( -\hat{C}\hat{B} + \hat{B}\hat{C} \right) e^{i\theta\hat{C}} = -e^{-i\theta\hat{C}} \hat{A} e^{i\theta\hat{C}} = -f(\theta) \\ f''(\theta) &= -f(\theta) \text{ より、} \quad f(\theta) = \hat{a}\cos\theta + \hat{b}\sin\theta \text{ とおける。} \\ f(0) &= \hat{a} = \hat{A} \text{ および } f'(0) = \hat{b} = \hat{B} \text{ より、} \quad f(\theta) = \hat{A}\cos\theta + \hat{B}\sin\theta \end{aligned}$$

関係式(6.11)を図で表現してみよう。 $\hat{A}$  を  $\hat{C}$  のまわりで  $\theta$  回転させるとする。座標軸  $\hat{C}$  と  $\hat{A}$  を図4のように選び、第3の軸を交換関係  $[\hat{C}, \hat{A}]$  によって定まる第3の演算子に選ぶ。上記の場合、交換関係の結果が  $i\hat{B}$  だから、 $i$  を除いた  $\hat{B}$  を第3の軸とする。長さ1のベクトルを角度  $\theta$  だけ回転させ、その  $\hat{A}$  軸成分  $\cos\theta$  と  $\hat{B}$  軸成分  $\sin\theta$  の和が回転後の演算子  $e^{-i\theta\hat{C}}\hat{A}e^{i\theta\hat{C}}$  を表す。すなわち、 $e^{-i\theta\hat{C}}\hat{A}e^{i\theta\hat{C}} = \cos\theta \cdot \hat{A} + \sin\theta \cdot \hat{B}$  となる。

上で述べた交換関係を満足する演算子であれば、このルールは一般的に成り立つ。今後、いろいろの回転演算子に対して、この図を用いて便利な関係式を導くので、操作を覚えておくとよい。

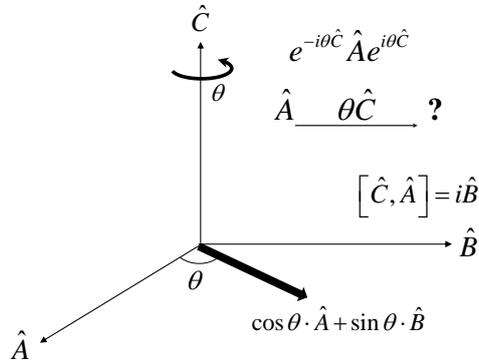


図4 演算子  $\hat{A}$  を軸  $\hat{C}$  のまわりで  $\theta$  だけ回転させる

このルールをスピン角運動量演算子に適用してみよう。すなわち、 $\hat{I}_x$  あるいは  $\hat{I}_y$  を  $\hat{I}_z$  軸のまわりで角度  $\theta$  だけ回転させたとする。その操作を図5に表現すると、回転演算の結果を図として容易に理解でき、今後よく使う以下の有用な関係式が得られる。

$$\begin{aligned} e^{-i\theta\hat{I}_z}\hat{I}_xe^{i\theta\hat{I}_z} &= \cos\theta\cdot\hat{I}_x + \sin\theta\cdot\hat{I}_y \\ e^{-i\theta\hat{I}_z}\hat{I}_ye^{i\theta\hat{I}_z} &= \cos\theta\cdot\hat{I}_y - \sin\theta\cdot\hat{I}_x \end{aligned} \quad (6.12)$$

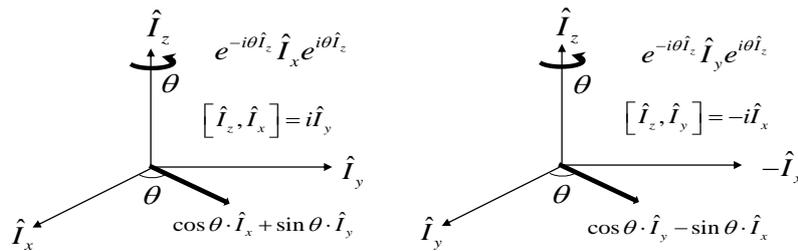


図5  $\hat{I}_x$  あるいは  $\hat{I}_y$  を  $\hat{I}_z$  軸のまわりで  $\theta$  回転させる

## 7. 熱平衡状態におけるスピン系の密度演算子

温度  $T$  の熱平衡状態における密度演算子を考察する。スピン系の熱平衡状態  $|\Psi\rangle_{eq}$  を、定常状態  $|n\rangle$  を基底に選んで表すと、 $|\Psi\rangle_{eq} = \sum_n c_n |n\rangle$  となる。スピン系を囲むミク

口な環境（格子）は温度  $T$  の熱平衡状態にあるので、様々な格子の状態での熱平均をとると、密度演算子の対角成分  $\sigma_{n,n}$  は次のようになる。

$$\sigma_{n,n} = \overline{|c_n|^2} \quad ; \text{ スピン系が状態 } |n\rangle \text{ となる確率密度} \quad (7.1)$$

これは温度  $T$  におけるボルツマン因子  $\sigma_{n,n} = e^{-E_n/k_B T}$  に対応する。

一方、非対角成分  $\sigma_{n,m}$  は、

$$\sigma_{n,m} = \overline{c_n c_m^*} = \overline{|c_n| |c_m| e^{i(\theta_n - \theta_m)}}$$

$c_n$  は一般に複素数で、格子が様々な状態をとるとき、位相のコヒーレンスがなければ（例えば横磁化の位相が揃わない）、 $e^{i(\theta_n - \theta_m)}$  の熱平均をとるとゼロになる。したがって、

$$\hat{\sigma}^{eq} = e^{-\hat{H}/k_B T} / \text{Tr} \left\{ e^{-\hat{H}/k_B T} \right\} \quad (7.2)$$

と表すことができる。NMR 現象の場合、高温近似（ $\hat{H}/k_B T \ll \hat{E}$ ）が成り立つので、ボルツマン因子を考慮するときスピン間のスカラーカップリング項を無視してもよい。従って、 $\hat{H}$  は実験室系の Zeeman 項だけを考慮するので、基底ベクトル  $|n\rangle$  は 2 次元の基底ベクトルを考えればよい。その結果、次の式が成り立つ。

$$\sigma_{m,n}^{eq} = \delta_{mn} e^{-E_n/k_B T} / \sum_{j=1}^2 e^{-E_j/k_B T} = \langle m | e^{-\hat{H}/k_B T} | n \rangle / \sum_{j=1}^2 \langle j | e^{-\hat{H}/k_B T} | j \rangle \quad (7.3)$$

$\hat{H}/k_B T \ll \hat{E}$ （ $\hat{E}$  は単位演算子）を用いて Taylor 展開すると、熱平衡状態の密度演算子  $\hat{\sigma}^{eq}$  は以下のようなになる。

$$\hat{\sigma}^{eq} = (\hat{E} - \hat{H}/k_B T) / \text{Tr} \left\{ \hat{E} - \hat{H}/k_B T \right\} \approx (\hat{E} - \hat{H}/k_B T) / \text{Tr} \left\{ \hat{E} \right\} = \hat{E}/2 - \hat{H}/2k_B T$$

$\hat{\sigma}^{eq}$  における  $\hat{E}/2$  という項は、磁化ベクトルの期待値に何ら影響を及ぼさないし、状態変化を表す  $e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma} e^{i\hat{H}t}$  という操作を施しても、同じ定数項として残るだけで、 $\hat{\sigma}$  の変化量を考えるとき定数項は消える。つまり、オブザーバブルの定数項として残るだけで、定数項を除いても観測結果に何の影響も与えないので、 $\hat{\sigma}^{eq}$  は次のように表せる。

$$\hat{\sigma}^{eq} = -\hat{H}/2k_B T = -\sum_{n=1}^N \hbar \omega_{0,n} \hat{I}_{z,n} / 2k_B T \quad (7.4)$$

ここで、 $N$  はスピンの個数、 $\omega_{0,n}$  は  $n$  番目のスピンの Lamor 周波数である。

## 8. 孤立した 1 スピン系の 90°パルス後の自由歳差運動

熱平衡状態にあるスピン 1 個の系に  $x$  軸から 90°パルス照射して、その後、時間  $t$  だけ自由歳差運動させた。それを以下の図のように表すことにする。

$$\hat{\sigma}^{eq} \begin{array}{|c} 90^\circ_x \\ \hline \hat{\sigma}(0) \end{array} \quad t$$

熱平衡時の密度演算子は

$$\hat{\sigma}^{eq} = -(\hbar\omega_0/2k_B T)\hat{I}_z = K_I\hat{I}_z \quad (8.1)$$

比例係数  $K_I$  は必要なとき考慮することとし、当面 1 としておく。これに  $90^\circ_x$  パルスを照射した直後の密度演算子を  $\hat{\sigma}(0)$  とする。式(6.10)において  $\omega_1\tau = \theta = \pi/2$  とおくと、

$$\hat{\sigma}^{eq} \xrightarrow{(\pi/2)\hat{I}_x} \hat{\sigma}(0) \quad \therefore \hat{\sigma}(0) = e^{-i\frac{\pi}{2}\hat{I}_x} \hat{\sigma}^{eq} e^{i\frac{\pi}{2}\hat{I}_x} = e^{-i\frac{\pi}{2}\hat{I}_x} \hat{I}_z e^{i\frac{\pi}{2}\hat{I}_x} = -\hat{I}_y \quad (8.2)$$

式(8.2)において、 $\hat{I}_z$  に回転演算子  $e^{-i(\pi/2)\hat{I}_x}$  を作用させた結果を得るために、式(6.11)を用いて、 $e^{-i(\pi/2)\hat{I}_x} \hat{I}_z e^{i(\pi/2)\hat{I}_x} = \cos(\pi/2) \cdot \hat{I}_z - \sin(\pi/2) \cdot \hat{I}_y = -\hat{I}_y$  という計算を行った。

つぎに  $\hat{\sigma}(0)$  を  $\hat{H}$  のもとで  $t$  だけ時間展開して、スピンの歳差運動の状態を求める。

$$\hat{H} = (\omega_0 - \omega_f)\hat{I}_z = \Omega\hat{I}_z, \quad \hat{\sigma}(0) \xrightarrow{\hat{H}t} \hat{\sigma}(t) \quad (8.3)$$

$$\therefore \hat{\sigma}(t) = e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma}(0) e^{i\hat{H}t} = e^{-i\Omega t \hat{I}_z} (-\hat{I}_y) e^{i\Omega t \hat{I}_z} = \hat{I}_x \sin \Omega t - \hat{I}_y \cos \Omega t \quad (8.4)$$

式(8.4)は、前述の  $\hat{I}_x = I_0 \vec{e}_x$ ,  $\hat{I}_y = I_0 \vec{e}_y$  という対応関係を用いると、 $\hat{\sigma}(t)$  が  $\vec{I}(t)$  を表しているとして、 $\vec{I}(t) = I_0 \sin \Omega t \cdot \vec{e}_x - I_0 \cos \Omega t \cdot \vec{e}_y$  と見なすことができる。つまり  $\hat{\sigma}(t)$  の時間変化は、 $-y$  軸から角速度  $\Omega$  で回転するベクトル  $\vec{I}$  の古典力学的な運動の描像とぴったり一致していることが分かる。

通常、NMR 実験においては、後で述べるように直交位相検波 (quadrature detection) という方法によって、複素数化された磁化ベクトル  $M^+ = M_x + iM_y = \gamma\hbar(I_x + iI_y)$  が観測される。従って、NMR 信号は歳差運動を表す  $\hat{\sigma}(t)$  とスピン演算子  $\hat{I}_x$  と  $\hat{I}_y$  を用いて

$$\begin{aligned} \langle M^+(t) \rangle &= \text{Tr} \{ \hat{\sigma}(t) \hat{M}^+ \} = \gamma\hbar \text{Tr} \left\{ \left( \hat{I}_x \sin \Omega t - \hat{I}_y \cos \Omega t \right) \cdot \left( \hat{I}_x + i\hat{I}_y \right) \right\} \\ &= \gamma\hbar \text{Tr} \left\{ \hat{I}_x^2 \sin \Omega t - i\hat{I}_y^2 \cos \Omega t + i\hat{I}_x \hat{I}_y \sin \Omega t - \hat{I}_y \hat{I}_x \cos \Omega t \right\} \\ &= (\gamma\hbar/2) (\sin \Omega t - i \cos \Omega t) = (\gamma\hbar/2) \left( e^{i(\Omega t - \pi/2)} \right) \end{aligned} \quad (8.5)$$

この式は、 $\hat{\sigma}(t)$  を用いて量子力学的に厳密に解いても、オブザーバブル (観測量) である複素磁化ベクトル  $\langle M^+(t) \rangle$  が回転座標系の  $-y$  軸上の位置から  $z$  軸のまわりを角速度  $\Omega$  で回転していることを示している。

## 9. スピン結合する 2 スピン系の量子力学：直積空間

孤立した 1 スピン系の場合は Bloch 的な古典力学的描像でスピンの歳差運動を考慮することができたが、スピン結合項を含むハミルトニアンにしたがう 2 スピン系の場合には、どうしても量子力学的記述が必要である。例えば、アミノ酸残基内の NH-C $\alpha$ H という 2 つの水素原子内のプロトンは、その 2 スピン系の例である。2 スピン系の量子状態を考えるためには、演算子の直積空間という概念が必要になる。

I スピンと S スピンの直積空間を考える。I スピン空間の演算子  $\hat{A}$ 、その基底ベクトル  $|i\rangle$ 、S スピン空間の演算子  $\hat{B}$  と基底ベクトル  $|j\rangle$  がある。その直積演算子  $\hat{A}\hat{B} \equiv \hat{A} \otimes \hat{B}$  を基底ベクトルの直積空間  $|ij\rangle \equiv |i\rangle \otimes |j\rangle$  に作用させるということは、

$$\hat{A}\hat{B}|ij\rangle = \hat{A}|i\rangle \otimes \hat{B}|j\rangle \quad (9.1)$$

と定義される。例えば、

$$\hat{I}_z \hat{S}_z |\alpha\beta\rangle = \hat{I}_z |\alpha\rangle \otimes \hat{S}_z |\beta\rangle = \frac{1}{2} |\alpha\rangle \otimes \left(-\frac{1}{2}\right) |\beta\rangle = -\frac{1}{4} |\alpha\beta\rangle \quad (9.2)$$

演算子を行列で表現すると、

$$\hat{I}_z \otimes \hat{S}_z = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{pmatrix} \otimes \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -1 \end{pmatrix} = \frac{1}{4} \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (9.3)$$

一般に行列の直積は次のように定義される。

$$\begin{aligned} \hat{A} \otimes \hat{B} &\equiv \begin{pmatrix} A_{11} & A_{12} \\ A_{21} & A_{22} \end{pmatrix} \otimes \begin{pmatrix} B_{11} & B_{12} \\ B_{21} & B_{22} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A_{11}B & A_{12}B \\ A_{21}B & A_{22}B \end{pmatrix} \\ &= \begin{pmatrix} A_{11}B_{11} & A_{11}B_{12} & A_{12}B_{11} & A_{12}B_{12} \\ A_{11}B_{21} & A_{11}B_{22} & A_{12}B_{21} & A_{12}B_{22} \\ A_{21}B_{11} & A_{21}B_{12} & A_{22}B_{11} & A_{22}B_{12} \\ A_{21}B_{21} & A_{21}B_{22} & A_{22}B_{21} & A_{22}B_{22} \end{pmatrix} \end{aligned} \quad (9.4)$$

2 スピン系の場合、 $\hat{I}_x$  という演算子は  $\hat{I}_x \otimes \hat{E}$  を意味する。

## 10. スピン間の J-結合項を含むハミルトニアン

2 つのスピンの間に、結合性電子を介在した相互作用 (J-結合) がある場合、ハミルトニアンは下記のように表される。第 1 項の  $\omega$  は実験室系における Lamor 周波数で、

Zeeman 項という。第 2 項は  $J$ -結合あるいはスカラーカップリングと呼ばれる。

$$\hat{H} = \sum_i \omega_i \hat{I}_{i,z} + 2\pi \sum_{i \neq j} J_{ij} \hat{I}_i \cdot \hat{I}_j \quad (10.1)$$

$2\pi J_{ij} \ll |\omega_i - \omega_j|$  が成り立つ場合は、下の補足のところで示すように、 $\hat{I}_{i,z} \hat{I}_{j,z}$  に比べ  $\hat{I}_{i,x} \hat{I}_{j,x}, \hat{I}_{i,y} \hat{I}_{j,y}$  という項の寄与が小さいので  $J$ -結合の項は  $2\pi J_{ij} \hat{I}_{i,z} \hat{I}_{j,z}$  と表され、弱い  $J$ -結合と呼ばれる。

いま  $J$ -結合した 2 つのスピンを  $I$  と  $S$  と表し、弱い  $J$ -結合をしているとする。ハミルトニアン固有状態は固有ベクトル  $|\alpha\rangle, |\beta\rangle$  の直積、 $|\alpha\alpha\rangle, |\alpha\beta\rangle, |\beta\alpha\rangle, |\beta\beta\rangle$  で表される。各状態のエネルギー固有値は次式で与えられる。

$$\hat{H}|\alpha\alpha\rangle = (\omega_I \hat{I}_z + \omega_S \hat{S}_z + 2\pi J_{IS} \hat{I}_z \hat{S}_z)|\alpha\alpha\rangle = (\omega_I/2 + \omega_S/2 + \pi J_{IS}/2)|\alpha\alpha\rangle = E_1|\alpha\alpha\rangle$$

従って、 $|\alpha\alpha\rangle$  状態のときエネルギー固有値は、

$$E_1 = \omega_I/2 + \omega_S/2 + \pi J_{IS}/2 \quad (10.2)$$

その他の状態のエネルギー固有値は次のようになる。

$$\begin{aligned} |\alpha\beta\rangle \text{ 状態のとき } E_2 &= \omega_I/2 - \omega_S/2 - \pi J_{IS}/2, \\ |\beta\alpha\rangle \text{ 状態のとき } E_3 &= -\omega_I/2 + \omega_S/2 - \pi J_{IS}/2 \\ |\beta\beta\rangle \text{ 状態のとき } E_4 &= -\omega_I/2 - \omega_S/2 + \pi J_{IS}/2 \end{aligned} \quad (10.3)$$

従って、 $E_1$  から  $E_2$  への励起エネルギー  $\Delta E_{21} = -\omega_S - \pi J_{IS}$  と  $E_3$  から  $E_4$  への励起エネルギー  $\Delta E_{43} = -\omega_S + \pi J_{IS}$  はどちらも  $S$  スピンの励起エネルギーであるが、相互作用している  $I$  スピンのスピン状態に応じて、 $2\pi J_{IS}$  だけ異なる。したがって、 $S$  スピンの NMR 共鳴線は  $2\pi J_{IS}$  だけ分離した 2 重線となる ( $I$  スピンの共鳴線も同様に  $2\pi J_{IS}$  だけ離れた 2 重線)。これは弱い  $J$ -結合の場合であるが、強い  $J$ -結合の場合、エネルギー固有値はもう少し複雑になる。

強い  $J$ -結合の場合は、ハミルトニアンの固有ベクトルが  $|\alpha\beta\rangle$  と  $|\beta\alpha\rangle$  の線形結合で表される。

$$\psi_1 = |\alpha\alpha\rangle, \psi_2 = \cos\theta|\alpha\beta\rangle + \sin\theta|\beta\alpha\rangle, \psi_3 = \cos\theta|\beta\alpha\rangle - \sin\theta|\alpha\beta\rangle, \psi_4 = |\beta\beta\rangle \quad (10.4)$$

と選べば、 $\psi_1, \psi_2, \psi_3, \psi_4$  は互いに直交し、規格化された基底ベクトルとなる。強い  $J$ -結合項を含むハミルトニアンの固有ベクトルとなるためには、 $\hat{H}\psi_2 = E_2\psi_2$  を満足するように未知係数  $\theta$  を決めなければならない。

$$\hat{H}\psi_2 = \frac{1}{2}(\omega_I - \omega_S - \pi J_{IS} + 2\pi J_{IS} \tan \theta) \cos \theta |\alpha\beta\rangle + \frac{1}{2} \left( -\omega_I + \omega_S - \pi J_{IS} + 2\pi J_{IS} \frac{1}{\tan \theta} \right) \sin \theta |\beta\alpha\rangle$$

右辺の状態が  $\psi_2$  に比例するためには、それぞれの係数が等しくなければならないので、

$$\tan 2\theta = \frac{2\pi J_{IS}}{\omega_I - \omega_S} \quad (10.5)$$

上の式を満足するように  $\theta$  を決めると、 $\psi_2$  も  $\psi_3$  も、エネルギー固有ベクトルとなる。

$\tan \theta$  に関する 2 次方程式の解から、エネルギー固有値  $E_1, E_2, E_3, E_4$  は次のようになる。

$$\begin{aligned} E_1 &= \omega_I/2 + \omega_S/2 + \pi J_{IS}/2, \quad E_2 = D - \pi J_{IS}/2, \\ E_3 &= -D - \pi J_{IS}/2, \quad E_4 = -\omega_I/2 - \omega_S/2 + \pi J_{IS}/2 \end{aligned} \quad (10.6)$$

ただし、 $D = (1/2)\sqrt{(\omega_I - \omega_S)^2 + 4\pi^2 J_{IS}^2}$

弱い  $J$ -結合の場合 ( $2\pi J_{IS} \ll \omega_I - \omega_S$ )  $\therefore \theta \approx 0$  なので、 $\psi_2 \approx |\alpha\beta\rangle$ 、 $\psi_3 \approx |\beta\alpha\rangle$  と近似できる。

$$\begin{aligned} (\omega_I \hat{I}_z + \omega_S \hat{S}_z + 2\pi J_{IS} \hat{I}_z \hat{S}_z) |\alpha\beta\rangle &= (\omega_I/2 - \omega_S/2 - \pi J_{IS}/2) |\alpha\beta\rangle \\ 2\pi J_{IS} \hat{I}_x \hat{S}_x |\alpha\beta\rangle &= (\pi J_{IS}/2) |\beta\alpha\rangle, \quad 2\pi J_{IS} \hat{I}_y \hat{S}_y |\alpha\beta\rangle = (\pi J_{IS}/2) |\beta\alpha\rangle \end{aligned} \quad (10.7)$$

が成り立つので、次式が導かれる。

$$(\omega_I \hat{I}_z + \omega_S \hat{S}_z + 2\pi J_{IS} (\hat{I}_z \hat{S}_z + \hat{I}_x \hat{S}_x + \hat{I}_y \hat{S}_y)) |\alpha\beta\rangle = (\omega_I/2 - \omega_S/2 - \pi J_{IS}/2) |\alpha\beta\rangle + \pi J_{IS} |\beta\alpha\rangle$$

第 2 項は第 1 項に比べ十分小さいので、ハミルトニアン内の  $2\pi J_{IS} (\hat{I}_x \hat{S}_x + \hat{I}_y \hat{S}_y)$  という項は無視することができて、スカラーカップリング項は  $2\pi J_{IS} \hat{I}_z \hat{S}_z$  と表すことができる。

## 11. 2 スピン系の量子状態 $\hat{\sigma}$ を直積演算子の線形結合で表す

スピン系の量子力学においては、密度演算子 (密度行列)  $\hat{\sigma}$  が系の状態を表し、 $\hat{\sigma}$  の時間変化を決定するものがハミルトニアン  $\hat{H}$  である。NMR 現象は、状態を表す演算子  $\hat{\sigma}$  が  $rf$ -パルスや自由歳差運動などによって時間変化する現象である。スピン角運動量の直積空間内の演算子として  $\hat{\sigma}$  を表現することによって、系の状態変化を直感的に理解することが容易になる。そのことを考察してみよう。

演算子空間の基底演算子を  $\hat{B}_k$  として、 $\hat{\sigma}$  を  $\hat{B}_k$  の線形結合で表現すると、

$$\hat{\sigma} = \sum_k b_k(t) \hat{B}_k \quad (11.1)$$

基底演算子  $\hat{B}_k$  の内積を次のように表現し、その直交、規格化を定義する。

$$\langle \hat{B}_j | \hat{B}_k \rangle = \text{Tr} \{ \hat{B}_j^\dagger \hat{B}_k \} = \text{Tr} \{ \hat{B}_j \hat{B}_k \} = \delta_{jk} \quad (11.2)$$

$\hat{B}_j$  がエルミート演算子の場合  $\hat{B}_j^\dagger = \hat{B}_j$  が成立する。

I スピン 1 個の系の状態変化の場合には、演算子空間の基底演算子  $\hat{B}_k$  は、 $\hat{E}/\sqrt{2}$  と  $\sqrt{2}\hat{I}_x$ ,  $\sqrt{2}\hat{I}_y, \sqrt{2}\hat{I}_z$  が直交・規格化された基底演算子である。すでに前節で述べたように、 $\hat{I}_x$ ,  $\hat{I}_y, \hat{I}_z$  の線形結合で表される状態  $\hat{\sigma}$  が、古典的なベクトル  $\vec{I}$  の運動とよく一致することを見てきた。例えば、 $90^\circ_y$  パルス後の磁化  $\hat{I}_x$  は  $\hat{H}$  のもとで自由歳差運動すると、その状態は、 $\hat{\sigma}(t) = \cos \Omega_I t \cdot \hat{I}_x + \sin \Omega_I t \cdot \hat{I}_y$  と表された。これら基底演算子  $\hat{B}_k$  ( $k=1\sim 4$ ) の直交性、規格化は次のように成り立っている。

$$\begin{aligned} \langle \sqrt{2}\hat{I}_x | \sqrt{2}\hat{I}_y \rangle &= 2\text{Tr} \{ \hat{I}_x^\dagger \hat{I}_y \} = 2\text{Tr} \{ \hat{I}_x \hat{I}_y \} = 0 \\ \langle \sqrt{2}\hat{I}_y | \sqrt{2}\hat{I}_y \rangle &= 2\text{Tr} \{ \hat{I}_y^\dagger \hat{I}_y \} = 2\text{Tr} \{ \hat{I}_y \hat{I}_y \} = 1 \end{aligned} \quad (11.3)$$

I と S の 2 スピン系の場合は、直積空間を用いて  $4^2$  次元の演算子空間を考える必要がある。例えばデカルト基底 (Cartesian basis) の場合は、 $\hat{I}_x, \hat{S}_z, \hat{I}_x \hat{S}_z, \hat{E}$  などを用いて、直交・規格化された基底演算子  $\hat{B}_k$  ( $k=1\sim 16$ ) は次の 16 個で表される。

$$\begin{aligned} &\hat{E}/2, \hat{I}_x, \hat{I}_y, \hat{I}_z, \hat{S}_x, \hat{S}_y, \hat{S}_z \quad \text{ただし } \hat{E} = \hat{E} \otimes \hat{E}, \hat{I}_x = \hat{I}_x \otimes \hat{E}, \hat{S}_z = \hat{E} \otimes \hat{S}_z \\ &2\hat{I}_z \hat{S}_x, 2\hat{I}_z \hat{S}_y, 2\hat{I}_x \hat{S}_z, 2\hat{I}_y \hat{S}_z \quad (\text{single quantum}) \\ &2\hat{I}_z \hat{S}_z, 2\hat{I}_x \hat{S}_x, 2\hat{I}_y \hat{S}_y, 2\hat{I}_x \hat{S}_y, 2\hat{I}_y \hat{S}_x \quad (\text{zero or double quantum}) \end{aligned} \quad (11.4)$$

上記の基底演算子が互いに、直交し、規格化されていることは容易に証明できる。これらの中で  $2\hat{I}_z \hat{S}_x$  とか  $2\hat{I}_y \hat{S}_z$  という直積演算子はスピンのどのような状態を表しているのだろう。 $\hat{\sigma}$  が時間発展するとき、このような状態が現れてくるのはなぜだろう。これらの中に直観的理解を持って答えられることがこれからの課題である。

つぎに、直積演算子空間を single-elements basis で表現する場合は、

$$\begin{aligned} \hat{I}^\alpha &= \hat{E}/2 + \hat{I}_z = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad \hat{I}^\beta = \hat{E}/2 - \hat{I}_z = \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix}, \\ \hat{I}^+ &= \hat{I}_x + i\hat{I}_y = \begin{pmatrix} 0 & 1 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad \hat{I}^- = \hat{I}_x - i\hat{I}_y = \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ 1 & 0 \end{pmatrix} \end{aligned} \quad (11.5)$$

という演算子を用いて、次の直交・規格化された 16 個の基底演算子が用いられる。

$$\begin{aligned} &\hat{I}^\alpha \hat{S}^\alpha, \hat{I}^\beta \hat{S}^\alpha, \hat{I}^\alpha \hat{S}^\beta, \hat{I}^\beta \hat{S}^\beta \quad (\text{population}) \\ &\hat{I}^- \hat{S}^\alpha, \hat{I}^+ \hat{S}^\alpha, \hat{I}^\alpha \hat{S}^-, \hat{I}^\beta \hat{S}^+, \hat{I}^\beta \hat{S}^-, \hat{I}^- \hat{S}^\beta, \hat{I}^+ \hat{S}^\beta \quad (\text{single quantum}) \\ &\hat{I}^+ \hat{S}^+, \hat{I}^- \hat{S}^- \quad (\text{double quantum}), \quad \hat{I}^- \hat{S}^+, \hat{I}^+ \hat{S}^- \quad (\text{zero quantum}) \end{aligned} \quad (11.6)$$

上記の 16 個の演算子は、I、S の 2 スピン系のエネルギー状態図を用いて図示すると、

下記の図 6 のように表現できて覚えるのに便利である。 $\hat{I}^+$  は  $I_z$  を +1 上昇させる演算子であり、 $\hat{I}^-$  は  $I_z$  を -1 下降させる演算子である。 $\hat{I}^\alpha, \hat{I}^\beta$  は I スピンが  $|\alpha\rangle$  あるいは  $|\beta\rangle$  状態をとる確率を示す演算子である。大抵の物理量はエルミート演算子で表されるが、 $\hat{I}^+, \hat{I}^-, \hat{S}^+, \hat{S}^-$  はエルミート演算子でなく、 $(\hat{I}^+)^\dagger = \hat{I}^-$  となることに注意する。

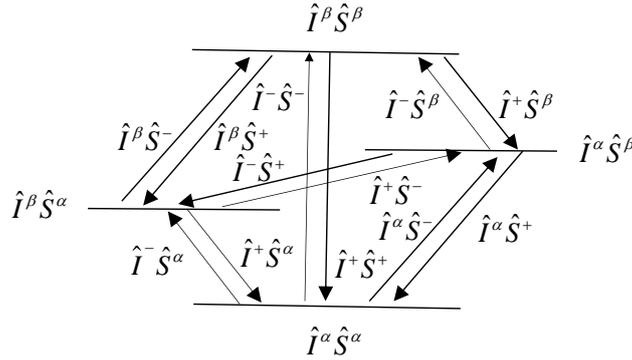


図 6 2 スピン系の 4 状態図

Single-elements basis の場合、演算子をブラケットによって表すと便利である。例えば、

$$\hat{I}^\alpha = |\alpha\rangle\langle\alpha|, \hat{I}^\beta = |\beta\rangle\langle\beta|, \hat{I}^+ = |\alpha\rangle\langle\beta|, \hat{I}^- = |\beta\rangle\langle\alpha| \quad (11.7)$$

これを用いると容易に次式が証明できる。

$$\hat{I}^\alpha \hat{I}^\alpha = \hat{I}^\alpha, \hat{I}^+ \hat{I}^- = \hat{I}^\alpha, \hat{I}^- \hat{I}^\alpha = \hat{I}^-, \hat{I}^\alpha \hat{I}^\beta = \hat{0}, \hat{I}^+ \hat{I}^- = \hat{0}, \hat{I}^+ \hat{I}^\alpha = \hat{0} \quad (11.8)$$

観測可能な NMR 信号 (磁化ベクトルの歳差運動) は  $\langle M^+ \rangle = \gamma \hbar \text{Tr} \{ \hat{\sigma} \hat{I}^+ \}$  と表される。 $\text{Tr} \{ \hat{\sigma} \hat{I}^+ \} = \text{Tr} \{ \hat{I}^+ \hat{\sigma} \} = \langle \hat{I}^- | \hat{\sigma} \rangle$  となるので、single-elements basis の直交性を考慮すると、ゼロでない  $\langle M^+ \rangle$  が得られる状態は、 $\hat{\sigma}$  に含まれる  $\hat{I}^-$  の項だけである。すなわち、2 スピン系の場合、 $\hat{I}^- = \hat{I}^- \hat{S}^\alpha + \hat{I}^- \hat{S}^\beta$  と表されるが、この 2 つの基底演算子以外の状態では  $\hat{I}^-$  と直交して NMR 信号を発生しない。後で述べるように、コヒーレンス次数という有用な概念があって、観測可能な NMR 信号を与える一般的なルールが存在する。すなわち、1 量子コヒーレンスの状態 ( $\hat{I}_x, 2\hat{I}_x \hat{S}_z$  など) は観測可能な NMR 信号を発生するが、0 量子コヒーレンス ( $\hat{I}_z, \hat{I}^+ \hat{S}^-, Z\hat{Q}_x$  など) や 2 量子コヒーレンス ( $\hat{I}^+ \hat{S}^+, \hat{I}^- \hat{S}^-, D\hat{Q}_x$  など) の状態は  $\langle M^+ \rangle = 0$  となって、NMR 実験の観測に掛からない。

## 12. 2 スピン系の自由歳差運動

2 スピン系の自由歳差運動の様子を直感的に把握するために、 $\hat{H}$  のもとで時間変化する  $\hat{\sigma}$  の様子を考察してみよう。2 スピン系の状態は直積演算子空間の基底演算子の線形結合で表される。基底演算子として Cartesian basis を用いて考察する。I と S の 2 スピン系の熱平衡状態の密度演算子  $\hat{\sigma}^{eq}$  は次のように表される。

$$\hat{\sigma}^{eq} = K_I \hat{I}_z + K_S \hat{S}_z \quad \text{ただし、} \quad K_I = -\hbar\omega_I/2k_B T, \quad K_S = -\hbar\omega_S/2k_B T$$

両方のスピンの  $90^\circ_y$  パルスを照射し、その後、スカラーカップリング項を含むハミルトニアンのもとで時間  $t$  だけ自由歳差運動させると（回転座標系で考察する）、

$$\hat{\sigma}^{eq} \xrightarrow{(\pi/2)\hat{I}_y + (\pi/2)\hat{S}_y} \hat{\sigma}(0) \xrightarrow{\hat{H}t} \hat{\sigma}(t) \quad (12.1)$$

まず、 $\hat{\sigma}(0) = \hat{I}_x + \hat{S}_x$  となる。式(12.1)では、比例定数を  $K_I = K_S = 1$  と略している。これを  $\hat{H}$  で  $t$  時間展開すると、 $\hat{H}t = \Omega_I t \cdot \hat{I}_z + \Omega_S t \cdot \hat{S}_z + 2\pi J_{IS} t \cdot \hat{I}_z \hat{S}_z$  の各項は交換可能なので、回転演算子の操作を、

$$e^{-i(\Omega_I \hat{I}_z + \Omega_S \hat{S}_z + 2\pi J_{IS} \hat{I}_z \hat{S}_z)t} = e^{-i\Omega_I \hat{I}_z t} \cdot e^{-i\Omega_S \hat{S}_z t} \cdot e^{-i2\pi J_{IS} \hat{I}_z \hat{S}_z t} \quad (12.2)$$

と表すことができる。これは演算子のカスケード操作と呼ばれる。書き直すと、

$$\hat{\sigma}(0) \xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_z} \hat{\sigma}_1 \xrightarrow{\Omega_S \hat{S}_z} \hat{\sigma}_2 \xrightarrow{2\pi J_{IS} \hat{I}_z \hat{S}_z} \hat{\sigma}(t) \quad (12.3)$$

$\hat{\sigma}(0)$  のうちの  $\hat{I}_x$  の項だけを考慮すると ( $\hat{S}_x$  の項は  $\hat{I}_x$  と類似の式)、式(6.12)より

$$\hat{I}_x \xrightarrow{\Omega_I \hat{I}_z} \cos(\Omega_I t) \hat{I}_x + \sin(\Omega_I t) \hat{I}_y \quad (12.4)$$

I スピンと S スピンの系は直積空間で表されているので、 $\hat{S}_z$  まわりの回転操作  $\Omega_S t \hat{S}_z$  は I スピンの演算子に影響を及ぼさない。スカラーカップリング項による時間展開は、 $2\hat{I}_z \hat{S}_z$  軸のまわりで、 $\hat{I}_x$  や  $\hat{I}_y$  を  $\pi J_{IS} t$  だけ回転させる演算である。以下に示す図 7 を利用して計算すると便利である。

$$\begin{aligned} & \cos(\Omega_I t) \hat{I}_x \xrightarrow{2\pi J_{IS} t \hat{I}_z \hat{S}_z} \cos(\Omega_I t) \left[ \cos(\pi J_{IS} t) \hat{I}_x + \sin(\pi J_{IS} t) 2\hat{I}_y \hat{S}_z \right] \\ & \sin(\Omega_I t) \hat{I}_y \xrightarrow{2\pi J_{IS} t \hat{I}_z \hat{S}_z} \sin(\Omega_I t) \left[ \cos(\pi J_{IS} t) \hat{I}_y - \sin(\pi J_{IS} t) 2\hat{I}_x \hat{S}_z \right] \quad (12.5) \end{aligned}$$

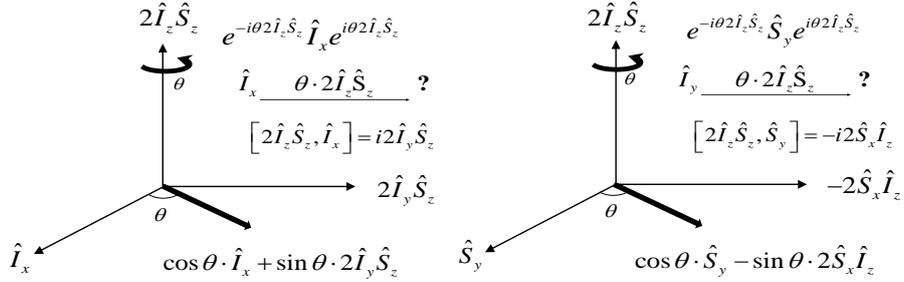


図7  $2\hat{I}_z \hat{S}_z$  による  $\hat{I}_x, \hat{I}_y$  の回転

式(12.5)を用いると、式(12.3)の  $\hat{\sigma}(t)$  は次のように表される。

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}(t) = & \cos(\Omega_I t) \left[ \cos(\pi J_{IS} t) \hat{I}_x + \sin(\pi J_{IS} t) 2\hat{I}_y \hat{S}_z \right] \\ & + \sin(\Omega_I t) \left[ \cos(\pi J_{IS} t) \hat{I}_y - \sin(\pi J_{IS} t) 2\hat{I}_x \hat{S}_z \right] \quad (12.6) \end{aligned}$$

このように、熱平衡状態において  $\hat{I}_z$  であった磁化ベクトルが、 $90^\circ_y$  パルスによって  $\hat{I}_x$  となり、それが  $\hat{H}$  のもとで  $t$  時間展開すると、 $\hat{I}_z$  軸のまわりで横磁化が  $\Omega_I t$  回転し、さらに  $2\hat{I}_z \hat{S}_z$  軸のまわりで  $\pi J_{IS} t$  回転して状態  $\hat{\sigma}(t)$  に至る。このように、直積演算子空間における  $\hat{\sigma}(t)$  の時間変化は、磁化ベクトルの古典力学的な運動の様子と対比させながら、ある程度直感的な理解を得ることができる。ただし、スカラーカップリングのもとで時間展開する様子、すなわち  $2\hat{I}_z \hat{S}_z$  軸のまわりで  $\hat{I}_x$  が  $\pi J_{IS} t$  回転すると  $2\hat{I}_y \hat{S}_z$  に比例する状態が新たに現れてくるという状況は、古典的なスピンの運動としては理解しがたく、量子力学的描像に特有の現象といえるだろう。

観測量である複素磁化ベクトル  $M^+ = I_x + iI_y$  (比例係数  $\gamma\hbar$  を省略) を考慮すると、

$$\langle M^+(t) \rangle \propto \text{Tr} \left\{ \hat{\sigma}(t) (\hat{I}^+ + \hat{S}^+) \right\}$$

と表される。Cartesian basis の規格・直交性を考慮すると、

$$\text{Tr} \left\{ \hat{I}_x \hat{I}^+ \right\} = 1, \text{Tr} \left\{ \hat{I}_y \hat{I}^+ \right\} = i, \text{Tr} \left\{ 2\hat{I}_x \hat{S}_z \hat{I}^+ \right\} = \text{Tr} \left\{ 2\hat{I}_y \hat{S}_z \hat{I}^+ \right\} = 0 \quad (12.7)$$

これらの結果を用いて、 $\hat{\sigma}(t)$  と  $\hat{I}^+$  の積のトレースを計算すると次のようになる。

$$\begin{aligned} \text{Tr}\{\hat{\sigma}(t)\hat{I}^+\} &= \cos(\Omega_I t)\cos(\pi J_{IS}t) + i\sin(\Omega_I t)\cos(\pi J_{IS}t) = (1/2)\{\cos(\Omega_I t + \pi J_{IS}t) \\ &\quad + \cos(\Omega_I t - \pi J_{IS}t) + i\sin(\Omega_I t + \pi J_{IS}t) + i\sin(\Omega_I t - \pi J_{IS}t)\} \\ &= (1/2)(e^{i(\Omega_I + \pi J_{IS})t} + e^{i(\Omega_I - \pi J_{IS})t}) \end{aligned} \quad (12.8)$$

これは I スピンに関する磁化であるが、同様に S スピンの項も存在するので、

$$\langle M^+(t) \rangle = \frac{1}{2}(e^{i\Omega_I^+ t} + e^{i\Omega_I^- t} + e^{i\Omega_S^+ t} + e^{i\Omega_S^- t}) \quad (12.9)$$

となる。ただし、 $\Omega^+ \equiv \Omega + \pi J_{IS}$ ,  $\Omega^- \equiv \Omega - \pi J_{IS}$  と定義する。式(12.9)は、 $90^\circ_y$  パルス照射後の演算子  $\hat{I}_x$ 、 $\hat{S}_x$  がスカラーカップリングを含んだ  $\hat{H}$  のもとで時間展開するとき観測される NMR 信号を表し、これをフーリエ変換すると NMR スペクトルが得られる。周波数  $\Omega_I$  と  $\Omega_S$  を中心として、 $2\pi J_{IS}$  だけ分離した 2 重共鳴線となる。 $\Omega^+$  と  $\Omega^-$  の共鳴線の振幅の符号が同じなので in-phase doublet と呼ばれる。

### 13. 1 量子コヒーレンスの時間発展 (single quantum coherence)

式(12.1)の  $\hat{\sigma}(0)$  内にある  $\hat{I}_x$  の時間発展を、今度は single-elements basis を用いて考察してみよう。 $\hat{I}_x$  は次のように表される。

$$\hat{I}_x = \frac{1}{2}(\hat{I}^+\hat{S}^\alpha + \hat{I}^-\hat{S}^\alpha + \hat{I}^+\hat{S}^\beta + \hat{I}^-\hat{S}^\beta) \quad (13.1)$$

$\hat{I}^+\hat{S}^\alpha$   $\hat{H}t$  の計算において、 $\hat{I}^+\hat{S}^\alpha$  などの、 $\hat{I}_z$  や  $2\hat{I}_z\hat{S}_z$  軸のまわりの回転を計算する必要がある。図 8 に示したように、時間発展の結果、演算子  $\hat{I}^+\hat{S}^\alpha$  などの形は変わらず、それに位相因子が掛かるだけである。

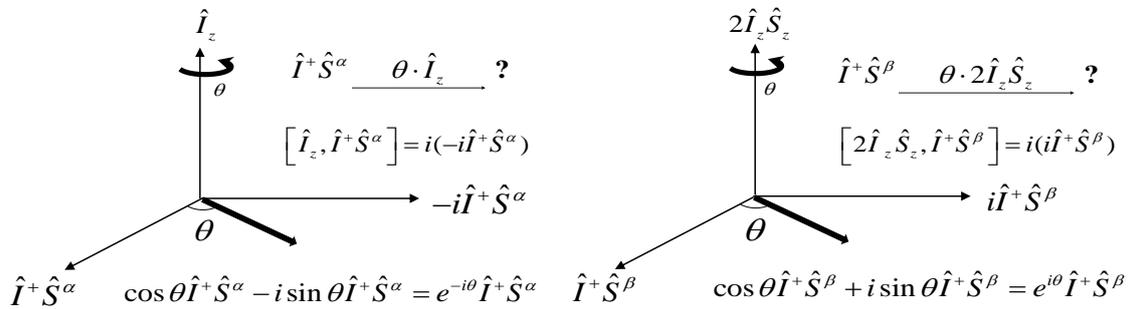


図 8  $\hat{I}^+\hat{S}^\alpha$  あるいは  $\hat{I}^+\hat{S}^\beta$  の  $\hat{I}_z$  軸、 $2\hat{I}_z\hat{S}_z$  軸のまわりの回転

図 8 に示した計算によって  $\hat{I}^+\hat{S}^\alpha$  や  $\hat{I}^+\hat{S}^\beta$  の時間発展を求めると次のようになる。

$$\begin{aligned} \hat{I}^+ \hat{S}^\alpha &\xrightarrow{\Omega_I t \hat{I}_z} e^{-i\Omega_I t} \hat{I}^+ \hat{S}^\alpha \xrightarrow{2\pi J_{IS} t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I + \pi J_{IS})t} \hat{I}^+ \hat{S}^\alpha \\ \hat{I}^+ \hat{S}^\beta &\xrightarrow{\Omega_I t \hat{I}_z} e^{-i\Omega_I t} \hat{I}^+ \hat{S}^\beta \xrightarrow{2\pi J_{IS} t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I - \pi J_{IS})t} \hat{I}^+ \hat{S}^\beta \end{aligned} \quad (13.2)$$

$\hat{I}^- \hat{S}^\alpha$  や  $\hat{I}^- \hat{S}^\beta$  に対しても同様に計算すると、次の式が成り立つ。

$$\begin{aligned} \hat{I}^- \hat{S}^\alpha &\xrightarrow{\hat{H}t} e^{i(\Omega_I + \pi J_{IS})t} \hat{I}^- \hat{S}^\alpha \\ \hat{I}^- \hat{S}^\beta &\xrightarrow{\hat{H}t} e^{i(\Omega_I - \pi J_{IS})t} \hat{I}^- \hat{S}^\beta \end{aligned} \quad (13.3)$$

結局、 $\hat{I}_x$  を  $\hat{H}t$  だけ時間発展させた結果は、 $\Omega^+ \equiv \Omega + \pi J$ 、 $\Omega^- \equiv \Omega - \pi J$  として、

$$\hat{I}_x \xrightarrow{\hat{H}t} \hat{\sigma}(t) = (1/2) \left( e^{-i\Omega^+ t} \hat{I}^+ \hat{S}^\alpha + e^{i\Omega^+ t} \hat{I}^- \hat{S}^\alpha + e^{-i\Omega^- t} \hat{I}^+ \hat{S}^\beta + e^{i\Omega^- t} \hat{I}^- \hat{S}^\beta \right) \quad (13.4)$$

と表すことができる。従って、観測量としての NMR 信号を計算すると、

$$\langle M^+(t) \rangle \propto \text{Tr} \{ \hat{\sigma}(t) \hat{F}^+ \} = \text{Tr} \{ \hat{\sigma}(t) (\hat{I}^+ + \hat{S}^+) \} \quad (13.5)$$

$(\hat{I}^-)^\dagger = \hat{I}^+$  より  $\langle \hat{I}^- | \hat{\sigma} \rangle = \text{Tr} \{ \hat{I}^+ \hat{\sigma} \} = \text{Tr} \{ \hat{\sigma} \hat{I}^+ \}$  が成り立つ。基底演算子の規格・直交性を用い、 $\hat{I}^- = \hat{I}^- \hat{S}^\alpha + \hat{I}^- \hat{S}^\beta$  であることを考慮すると、式(13.4)となる状態  $\hat{\sigma}$  の内、 $\hat{I}^- \hat{S}^\alpha$  と  $\hat{I}^- \hat{S}^\beta$  の項だけが  $\text{Tr} \{ \hat{\sigma} \hat{I}^+ \}$  の計算結果に寄与する。さらに、 $\text{Tr} \{ \hat{\sigma} \hat{S}^+ \}$  の寄与も考慮すると、観測される NMR 信号は次のようになる。

$$\langle M^+(t) \rangle \propto (1/2) \left( e^{i\Omega^+ t} + e^{i\Omega^- t} + e^{i\Omega_s^+ t} + e^{i\Omega_s^- t} \right) \quad (13.6)$$

$\langle M^+(t) \rangle$  をフーリエ変換し、NMR スペクトルとして表示すると、図 9 のようになる。

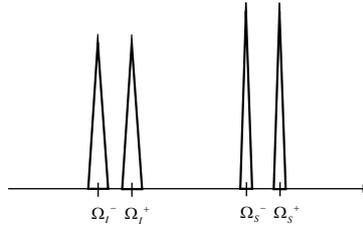


図 9 in-phase SQ-coherence のスペクトル

結局、 $90^\circ_y$  パルス後の  $\hat{\sigma}(0)$  が  $\hat{I}_x$  となるとき、 $\Omega^+$ 、 $\Omega^-$  に分離した 2 本の共鳴線は同位相である (in-phase doublet)。そのため、演算子  $\hat{I}_x$  のことを in-phase single quantum coherence (in-phase SQ-coherence) と呼ぶ。

最初の横磁化の状態  $\hat{\sigma}(0)$  が  $2\hat{I}_x \hat{S}_z$  となる場合も SQ-coherence であるが、スピン結合を含む  $\hat{H}$  のもとで、この  $2\hat{I}_x \hat{S}_z$  を時間展開すると、2 重共鳴線は anti-phase doublet と

なる。それを確かめてみよう。

$$2\hat{I}_x\hat{S}_z = (\hat{I}^+ + \hat{I}^-) \otimes \frac{1}{2}(\hat{S}^\alpha - \hat{S}^\beta) = \frac{1}{2}(\hat{I}^+\hat{S}^\alpha + \hat{I}^-\hat{S}^\alpha - \hat{I}^+\hat{S}^\beta - \hat{I}^-\hat{S}^\beta) \quad (13.7)$$

上の式が式(13.1)の  $\hat{I}_x$  と異なる点は、 $\hat{I}^+\hat{S}^\beta$ ,  $\hat{I}^-\hat{S}^\alpha$  の振幅の符号が負に変わっているだけなので、 $\langle M^+ \rangle$  への寄与は  $(1/2)(e^{i\Omega_I^+t} - e^{i\Omega_I^-t})$  と表される。さらに、 $2\hat{I}_z\hat{S}_x$  の寄与も考慮すると、結局、観測される複素磁化は

$$\langle M^+(t) \rangle \propto \frac{1}{2}(e^{i\Omega_I^+t} - e^{i\Omega_I^-t} + e^{i\Omega_S^+t} - e^{i\Omega_S^-t}) \quad (13.8)$$

となる。すなわち、 $\Omega_I^+$ ,  $\Omega_I^-$  という 2 重共鳴線は互いに位相が  $\pi$  だけ異なるので、**anti-phase doublet** と呼ばれる。 $\langle M^+(t) \rangle$  をフーリエ変換して共鳴スペクトルを図示すると図 10 のようになる。この結果、演算子  $2\hat{I}_x\hat{S}_z$  や  $2\hat{I}_z\hat{S}_x$  は **anti-phase SQ-coherence** と呼ばれる。

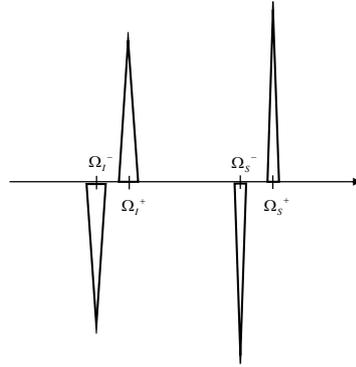


図 10 anti-phase SQ-coherence のスペクトル

<注>  $\hat{\sigma}^{eq}$  と  $\hat{M}^+$  にかかっていた係数を考慮すると、図 9 及び図 10 における I, S スピンの共鳴線の強度には、それぞれ、 $\gamma\hbar K_I = -\gamma\hbar^2\omega_I/2k_B T$ ,  $\gamma\hbar K_S = -\gamma\hbar^2\omega_S/2k_B T$  という因子がかかる。

これまでは、 $\hat{I}_x$  あるいは  $2\hat{I}_x\hat{S}_z$  という状態が 2 スピン系の  $\hat{H}$  のもとで自由歳差運動する様子を観察してきた。そのとき、複素磁化の NMR 信号が観測される。この信号を今後 FID 信号という (名前の由来は後で説明する)。つまり、 $\hat{I}_x$  あるいは  $2\hat{I}_x\hat{S}_z$  の自由歳差運動による FID 信号を複素フーリエ変換すると、in-phase doublet あるいは anti-phase doublet という 2 重共鳴線のスペクトルになることを見た。今後、様々な実験で

得られる 1 量子コヒーレンスの FID 信号を観測することになるが、参考のために、観測されるコヒーレンスが y 軸方向の場合、すなわち  $\hat{I}_y$  あるいは  $2\hat{I}_y\hat{S}_z$  のとき、その複素 FID データがどのようなになるか、ここで考察しておこう。これらの密度演算子を single-elements basis で表示すると、

$$\begin{aligned}\hat{I}_y &= (-i/2)(\hat{I}^+ - \hat{I}^-) \otimes (\hat{S}^\alpha + \hat{S}^\beta) = (i/2)(\hat{I}^- \hat{S}^\alpha + \hat{I}^- \hat{S}^\beta - \hat{I}^+ \hat{S}^\alpha - \hat{I}^+ \hat{S}^\beta) \\ 2\hat{I}_y\hat{S}_z &= (-i/2)(\hat{I}^+ - \hat{I}^-) \otimes (\hat{S}^\alpha - \hat{S}^\beta) \\ &= (i/2)(\hat{I}^- \hat{S}^\alpha - \hat{I}^- \hat{S}^\beta - \hat{I}^+ \hat{S}^\alpha + \hat{I}^+ \hat{S}^\beta)\end{aligned}\quad (13.9)$$

となる。観測される複素磁化ベクトルが  $\langle M^+ \rangle \propto \text{Tr}\{\hat{\sigma}\hat{I}^+\}$  であることを考慮すると、式 (13.9) を  $\hat{\sigma}$  とする状態のうち、 $\hat{I}^+$  との積のトレースが 0 にならずに観測される項は  $\hat{I}^- \hat{S}^\alpha$  と  $\hat{I}^- \hat{S}^\beta$  だけである。その項だけに注目すると、 $\hat{I}_y$  は  $i\hat{I}_x$  と、 $2\hat{I}_y\hat{S}_z$  は  $i2\hat{I}_x\hat{S}_z$  と同じであることが分かる。すなわち、 $\hat{I}_y$  による複素 FID データは  $\hat{I}_x$  のそれと位相が  $\pi/2$  だけ異なる (位相因子  $e^{i(\pi/2)} = i$ )。一方、 $2\hat{I}_y\hat{S}_z$  も、その複素 FID データは  $2\hat{I}_x\hat{S}_z$  のデータに位相因子 ( $i$ ) を掛けたものに等しい。従って、どちらの場合も、位相補正 ( $-i$ ) を施こしてフーリエ変換すれば、 $\hat{I}_y$  は in-phase doublet、 $2\hat{I}_y\hat{S}_z$  は anti-phase doublet という共鳴スペクトルを与える。

11 節において、弱いスカラーカップリングで J-結合したスピン I と S の系のエネルギー準位を計算した。その結果、I スピンの励起エネルギーが  $\omega_I \pm \pi J_{IS}$  と分離 (S スピンも同様に  $\omega_S \pm \pi J_{IS}$  と分離)、NMR スペクトルが 2 重線になることを見た。それを密度演算子の状態によって考察すると、 $2\pi J_{IS}\hat{I}_z\hat{S}_z$  を含むハミルトニアンのもとで、スピン  $\hat{I}_x$  が自由歳差運動するとき、FID 信号を与える 2 つのモード ( $\hat{I}^- \hat{S}^\alpha + \hat{I}^- \hat{S}^\beta$ ) が存在して、その回転角速度が  $\Omega_I \pm \pi J_{IS}$  と異なるという事実が 2 重共鳴線の根源であった。さらに、共鳴線の振幅の符号の違いまで考慮すると、 $\hat{I}_x$  と  $2\hat{I}_x\hat{S}_z$  の差を考える必要がある。 $2\hat{I}_x\hat{S}_z$  というスピン状態の場合は歳差運動の 2 つのモードが ( $\hat{I}^- \hat{S}^\alpha - \hat{I}^- \hat{S}^\beta$ ) となるので、角速度  $\Omega_I^+$  のモードと  $\Omega_I^-$  のモードの振幅の符号が反転している。J-結合によるエネルギー準位の分裂だけでは説明できない 2 重共鳴線の振幅の符号の違いは、密度演算子で表現してはじめてその原因を究明することが出来る。

#### 14. 多量子コヒーレンス (multi-quantum coherence)

I, S という 2 スピン系の場合の 2 量子、0 量子コヒーレンスの時間発展を考察しよう。2 量子コヒーレンス (pure double quantum coherence) は

$$\begin{aligned} D\hat{Q}_x &= \frac{1}{2}(\hat{I}^+\hat{S}^+ + \hat{I}^-\hat{S}^-) = \frac{1}{2}(2\hat{I}_x\hat{S}_x - 2\hat{I}_y\hat{S}_y) \\ D\hat{Q}_y &= \frac{1}{2i}(\hat{I}^+\hat{S}^+ - \hat{I}^-\hat{S}^-) = \frac{1}{2}(2\hat{I}_x\hat{S}_y + 2\hat{I}_y\hat{S}_x) \end{aligned} \quad (14.1)$$

と表される。 $\hat{H}$  に含まれる化学シフト項でこれらを時間展開すると、演算子自体は変化がなく位相因子がかかるだけである。

$$\begin{aligned} \hat{I}^+\hat{S}^+ &\xrightarrow{\Omega_I t \hat{I}_z} e^{-i\Omega_I t} \hat{I}^+\hat{S}^+ \xrightarrow{\Omega_S t \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I + \Omega_S)t} \hat{I}^+\hat{S}^+ \\ \hat{I}^-\hat{S}^- &\xrightarrow{\Omega_I t \hat{I}_z} e^{i\Omega_I t} \hat{I}^-\hat{S}^- \xrightarrow{\Omega_S t \hat{S}_z} e^{i(\Omega_I + \Omega_S)t} \hat{I}^-\hat{S}^- \end{aligned} \quad (14.2)$$

上記の計算には下の図 11 が用いられた。

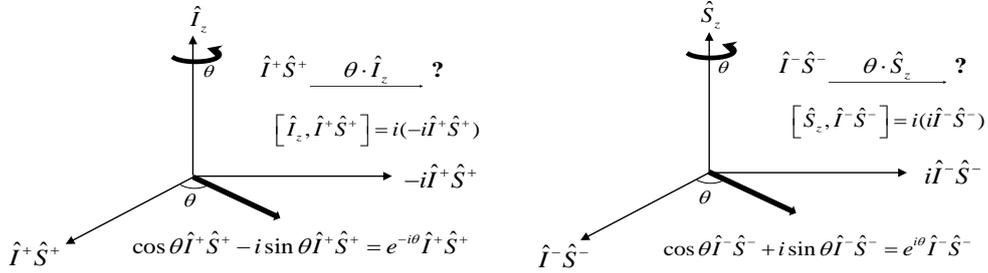


図 11 DQ-coherence の  $\hat{I}_z$  あるいは  $\hat{S}_z$  軸まわりの回転

さらに、 $\hat{H}$  中の  $2\hat{I}_z\hat{S}_z$  という項は  $2\hat{I}_x\hat{S}_x$ ,  $2\hat{I}_y\hat{S}_y$ ,  $2\hat{I}_x\hat{S}_y$ ,  $2\hat{I}_y\hat{S}_x$  と交換可能なので、スカラーカップリング項は  $D\hat{Q}_x$  や  $D\hat{Q}_y$  の時間発展に影響を与えない。従って、

$$\begin{aligned} D\hat{Q}_x &\xrightarrow{\hat{H}t} \cos[(\Omega_I + \Omega_S)t] D\hat{Q}_x + \sin[(\Omega_I + \Omega_S)t] D\hat{Q}_y \\ D\hat{Q}_y &\xrightarrow{\hat{H}t} \cos[(\Omega_I + \Omega_S)t] D\hat{Q}_y - \sin[(\Omega_I + \Omega_S)t] D\hat{Q}_x \end{aligned} \quad (14.3)$$

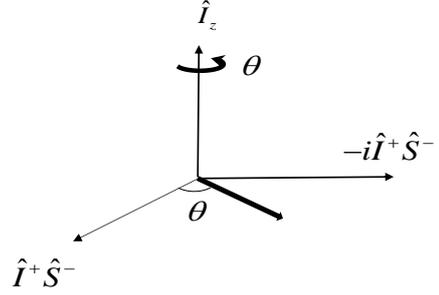
結局、 $D\hat{Q}_x$ ,  $D\hat{Q}_y$  を直積演算子空間の  $x, y$  軸と考えると、2 量子コヒーレンスは  $\hat{H}$  のもとで、オフセット周波数の和  $(\Omega_I + \Omega_S)$  で時間発展する。

他方、0量子コヒーレンスは次のように表される。

$$Z\hat{Q}_x = \frac{1}{2}(\hat{I}^+\hat{S}^- + \hat{I}^-\hat{S}^+) = \frac{1}{2}(2\hat{I}_x\hat{S}_x + 2\hat{I}_y\hat{S}_y)$$

$$Z\hat{Q}_y = \frac{1}{2i}(\hat{I}^+\hat{S}^- - \hat{I}^-\hat{S}^+) = \frac{1}{2}(2\hat{I}_y\hat{S}_x - 2\hat{I}_x\hat{S}_y)$$

$\hat{I}^+\hat{S}^-$ などを $\hat{I}_z, \hat{S}_z$ 軸のまわりで回転させる操作を図に示すと、回転軸は右のようになる。



この場合も演算子自体は変化しないことがわかる。 $\hat{I}^+\hat{S}^-$ あるいは $\hat{I}^-\hat{S}^+$ の化学シフト項による時間展開を計算すると、演算子自体は変化しないで位相変化を示す因子がかかって、次のような結果になる。

$$\begin{aligned} \hat{I}^+\hat{S}^- &\xrightarrow{\Omega_I t \hat{I}_z} e^{-i\Omega_I t} \hat{I}^+\hat{S}^- \xrightarrow{\Omega_S t \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I - \Omega_S)t} \hat{I}^+\hat{S}^- \\ \hat{I}^-\hat{S}^+ &\xrightarrow{\Omega_I t \hat{I}_z} e^{i\Omega_I t} \hat{I}^-\hat{S}^+ \xrightarrow{\Omega_S t \hat{S}_z} e^{i(\Omega_I - \Omega_S)t} \hat{I}^-\hat{S}^+ \end{aligned} \quad (14.4)$$

さらに、 $\hat{H}$ に含まれるスカラーカップリング項の $2\hat{I}_z\hat{S}_z$ は、 $\hat{I}_x\hat{S}_x, \hat{I}_x\hat{S}_y$ などと交換可能なので、 $Z\hat{Q}_x$ などの時間発展に影響しない。結果として次のような式が得られる。

$$\begin{aligned} Z\hat{Q}_x &\xrightarrow{\hat{H}t} \cos[(\Omega_I - \Omega_S)t] Z\hat{Q}_x + \sin[(\Omega_I - \Omega_S)t] Z\hat{Q}_y \\ Z\hat{Q}_y &\xrightarrow{\hat{H}t} \cos[(\Omega_I - \Omega_S)t] Z\hat{Q}_y - \sin[(\Omega_I - \Omega_S)t] Z\hat{Q}_x \end{aligned} \quad (14.5)$$

すなわち、 $Z\hat{Q}_x, Z\hat{Q}_y$ を演算子空間の $x, y$ 軸と考えると、0量子コヒーレンスは $\hat{H}$ のもとでオフセット周波数の差 $(\Omega_I - \Omega_S)$ によって時間発展する。

## 15. コヒーレンス移行と多量子コヒーレンスの生成

多次元 NMR 測定法における特徴的な量子状態の変化が、「コヒーレンス移行」と「多量子コヒーレンスの生成」と呼ばれる現象である。このような状態変化は、スピンの歳差運動という古典力学的な描像では、決して理解することができない。例えば密度演算子が $2\hat{I}_x\hat{S}_z$ という I スピンの anti-phase SQ-coherence で与えられる状態に、I と S スピンの両方に同時に $90^\circ_y$ パルス照射すると

$$2\hat{I}_x\hat{S}_z \xrightarrow{\frac{\pi}{2}(\hat{I}_y + \hat{S}_y)} -2\hat{I}_z\hat{S}_x \quad (15.1)$$

となるので、パルスを照射する前は I スピンのコヒーレンス状態だったものが、パルス照射後は S スピンのコヒーレンス状態に移っている。このような現象を「コヒーレンス移行」が起きたという。観測可能な核が I スピンから S スピンに変更されたことになり、これを利用した様々の有効な測定手法が開発された。

(1)  $\hat{I}_x\hat{S}_z$  というコヒーレンス状態を  $t_1$  だけ時間展開して、I スピンの横磁化に  $\cos(\Omega_I t_1)$  あるいは  $\sin(\Omega_I t_1)$  という因子を付けた後 ( $t_1$  軸を I スピンのオフセット周波数でラベルすると表現される)、両スピンの y 軸から  $90^\circ$  パルス照射して  $\hat{I}_x\hat{S}_z$  から  $-\hat{I}_z\hat{S}_x$  へコヒーレンス移行させると、 $\hat{I}_z$  に  $\cos(\Omega_I t_1)$  あるいは  $\sin(\Omega_I t_1)$  という振幅変調がかかる。 $\hat{I}_z\hat{S}_x$  の歳差運動を時間軸  $t_2$  上で観測すると、FID 信号は  $e^{i\Omega_S t_2}$  に比例するので周波数  $\Omega_S$  で振動する。結局、 $t_1, t_2$  に依存する 2 次元 NMR 信号が得られ、それを 2 次元フーリエ変換すると、 $t_1$  軸のフーリエ変換から I スピンの共鳴周波数、 $t_2$  軸のフーリエ変換から S スピンの共鳴周波数が得られ、両方の周波数  $\Omega_I, \Omega_S$  の交点に共鳴ピークが現れる (交差ピーク)。これが多次元 NMR 測定において使用されるパルスプログラムの基本的な考え方である。

(2) パルスを照射することによって意図的に多量子コヒーレンス状態を生成する。例えば、 $2\hat{I}_x\hat{S}_z$  に x 軸から  $90^\circ$  パルスを照射すると、 $-2\hat{I}_x\hat{S}_y$  が生成される。これは、

$$\begin{aligned} -2\hat{I}_x\hat{S}_y &= -(\hat{I}^+ + \hat{I}^-) \otimes (1/2i)(\hat{S}^+ - \hat{S}^-) \\ &= -(1/2i)(\hat{I}^+\hat{S}^+ - \hat{I}^-\hat{S}^- - \hat{I}^+\hat{S}^- + \hat{I}^-\hat{S}^+) = -D\hat{Q}_y + Z\hat{Q}_y \end{aligned} \quad (15.2)$$

と表され、2 量子と 0 量子状態の混合した多量子状態である。この状態を作り出した後、必要なコヒーレンス状態を選択して、次の目的をもつ NMR 実験を行う。

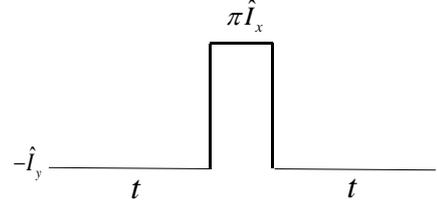
## 16. スピンエコー法

多次元の NMR 測定を行うとき、パルス列に頻繁に組み込まれる基本的なパルス列がスピンエコーと呼ばれるものである。横磁化にした後、時間  $t$  だけ自由歳差運動させ、 $180^\circ$  パルスを照射して、その後再び同じ時間  $t$  だけ自由歳差運動させると、エコーと呼ばれる NMR 信号が現れる。以下の 3 種のスピンエコーパルスがよく利用され、それぞ

れ特別な重要な目的を持っている。

(1) 1 スピン系のスピンエコー

$\hat{H}$  はスピン間の  $J$ -結合項を含まない自由歳差運動を表す。初期状態が  $-\hat{I}_y$  であったとする。右図のようなスピンエコーパルス照射すると、どのような状態になるのか考察しよう。 $\hat{H} = \Omega_I \hat{I}_z$  なので、



$$-\hat{I}_y \xrightarrow{\Omega_I t \cdot \hat{I}_z} \xrightarrow{\pi \hat{I}_x} \xrightarrow{\Omega_I t \cdot \hat{I}_z} \hat{\sigma}(2t)$$

密度演算子の時間発展を表す演算子を  $\hat{U}$  とすると、上のスピンエコーパルスは、

$$\hat{U} = e^{-i\hat{H}t} \cdot e^{-i\pi \hat{I}_x} \cdot e^{-i\hat{H}t} = e^{-i\Omega_I t \hat{I}_z} \cdot e^{-i\pi \hat{I}_x} \cdot e^{-i\Omega_I t \hat{I}_z} \quad (16.1)$$

と表される。このパルス列を照射した後のスピンの状態は  $\hat{U}(-\hat{I}_y)\hat{U}^{-1}$  となる。この計算は演算子  $\hat{U}$  をもっと簡単な別の形に変形してから考察すると便利である。その計算のために有用な次の定理を考察しよう。

[定理] 演算子  $\hat{A}$  の関数  $f(\hat{A})$  があるとき、次式が成り立つ。

$$\hat{U}f(\hat{A})\hat{U}^{-1} = f(\hat{U}\hat{A}\hat{U}^{-1}) \quad (16.2)$$

$\therefore f(\hat{A})$  が  $\hat{A}$  の多項式であれば、 $(\hat{U}\hat{A}\hat{U}^{-1})^n = \hat{U}\hat{A}^n\hat{U}^{-1}$  が成り立つので証明は簡単にできる。

定理(16.2)を使って、演算子  $\hat{U}$  を以下のように変形する。

$$\begin{aligned} \hat{U} &= e^{-i\Omega_I t \hat{I}_z} \cdot e^{-i\pi \hat{I}_x} \cdot e^{-i\Omega_I t \hat{I}_z} = e^{-i\Omega_I t \hat{I}_z} \cdot \left( e^{-i\pi \hat{I}_x} \cdot e^{-i\Omega_I t \hat{I}_z} \cdot e^{i\pi \hat{I}_x} \right) \cdot e^{-i\pi \hat{I}_x} \\ &= e^{-i\Omega_I t \hat{I}_z} \cdot \exp \left[ -i\Omega_I t \left( e^{-i\pi \hat{I}_x} \cdot \hat{I}_z \cdot e^{i\pi \hat{I}_x} \right) \right] \cdot e^{-i\pi \hat{I}_x} \\ &= e^{-i\Omega_I t \hat{I}_z} \cdot e^{i\Omega_I t \hat{I}_z} \cdot e^{-i\pi \hat{I}_x} = e^{-i\pi \hat{I}_x} \end{aligned} \quad (16.3)$$

すなわち、演算子  $\hat{U}$  は  $\hat{I}_x$  軸まわりで  $180^\circ$  回転させる操作と同一である。従って、

$$\hat{U}(-\hat{I}_y)\hat{U}^{-1} = e^{-i\pi \hat{I}_x} \cdot (-\hat{I}_y) \cdot e^{i\pi \hat{I}_x} = \hat{I}_y$$

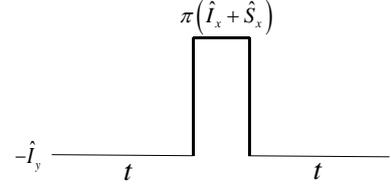
I スピンの横磁化  $-\hat{I}_y$  は任意の時間  $t$  だけ時間展開されたが、 $x$  軸からの  $\pi$  パルスによって、 $t$  時間後に再び必ず  $y$  軸上に戻ってくる。タンパク質内には様々なオフセット周波数  $\Omega$  をもつスピンの共存している。最初の  $90^\circ_x$  パルスで全てのスピンの  $-y$  軸上に倒れて位相が揃った状態にあるとしても、化学シフト項を含む  $\hat{H}$  のもとで  $t$  時間展開すると、オフセット周波数の異なるスピンの位相はばらばらになって、スピン全体のコヒー

レンスは失われる。しかし、その状態に  $x$  軸から  $\pi$  パルスを照射して、時間  $t$  だけ待つと全てのスピンは再び  $y$  軸上に集結して位相が揃った状態になる。そのような意味からこの  $180^\circ$  パルスをスピンエコーと呼ぶ。

## (2) 同種核 2 スピン系のスピンエコー

スピン結合した  $I$  と  $S$  の 2 スピン系であるが、 $I$  に  $180^\circ$  パルスを照射すると、同種核である  $S$  スピンも  $180^\circ$  回転するので、同種核のスピンエコーと名付けられる。

$\hat{H}$  は  $I, S$  スピン間の  $J$ -結合項を含んで次のように表される。 $\hat{H} = \Omega_I \hat{I}_z + \Omega_S \hat{S}_z + 2\pi J \cdot \hat{I}_z \hat{S}_z$



スピンエコーによる時間展開を表す演算子  $\hat{U}$  をあらかじめ簡単化しておこう。一見面倒そうな計算に見えるが同じ操作の繰り返しなので、慣れれば計算は簡単である。

$$\begin{aligned}
 \hat{U} &= e^{-i\hat{H}t} \cdot e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \cdot e^{-i\hat{H}t} \\
 &= e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i(\Omega_S t)\hat{S}_z} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} \cdot e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \cdot e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i(\Omega_S t)\hat{S}_z} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i(\Omega_S t)\hat{S}_z} \cdot e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \cdot e^{-i(\Omega_S t)\hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i(\Omega_S t)\hat{S}_z} \cdot \left( e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \cdot e^{-i(\Omega_S t)\hat{S}_z} \cdot e^{i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \right) e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i(\Omega_S t)\hat{S}_z} \cdot \left( e^{i(\Omega_S t)\hat{S}_z} \right) e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} \left( e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} e^{i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \right) e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i(\Omega_I t)\hat{I}_z} \left( e^{i(\Omega_I t)\hat{I}_z} \right) e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} = e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} \left( e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} e^{-i2\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \right) e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} = e^{-i4\pi J t \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \quad (16.4)
 \end{aligned}$$

結局、 $\hat{U}$  は  $I$  スピンと  $S$  スピンに同時に  $180^\circ_x$  を照射し、その後  $2\pi J \cdot \hat{I}_z \hat{S}_z$  項で  $2t$  時間展開することと同じ操作である。最初の状態が  $-\hat{I}_y$  であれば、

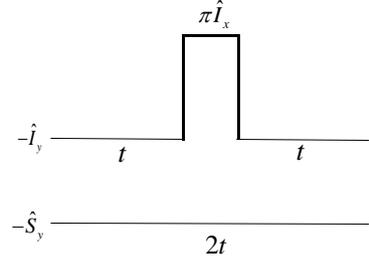
$$\underline{-\hat{I}_y} \quad \underline{\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \quad \underline{\hat{I}_y} \quad \underline{4\pi J t \cdot \hat{I}_z \hat{S}_z} \quad \cos(2\pi J t) \hat{I}_y - \sin(2\pi J t) 2\hat{I}_x \hat{S}_z \quad (16.5)$$

従って、展開時間を  $t=1/(4J)$  に設定すると、 $-2\hat{I}_x \hat{S}_z$  という anti-phase SQ-coherence 状態になり、他方  $t=1/(2J)$  にすると、 $-\hat{I}_y$  という in-phase SQ-coherence を生成する。

## (3) 異種核 2 スピン系のスピンエコー

$I$  スピンと  $S$  スピンが例えば  $^1\text{H}$  ( $I$ ) と  $^{15}\text{N}$  ( $S$ ) のように、共鳴周波数が大きく異なる

る 2 スピンの場合は、片方だけに選択的にスピネコーパルス照射することが可能である。 $-\hat{I}_y$  だけに  $180^\circ_x$  のスピネコーを照射したとする。 $180^\circ$ パルスの幅は十分短いので、S スピンの展開時間を  $2t$  と考えてよい。I と S スピン間の  $J$ -結合項を含む  $\hat{H} = \Omega_I \hat{I}_z + \Omega_S \hat{S}_z + 2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z$  を用いて  $\hat{U}$  を表し、式(16.2)を用いて、それをあらかじめ簡単化しておこう。



$$\begin{aligned}
 \hat{U} &= e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i\Omega_I \hat{I}_z} e^{-i\Omega_S \hat{S}_z} e^{-i\pi \hat{I}_x} e^{-i\Omega_S \hat{S}_z} e^{-i\Omega_I \hat{I}_z} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i\Omega_S 2t \hat{S}_z} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i\Omega_I \hat{I}_z} e^{-i\pi \hat{I}_x} e^{-i\Omega_I \hat{I}_z} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i\Omega_S 2t \hat{S}_z} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i\Omega_I \hat{I}_z} \left( e^{-i\pi \hat{I}_x} e^{-i\Omega_I \hat{I}_z} e^{i\pi \hat{I}_x} \right) e^{-i\pi \hat{I}_x} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} \\
 &= e^{-i\Omega_S 2t \hat{S}_z} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i\pi \hat{I}_x} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} = e^{-i\Omega_S 2t \hat{S}_z} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} \left( e^{-i\pi \hat{I}_x} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{i\pi \hat{I}_x} \right) e^{-i\pi \hat{I}_x} \\
 &= e^{-i\Omega_S 2t \hat{S}_z} e^{-i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{i2\pi J \hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i\pi \hat{I}_x} = e^{-i\Omega_S 2t \hat{S}_z} e^{-i\pi \hat{I}_x} \quad (16.6)
 \end{aligned}$$

この結果、初期状態が  $-\hat{I}_y$  と  $-\hat{S}_y$  の場合、I スピンは  $180^\circ_x$  反転するだけで、S スピンは I スピンとのカップリングが消失した状態で、 $2t$  時間展開することになる。そのため、I スピンに照射した  $180^\circ_x$  パルスはデカップリング・パルスと呼ばれる。

## 17. INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer)

コヒーレンス移行を巧みに応用したパルス列で、感度の低い核スピンの NMR 信号を感度の高い核スピンの核に移して測定する実験法である。 $^{13}\text{C}$  や  $^{15}\text{N}$  核は  $\gamma$  値が  $^1\text{H}$  核に比べて小さいため、横磁化の値が小さくなり、NMR 信号のレベルが低くなる。

$$\gamma_{^{15}\text{N}} \approx (1/10)\gamma_{^1\text{H}}, \quad \gamma_{^{13}\text{C}} \approx (1/4)\gamma_{^1\text{H}}$$

そこで、I スピン ( $^1\text{H}$  とする) と S スピン ( $^{15}\text{N}$  とする) に、それぞれ図 12 のようなパルス列を照射する。最初の  $90^\circ_x$  パルスで  $-\hat{I}_y$  が生成された後、I と S は異種核ではあるが、スピネコーを起こす  $180^\circ$  パルスが I, S スピンの両方に照射されているので、同種核スピネコーと同じ結果になる。従って、変換演算子は  $\hat{U} = e^{-i2\pi J(2\tau)\hat{I}_z \hat{S}_z} e^{-i\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)}$  と表され、パルス列によるスピン状態の変化は次のようになる。

$$-\hat{I}_y \xrightarrow{\pi(\hat{I}_x + \hat{S}_x)} \hat{I}_y \xrightarrow{4\pi J\tau \hat{I}_z \hat{S}_z} \cos(2\pi J\tau)\hat{I}_y - \sin(2\pi J\tau) \cdot 2\hat{I}_x \hat{S}_z$$

続いて、 $(\pi/2)(\hat{I}_y + \hat{S}_x)$  というパルス照射すると状態は次のように表される。

$$\frac{(\pi/2)(\hat{I}_y + \hat{S}_x)}{\hat{I}_z} \cos(2\pi J\tau)\hat{I}_y - \sin(2\pi J\tau)2\hat{I}_z\hat{S}_y \quad (17.1)$$

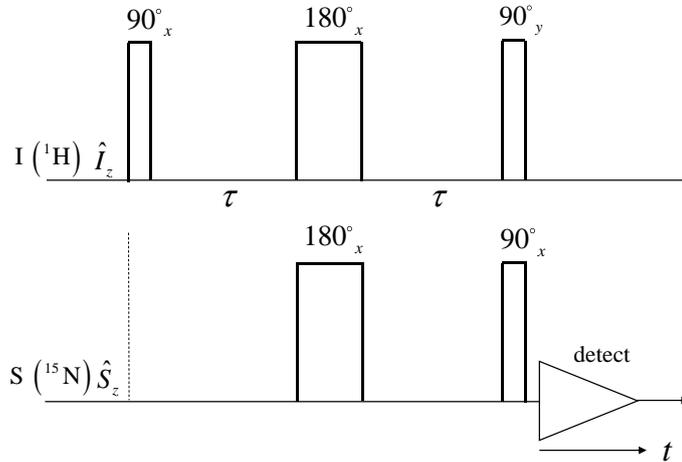


図 12 INEPT パルス列

つまり、 $(\pi/2)(\hat{I}_y + \hat{S}_x)$  というパルス照射によって、 $2\hat{I}_x\hat{S}_z$  から  $2\hat{I}_z\hat{S}_y$  へと状態変化させ、**I** スピンから **S** スピンへのコヒーレンス移行を起こさせたことになる。**S** スピンの FID 信号を観測しているのので、式(17.1)の  $\hat{I}_y$  という項は無視してよい。 $\tau = 1/(4J)$  に選ぶと、 $-2\hat{I}_z\hat{S}_y$  という項だけが残る。その結果、anti-phase doublet という **S** スピンの NMR スペクトルが観測される。重要な点は、最初に **I** スピンの横磁化  $\hat{I}_y$  を生成して、 $2\tau$  時間経過後の両スピンへの  $90^\circ$  パルスによって、**I** スピンから **S** スピンへのコヒーレンス移行を起こしたことによって、 $2\hat{I}_z\hat{S}_y$  項の振幅には **I** スピンの熱平衡状態由来の  $K_I = -\hbar\omega_I/2k_B T$  という係数が掛かっていることである。 $\omega_I$  は **I** スピンの  $\gamma_{1H}$  に比例している。一方、単に **S** スピンだけを  $90^\circ$  倒して **S** スピンの FID 信号を測定すると、**S** スピンの  $K_S = -\hbar\omega_S/2k_B T$  が振幅に掛かっているのので、NMR 信号の大きさは  $\gamma_{15N}$  に比例する。つまり、**I** スピンから **S** スピンへのコヒーレンス移行を取り入れたパルス列では NMR 信号の大きさが  $\gamma$  の比 (約 10 倍) だけ増幅されていることになる。感度の低い核の NMR 信号を観測したいときに、感度を容易に増強させることができる有効な測定法である。そのため、このパルス列は INEPT (**I**nsensitive **N**uclei **E**nhanced by **P**olarization **T**ransfer) と呼ばれる。

## 18. Refocused INEPT

INEPT パルスによって得られる  $2\hat{I}_z\hat{S}_y$  という項は、デカップルしないで観測すると、S スピンの anti-phase doublet という NMR 信号を与えるが、I スピンをデカップリングしながら観測すると I スピンの z 成分が反転を繰り返し、J 値がゼロになるため 2 重線が重なり合って NMR 信号は消失する。そこで図 13 に示したように、INEPT パルス列のすぐあとに再び同種核のスピンのエコーを加えて、 $-2\hat{I}_z\hat{S}_y$  を  $\hat{S}_x$  に変換し、I スピンをデカップリングしながら、これを観測することによって NMR 信号を得る。そのプロセスを詳しく説明しよう。I と S スピンの両方に  $180^\circ_x$  を照射しても  $-2\hat{I}_z\hat{S}_y$  の符号は変化しないので、最後の同種核スピンのエコーによる状態変化は以下のように書ける。

$$-2\hat{I}_z\hat{S}_y \xrightarrow{4\pi J\tau \cdot \hat{I}_z\hat{S}_z} -2\cos(2\pi J\tau)\hat{I}_z\hat{S}_y + \sin(2\pi J\tau)\hat{S}_x \quad (18.1)$$

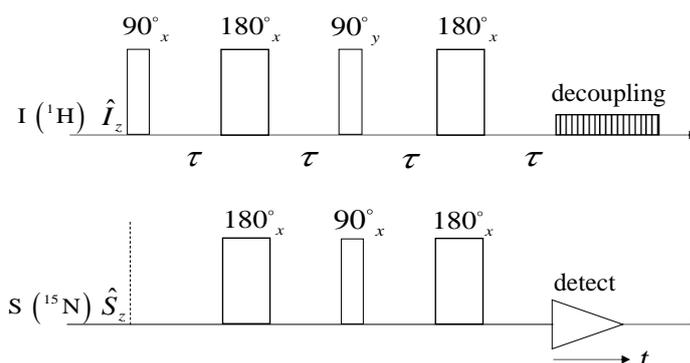


図 13 Refocused INEPT パルス列

$2\hat{I}_z\hat{S}_y$  という項は I スピンをデカップリングしながら観測すると前記のように消滅する。I スピンをデカップリングしながら  $\hat{S}_x$  という in-phase SQ-coherence を観測すると、2 重共鳴線が重なり合って強度が 2 倍の 1 重共鳴線 (周波数  $\Omega_S$ ) が得られる。INEPT と同様、I スピンの熱平衡状態由来の  $K_I$  に比例する NMR 信号となるので、S スピンの共鳴線でありながら振幅は I スピンに相当する強度の信号が得られる。

<注> 第 2 の  $90_y$  パルス後に残っている式(17.1)中の  $\hat{I}_y$  という項は、最後のスピンのエコー後も S スピンのコヒーレンスを生成しないので考慮しなくてよい。

## 第II章 2次元 NMR スペクトル

NMR 現象の物理的基礎である核スピンの運動について、密度演算子  $\hat{\rho}$  の時間変化を追跡しながら量子力学的に厳密に考察してきた。種々のコヒーレンス状態 (in-phase SQ, anti-phase SQ, ZQ-, DQ-coherence) がスカラーカップリング項を含むハミルトニアンのもとで、どのように時間発展するか、また、スピンエコーパルスによってどのように状態変化するかなどについて、丁寧に数式変化を追って説明してきた。これからは、数学的に厳密な説明を少し省きながら、実際に用いられる多次元 NMR 測定法の原理について、 $\hat{\rho}$  の時間変化をスピン磁化ベクトルの運動と対比させながら直感的な理解が得られるよう解説する。

タンパク質 NMR は、いろいろの方向から  $90^\circ$  パルスや  $180^\circ$  パルスを照射して、核スピンの状態を、その位相まで含めて自在に制御しながら測定することができる類まれな分光法である。スカラーカップリングしたスピン間の  $J$ -結合を通して、他の核スピンへコヒーレンスを移動させ、意図的にまたそれを自分に戻すということができる。それを巧みに利用して 2 次元、3 次元という多次元 NMR 測定法が開発された。タンパク質のような巨大分子のプロトン NMR がはじめて十分な分解能を得られるようになったのは、スペクトル測定 of 多次元化のおかげである。これらの測定法の物理的原理を知ることがタンパク質 NMR の真髄を知ることになるという観点から多次元 NMR 分光法を概説する。

種々のパルス照射によって、スピンの状態を表す  $\hat{\rho}$  の中には、複雑な直積演算子の項が多数出現するが、オブザーバブルとしての FID 信号を発生しない項や、コヒーレンス選択プログラムによって巧みに消去できる項が存在する。はじめは、それらの項をあらかじめ除去できたものとして、パルスプログラムに必要な演算子だけを取り上げて説明する。必要なコヒーレンス項だけを選択的に残すために有効な方法である位相回し (phase cycling) や磁場勾配パルス (field gradient pulse) という方法は、原理的にも興味深い問題なので、第 3 章で詳しく考察する。

## 19. FID 信号の位相検波

実際の NMR 測定においては、 $90^\circ$ パルスで  $xy$  平面に倒れたスピンの横磁化の自由歳差運動を検出コイルで電気信号として観測し、それをコンピュータのメモリーに格納する。横磁化は局所磁場の揺らぎによって次第に緩和してゼロに近づく。横緩和時間を  $T_2$  とすると、観測される信号は  $\cos \omega_0 t \cdot e^{-t/T_2}$  に比例する（初期位相をゼロとすれば）。ここで  $\omega_0 (< 0)$  は実験室系における Lamor 周波数である。スピンの自由歳差運動による緩和信号なので、自由誘導減衰(**Free Induction Decay**)信号と呼ばれる。今後はこれを FID 信号と呼ぶ。FID 信号を参照周波数  $|\omega_{rf}|$  の検波器を通すと、次のように変換され、

$$\cos(\omega_0 t) \cdot \cos(|\omega_{rf}| t) = \frac{1}{2} \left[ \cos(\omega_0 + |\omega_{rf}|) t + \cos(\omega_0 - |\omega_{rf}|) t \right] \quad (19.1)$$

ローパスフィルターを通過させると、 $\cos(\omega_0 + |\omega_{rf}|) t$  に比例する信号が観測される ( $\because \omega_0 < 0$ )。検波器の参照周波数  $|\omega_{rf}|$  は  $rf$ -パルスの振動数に等しく選ばれる。 $\omega_{rf} = -|\omega_{rf}| < 0$  が  $Z$  軸のまわりを負の向きに回る回転座標系の角速度であることを考慮すると、 $\cos(\omega_0 + |\omega_{rf}|) t = \cos(\Omega t)$  と表せて、 $\Omega = \omega_0 - \omega_{rf}$  は回転系で観測される横磁化の相対角速度である。 $\cos(\Omega t)$  は横磁化の  $x$  成分  $M_x$  を表す。 $\Omega$  の符号を判別するためには、横磁化の  $y$  成分  $M_y$  を知る必要がある。FID 信号を検波する際に、直交位相検波 (quadrature detection) を行って  $M_y$  を求める。その方法は以下の通りである。

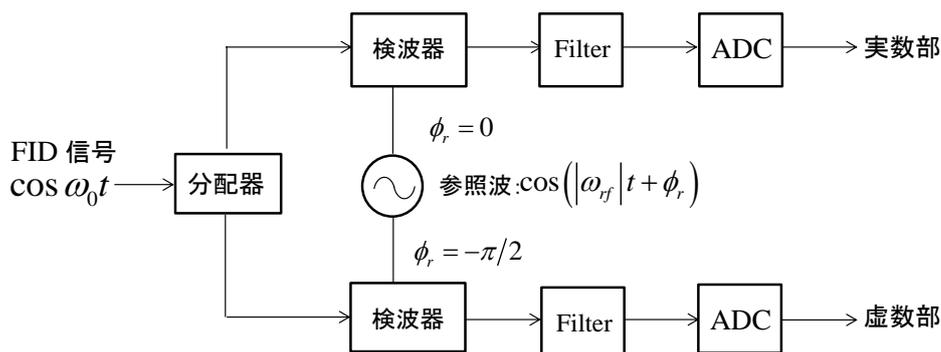


図 14 Quadrature Detection の原理

図 14 のように、信号を分配器で 2 つに分け、一方を位相差ゼロの参照波  $\cos(|\omega_{rf}| t)$  と混合し、他方を位相差  $(-\pi/2)$  の参照波  $\cos(|\omega_{rf}| t - \pi/2) = \sin|\omega_{rf}| t$  と混合して検波し、

ローパスフィルターを通過後、複素数化してメモリーに記録する。

$$\begin{aligned}
 & \cos(\omega_0 t) \xrightarrow{\text{splitter}} \cos(\omega_0 t) + i \cos(\omega_0 t) \xrightarrow{\text{mixer}} \cos(\omega_0 t) \cos(|\omega_{rf}| t) + i \cos(\omega_0 t) \sin(|\omega_{rf}| t) \\
 & = (1/2) \left[ \cos(\omega_0 + |\omega_{rf}|) t + \cos(\omega_0 - |\omega_{rf}|) t \right] + (i/2) \left[ \sin(\omega_0 + |\omega_{rf}|) t - \sin(\omega_0 - |\omega_{rf}|) t \right] \\
 & \xrightarrow{\text{lowpass filter}} (1/2) \left[ \cos(\omega_0 + |\omega_{rf}|) t + i \sin(\omega_0 + |\omega_{rf}|) t \right] = (1/2) e^{i(\omega_0 + |\omega_{rf}|) t} = (1/2) e^{i\Omega t} \quad (19.2)
 \end{aligned}$$

式(19.2)に示した複素 FID 信号の実数部は回転座標系において観測される横磁化の  $M_x$  成分を表し、虚数部は  $iM_y$  に対応する。すなわち、quadrature detection によって得られた複素 FID 信号は、 $\hat{\sigma}$  と演算子  $\hat{I}^+ = \hat{I}_x + i\hat{I}_y$  を用いて表される横磁化の観測値  $\langle M^+ \rangle = \text{Tr} \{ \hat{\sigma} \hat{I}^+ \}$  に対応している。

$T_2$  緩和の影響も考慮した FID 信号  $S(t) = e^{-t/T_2} \cdot e^{i\Omega t}$  を複素フーリエ変換すると、

$$S_{\Omega}(\omega) = \int_0^{\infty} e^{i\Omega t} \cdot e^{-t/T_2} \cdot e^{-i\omega t} dt = A_{\Omega}(\omega) + iD_{\Omega}(\omega) \quad (19.3)$$

$$A_{\Omega}(\omega) = \frac{T_2}{1 + T_2^2 (\Omega - \omega)^2}, \quad D_{\Omega}(\omega) = \frac{T_2^2 (\Omega - \omega)}{1 + T_2^2 (\Omega - \omega)^2} \quad (19.4)$$

$A_{\Omega}(\omega)$  は吸収型スペクトル、 $D_{\Omega}(\omega)$  は分散型スペクトルと呼ばれて、NMR スペクトルの形は下図のようになる。

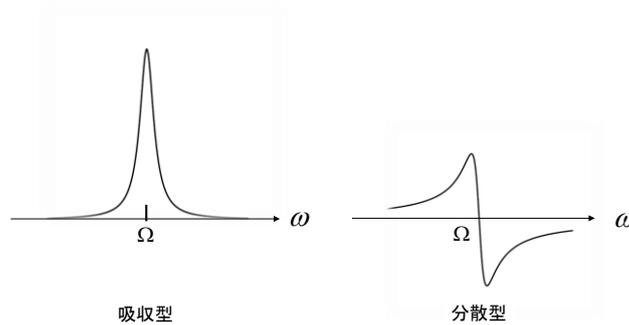


図 15 吸収型、分散型のスペクトル

現実の FID 信号には、 $rf$ -パルスの off-resonance 効果 (様々なオフセット周波数をもつスピンの共存しているため、on-resonance ( $\Omega = 0$ ) のスピンの  $y$  軸まわりの  $90^\circ$  パルス

で厳密に  $x$  軸上にくるときでも、他の off-resonance スピンに対しては、回転座標系の  $z$  軸方向に残留する小さな磁場成分のために、 $rf$ -パルス照射中に  $z$  軸まわりに僅かに回転して初期位相にばらつきが起きる現象) や  $rf$ -パルス、直交位相検波器などの不完全性に起因する未知の位相  $e^{i\delta}$  が残っている。そのためフーリエ変換後のスペクトルは式 (19.3) に因子  $e^{i\delta}$  がかかった  $e^{i\delta} [A_{\Omega}(\omega) + iD_{\Omega}(\omega)]$  となる。従って、

$$S_{\Omega}(\omega) = \cos \delta \cdot A_{\Omega}(\omega) - \sin \delta \cdot D_{\Omega}(\omega) + i [\cos \delta \cdot D_{\Omega}(\omega) + \sin \delta \cdot A_{\Omega}(\omega)] \quad (19.5)$$

という形になる。通常 NMR 分光計では、 $S_{\Omega}(\omega)$  の実数部が表示されるため、 $\delta \neq 0$  の場合には、吸収型と分散型のスペクトルが混合されたものになる。そのため、フーリエ変換後のスペクトルデータに、 $\omega$  に依存した適切な位相補正をして (下記の注参照)、どの周波数  $\omega$  でも  $\delta = 0$  となるように調整して完全な吸収型のスペクトルを得る。

<注> フーリエ変換後のスペクトルに未知の位相のずれを打ち消す因子  $e^{-i\delta}$  を掛ければよいが、off-resonance 効果による位相のずれはオフセット周波数  $\Omega$  に比例しているので、観測された NMR スペクトルの両端の  $\Omega_h$  と  $\Omega_l$  で共鳴線が吸収型になるよう、オフセット周波数に比例する補正用の位相因子:  $e^{-i(a\Omega+b)}$  を掛けて調整し、周波数領域全体にわたって吸収型のスペクトルとなるよう補正する。実際には、補正されたスペクトルをモニター画面上で確認しながら補正因子  $a, b$  を決める。

## 20. COSY (Correlation Spectroscopy)

スピン結合した 2 つの核スピン  $I_1, I_2$  の系について考察してみよう。COSY と呼ばれる 2 次元 NMR スペクトルを得るためのパルスプログラムを図 16 に示す。2 つの  $90^\circ$  パルス間の待ち時間  $t_1$  は展開時間と呼ばれる。オフセット周波数で横磁化を  $t_1$  時間展開した後、第 2 のパルスが照射され、観測核の FID 信号が時間変数  $t_2$  の関数として測定・記録される。第 2 のパルスは読み出しパルスと呼ばれる。  $t_1$  の様々な値を設定してパルスプログラムを実行した結果、観測される FID 信号は、2 変数  $t_1, t_2$  の関数  $f(t_1, t_2)$  となるので、2 次元 NMR と呼ばれる。

$I_1$  と  $I_2$  という 2 スピンの場合、 $\hat{\sigma}$  の状態変化を具体的に追跡してみよう。

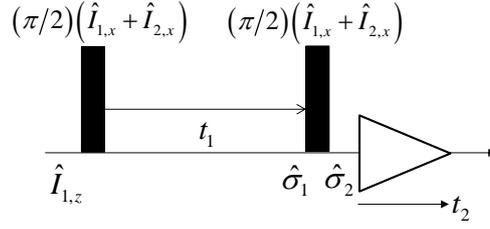


図 16 COSY のパルスプログラム。今後、黒色のパルスは特に断らない限り  $90^\circ_x$  パルスを表す。最後の三角形は  $t_2$  軸上の FID データを読み込む過程を示す。

$\hat{\sigma}^{eq}$  内の  $\hat{I}_{1,z}$  という項の時間発展を考える ( $\hat{I}_{2,z}$  にも同様の式が成り立つ)。 $\hat{I}_{1,z}$  に  $90^\circ_x$  パルスを照射すると状態は  $-\hat{I}_{1,y}$  になり、それが  $\hat{H} = \Omega_1 \hat{I}_{1,z} + \Omega_2 \hat{I}_{2,z} + 2\pi J \hat{I}_{1,z} \hat{I}_{2,z}$  のもとで  $t_1$  時間発展して  $\hat{\sigma}_1$  という状態になる。12 節において、 $90^\circ_y$  パルス照射後の  $\hat{I}_{1,x}$  の自由歳差運動を考察したが、その結果を参考にするとよい。

$$\hat{\sigma}^{eq} = \hat{I}_{1,z} \xrightarrow{\pi/2 \cdot \hat{I}_{1,x}} -\hat{I}_{1,y} \xrightarrow{\Omega_1 t_1 \hat{I}_{1,z}} \xrightarrow{2\pi J t_1 \hat{I}_{1,z} \hat{I}_{2,z}} \hat{\sigma}_1 \quad (20.1)$$

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}_1 = & -\cos(\Omega_1 t_1) \cos(\pi J t_1) \hat{I}_{1,y} + \cos(\Omega_1 t_1) \sin(\pi J t_1) 2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,z} \\ & + \sin(\Omega_1 t_1) \cos(\pi J t_1) \hat{I}_{1,x} + \sin(\Omega_1 t_1) \sin(\pi J t_1) 2\hat{I}_{1,y} \hat{I}_{2,z} \end{aligned} \quad (20.2)$$

第 2 の  $90^\circ$  パルスによって  $\hat{\sigma}_2$  という状態になる。

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}_1 & \xrightarrow{(\pi/2)(\hat{I}_{1,x} + \hat{I}_{2,x})} \hat{\sigma}_2 \\ \hat{\sigma}_2 = & -\cos(\Omega_1 t_1) \cos(\pi J t_1) \hat{I}_{1,z} - \cos(\Omega_1 t_1) \sin(\pi J t_1) 2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,y} \\ & + \sin(\Omega_1 t_1) \cos(\pi J t_1) \hat{I}_{1,x} - \sin(\Omega_1 t_1) \sin(\pi J t_1) 2\hat{I}_{1,z} \hat{I}_{2,y} \end{aligned} \quad (20.3)$$

$\hat{\sigma}_2$  の第 1 項はコヒーレンス次数がゼロ、第 2 項は  $D\hat{Q}_y - Z\hat{Q}_y$  であるので、どちらも NMR 信号  $\langle M^+ \rangle \propto Tr\{\hat{\sigma} \hat{I}^+\}$  を発生しない。 $\Omega_1^+ \equiv \Omega_1 + \pi J$ ,  $\Omega_1^- \equiv \Omega_1 - \pi J$  とすると、第 3 項、第 4 項は次のように表される。

$$\begin{aligned} \text{第 3 項} & + \sin(\Omega_1 t_1) \cos(\pi J t_1) \hat{I}_{1,x} = (1/2) [\sin(\Omega_1^+ t_1) + \sin(\Omega_1^- t_1)] \hat{I}_{1,x} \\ \text{第 4 項} & - \sin(\Omega_1 t_1) \sin(\pi J t_1) 2\hat{I}_{1,z} \hat{I}_{2,y} \\ & = (1/2) [\cos(\Omega_1^+ t_1) - \cos(\Omega_1^- t_1)] 2\hat{I}_{1,z} \hat{I}_{2,y} \end{aligned} \quad (20.4)$$

第 3 項は  $\hat{I}_{1,x}$  の in-phase SQ なので、 $t_2$  軸上の FID 信号は周波数  $\Omega_1^\pm$  の in-phase doublet になり、 $t_1$  軸でも共鳴周波数は  $\Omega_1^\pm$  なので、フーリエ変換後の 2 次元スペクトルは対角線上の  $(\omega_1, \omega_2) = (\Omega_1^\pm, \Omega_1^\pm)$  の位置に共鳴ピークが現れる。そのため対角ピークと呼ば

れる。一方、第4項の  $2\hat{I}_{1,z}\hat{I}_{2,y}$  は横磁化が  $I_2$  なので  $t_2$  軸上では共鳴周波数が  $\Omega_2^\pm$  となり、 $t_1$  軸上では共鳴周波数が  $\Omega_1^\pm$  である。従って、2次元スペクトル上の  $(\omega_1, \omega_2) = (\Omega_1^\pm, \Omega_2^\pm)$  という交点に共鳴ピークが現れるので交差ピークと呼ばれる。

さらに共鳴スペクトルの位相と振幅の符号について考察してみよう。交差ピークの方は、演算子が  $2\hat{I}_{1,z}\hat{I}_{2,y}$  と anti-phase SQ であり、かつ横磁化の初期位相が  $y$  軸なので quadrature detection の結果、複素数化された FID 信号は  $(i/2)(e^{i\Omega_2^+t_2} - e^{i\Omega_2^-t_2})$  となる

(13節の  $2\hat{I}_y\hat{S}_z$  に対する結果を参照)。これを吸収型のスペクトルにするために位相補正因子  $(-i)$  を掛けると、FID 信号は  $(1/2)(e^{i\Omega_2^+t_2} - e^{i\Omega_2^-t_2})$  となり、 $t_2$  に関して複素フーリエ変換を行い、その実数部をスペクトルとして表示すと、 $\omega_2$  軸上の  $\Omega_2^\pm$  の位置に anti-phase doublet の吸収型共鳴線を与え、 $(1/2)[A_{\Omega_2^+}(\omega_2) - A_{\Omega_2^-}(\omega_2)]$  と表される。

一方、 $t_1$  軸上の信号の振幅は、 $t_2$  軸上の FID 信号と違って複素数化されていないので、フーリエ変換は「cos フーリエ変換」(下記の注参照) が施される。交差ピークの振幅が  $\cos(\Omega_1^\pm t_1)$  なので、cos フーリエ変換すると  $(1/2)[A_{\Omega_1^+}(\omega_1) - A_{\Omega_1^-}(\omega_1)]$  という吸収型のスペクトルになる。ただし、 $t_1$  軸データのフーリエ変換スペクトルには注意すべき点がある。 $\cos(\Omega t_1)$  という FID データは  $t_2$  軸のデータと違って複素数化されていないので、基本的に  $\Omega$  の符号は識別できない。通常、オフセット周波数  $\Omega$  は正の場合も負の場合もありうる。従って、下記注でも指摘するように、フーリエ変換後、 $\omega = \pm|\Omega|$  という対称的な位置に2つ共鳴線が現れ、どちらを選ぶべきか区別できない。それを避けるためには28節で述べるような方法で、 $t_1$  軸の周波数を識別するための対策が必要である。しかし今は、説明が長くなるのでオフセット周波数が必ず正となるように  $\omega_f$  が設定されているとして説明を続ける。

$t_2$  軸と  $t_1$  軸のデータのフーリエスペクトルの積をとると、

$$(1/2)[A_{\Omega_1^+}(\omega_1) - A_{\Omega_1^-}(\omega_1)] \times (1/2)[A_{\Omega_2^+}(\omega_2) - A_{\Omega_2^-}(\omega_2)] \quad (20.5)$$

この結果、図17に示したように、共鳴ピークを等高線プロットすると、 $(\omega_1, \omega_2) = (\Omega_1^\pm, \Omega_2^\pm)$  の位置に正負の吸収型ピークが交互に現れる。2次元 NMR スペクトルを表示するときは、 $\omega_1$  軸を下向きに  $\omega_2$  軸を左向きに選ぶ習慣があるので、図17はその習慣に従っている。一方、対角ピークの方は  $\hat{I}_{1,x}$  なので、 $t_2$  軸上の FID 信号は in-phase doublet の  $(1/2)(e^{i\Omega_1^+t_2} + e^{i\Omega_1^-t_2})$  となり、交差ピークを吸収型にするために掛けた位相補正因子  $(-i)$  の影響を受けて、複素フーリエ変換後の  $\omega_2$  軸上のスペクトルは分散型とな

る。また  $t_1$  軸の信号は  $\sin(\Omega_1^\pm t_1)$  なので、交差ピークのと看同じ  $\cos$  フーリエ変換をすると、 $\omega_1$  軸に沿っても同じく分散型のスペクトルとなる(注参照)。従って、2次元 NMR スペクトルは次のように表される。

$$(1/2) \left[ D_{\Omega_1^+}(\omega_1) + D_{\Omega_1^-}(\omega_1) \right] \times (1/2) \left[ D_{\Omega_2^+}(\omega_2) + D_{\Omega_2^-}(\omega_2) \right] \quad (20.6)$$

すなわち、 $(\omega_1, \omega_2) = (\Omega_1^\pm, \Omega_2^\pm)$  の位置に4つとも同符号の分散型のピークとなる。

$\hat{I}_{2,z}$  を  $90^\circ$  倒した  $-\hat{I}_{2,y}$  に対しても同様の事が起きているので、 $t_1$  軸が周波数  $\Omega_2^\pm$  でラベルされた FID 信号が得られる。その結果、 $(\omega_1, \omega_2) = (\Omega_2^\pm, \Omega_1^\pm)$  の位置に交差ピーク、 $(\omega_1, \omega_2) = (\Omega_2^\pm, \Omega_2^\pm)$  の位置に対角ピークが現れる。

結局、図 17 のように交差ピークは正と負の吸収型ピーク、対角ピークはすべて正の分散型ピークとなる。分散型のスペクトルは吸収型に比べて裾を長く引くので2重線が重なって分解能が非常に悪くなるという欠陥がある。この問題を解決するために、つぎに述べるような Double Quantum Filtered COSY (DQF-COSY) というパルスプログラムが開発された。

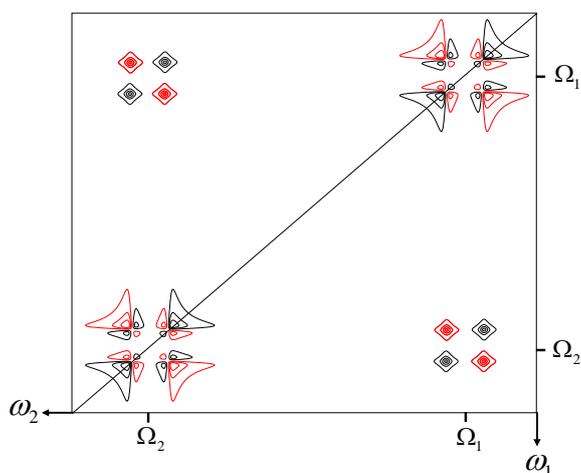


図 17 COSY スペクトル。交差ピークが吸収型、対角ピークが分散型。黒は振幅が正、赤は振幅が負のピークを表す。 $\omega_1$  軸、 $\omega_2$  軸の向きが通常とは反対に選ばれていることに注意する。

<注>  $t_2$  軸で取り込まれる FID 信号は quadrature detection によって複素数化されている。そのため、複素フーリエ変換して、スペクトル表示される。一方、 $t_1$  軸上の信号は複素数化されて

いないので、 $\cos$  フーリエ変換をしてスペクトル表示する。 $\cos(\Omega t) \cdot e^{-Rt}$  を  $\cos$  フーリエ変換すると、下記のように吸収型のスペクトルになる。

$$\int_0^{\infty} \cos(\Omega t) \cos(\omega t) \cdot e^{-Rt} dt = \frac{1}{2} \left[ \frac{R}{R^2 + (\Omega - \omega)^2} + \frac{R}{R^2 + (\Omega + \omega)^2} \right] = \frac{1}{2} [A_{\Omega}(\omega) + A_{-\Omega}(\omega)] \quad (20.7)$$

つまり、共鳴線は  $\omega = |\Omega|$  と  $\omega = -|\Omega|$  の位置に現れ、 $\Omega$  の符号は識別できないことを示している。式(20.5)では、 $\Omega$  が正であると想定し第 1 項だけを残し、第 2 項を無視した。

一方  $\sin(\Omega t) \cdot e^{-Rt}$  を  $\cos$  フーリエ変換すると、分散型のスペクトルになる。

$$\int_0^{\infty} \sin(\Omega t) \cos(\omega t) \cdot e^{-Rt} dt = \frac{1}{2} \left[ \frac{\Omega - \omega}{R^2 + (\Omega - \omega)^2} + \frac{\Omega + \omega}{R^2 + (\Omega + \omega)^2} \right] = \frac{1}{2} [D_{\Omega}(\omega) + D_{-\Omega}(\omega)] \quad (20.8)$$

この場合も、 $\Omega > 0$  と仮定し式(20.6)では第 1 項だけを残し、第 2 項を無視した。

## 21. DQF-COSY (Double Quantum Filtered COSY)

図 18 のように通常の COSY のパルス列に第 3 の  $90^\circ$  パルスを加えて測定を行う実験が DQF-COSY と呼ばれるパルスプログラムである。直積演算子を用いて  $\hat{\sigma}$  の時間

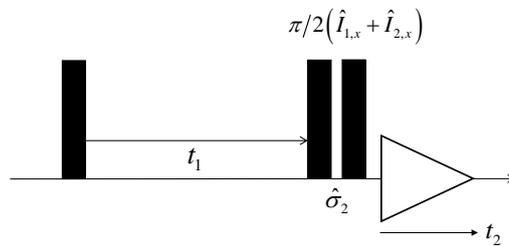


図 18 DQF-COSY のパルスプログラム。

展開を追いながら DQF-COSY パルス列の要点を説明しよう。第 2 のパルス照射後の状態  $\hat{\sigma}_2$  は COSY のときとまったく同じである。式(20.3)内の各項の直積演算子にはコヒーレンス次数というものが定義されていて(コヒーレンス次数の定義は 3 章で詳しく説明する)、 $\hat{\sigma}_2$  の第 1 項の  $z$  磁化はコヒーレンス次数がゼロ ( $p = 0$  と表す)、第 2 項の 2 量子コヒーレンスは  $p = 2$  と  $p = 0$  の混合、第 3 項の in-phase SQ-coherence は  $p = \pm 1$  の混合、第 4 項の anti-phase SQ-coherence も同様に  $p = \pm 1$  が混合したものである。

DQF-COSY というパルスプログラムにおいては、この4つの直積演算子の内、コヒーレンス次数  $p = \pm 2$  の項だけを選択的に残し、他の項を消去する。必要な直積演算子の項だけを選択的に残す便利な方法が「位相回し(phase cycling)」と呼ばれるものである。この方法については次章で詳しく説明するが、今はコヒーレンス選択が出来たものとして、パルスプログラムの特徴の説明を続ける。

「位相回し」によって、選択的に残される項は第2項だけである。

$$-\cos(\Omega_1 t_1) \sin(\pi J t_1) 2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,y} = -\cos(\Omega_1 t_1) \sin(\pi J t_1) [D\hat{Q}_y - Z\hat{Q}_y] \quad (21.1)$$

さらに  $Z\hat{Q}_y$  ( $p = 0$ ) という項も消去されて、

$$D\hat{Q}_y = \frac{1}{2i} (\hat{I}_1^+ \hat{I}_2^+ - \hat{I}_1^- \hat{I}_2^-) = \frac{1}{2} (2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,y} + 2\hat{I}_{1,y} \hat{I}_{2,x}) \quad (21.2)$$

という、 $p = \pm 2$  の項だけが残されるので、このパルスプログラムは **Double Quantum Filtered COSY** と呼ばれる。第3のパルスによってこの項は次式になる。

$$D\hat{Q}_y = \frac{\pi}{2} (\hat{I}_{1,x} + \hat{I}_{2,x}) \cdot \frac{1}{2} (2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,z} + 2\hat{I}_{1,z} \hat{I}_{2,x}) \quad (21.3)$$

従って、 $\cos(\Omega_1 t_1) \sin(\pi J t_1) = 1/2 \cdot [\sin(\Omega_1^+ t_1) - \sin(\Omega_1^- t_1)]$  であることを考慮すると、 $-(1/4) [\sin(\Omega_1^+ t_1) - \sin(\Omega_1^- t_1)] \cdot (2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,z} + 2\hat{I}_{1,z} \hat{I}_{2,x})$  が観測される。 $t_2$  軸に関しては、どちらも **anti-phase SQ coherence** である。第1項は横磁化が  $I_1$  スピンなので対角ピーク、第2項は横磁化が  $I_2$  スピンなので交差ピークに対応する。 $t_2$  軸の FID 信号は、

$$(1/2) (e^{i\Omega_1^+ t_2} - e^{i\Omega_1^- t_2}) \text{ と } (1/2) (e^{i\Omega_2^+ t_2} - e^{i\Omega_2^- t_2}) \quad (21.4)$$

という複素数で表され、 $t_2$  軸でのフーリエ変換後は、対角、交差ピークとも、

$$(1/2) (A_{\Omega_1^+}(\omega_2) - A_{\Omega_1^-}(\omega_2)), (1/2) (A_{\Omega_2^+}(\omega_2) - A_{\Omega_2^-}(\omega_2)) \quad (21.5)$$

という **anti-phase doublet** の吸収型のスペクトルを与える。

$t_1$  軸に関しては両ピークとも同じ振幅で、**sin** フーリエ変換 (注参照) をすると、

$$(1/2) (A_{\Omega_1^+}(\omega_1) - A_{\Omega_1^-}(\omega_1)) \quad (21.6)$$

という吸収型のスペクトルになる。従って、2次元 NMR スペクトルは、

$$\begin{aligned} \text{対角} &: (1/2) (A_{\Omega_1^+}(\omega_1) - A_{\Omega_1^-}(\omega_1)) \times (1/2) (A_{\Omega_1^+}(\omega_2) - A_{\Omega_1^-}(\omega_2)) \\ \text{交差} &: (1/2) (A_{\Omega_1^+}(\omega_1) - A_{\Omega_1^-}(\omega_1)) \times (1/2) (A_{\Omega_2^+}(\omega_2) - A_{\Omega_2^-}(\omega_2)) \end{aligned} \quad (21.7)$$

となる。結局、DQF-COSY で得られた NMR スペクトルは交差ピークも対角ピークもともに正と負の吸収型のピークで表すことができる。 $I_2$  スピンにも同様の事が起きてい

るので、スペクトルは図 19 のようになる。実際、タンパク質にこのパルスプログラムが適用されたとき得られる 2 次元スペクトルは第 IV 章の図 38、39 に示されている。確かに、一つの交差ピークは明瞭な anti-phase doublet の 4 つのピークで示されている。

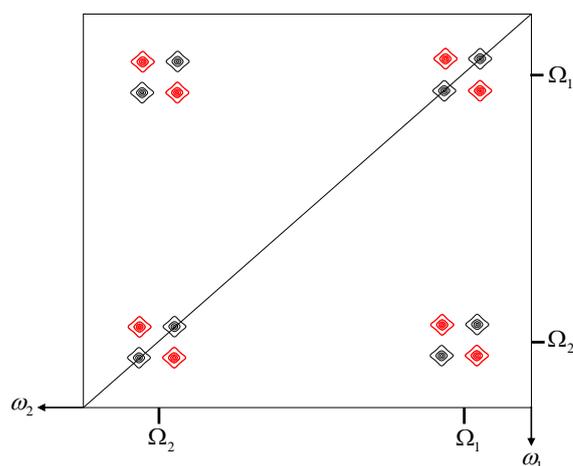


図 19 DQF-COSY スペクトル。交差ピーク、対角ピークとも吸収型になるため、COSY スペクトルに比べ特に対角ピークが明瞭に表示される。

<注>  $\sin(\Omega t) \cdot e^{-Rt}$  を sin フーリエ変換すると、 $\Omega > 0$  の場合

$$\int_0^{\infty} \sin(\Omega t) \sin(\omega t) \cdot e^{-Rt} dt = \frac{1}{2} \left[ \frac{R}{R^2 + (\Omega - \omega)^2} + \frac{R}{R^2 + (\Omega + \omega)^2} \right] = \frac{1}{2} A_{\Omega}(\omega) \quad (21.8)$$

一方、 $\cos(\Omega t) \cdot e^{-Rt}$  を sin フーリエ変換すると、 $\Omega > 0$  の場合

$$\int_0^{\infty} \cos(\Omega t) \sin(\omega t) \cdot e^{-Rt} dt = \frac{1}{2} \left[ -\frac{\Omega - \omega}{R^2 + (\Omega - \omega)^2} + \frac{\Omega + \omega}{R^2 + (\Omega + \omega)^2} \right] = -\frac{1}{2} D_{\Omega}(\omega) \quad (21.9)$$

## 22. HSQC (Hetero Nuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy)

COSY あるいは DQF-COSY は 3 つ以内の共有結合で連結されて隣接するプロトンの相関 NMR スペクトルを測定する方法であった (例えば  $N^1H-C_{\alpha}^1H$ )。その方法を、 $^1H$  とそれに結合した他の原子の核スピン (例えば  $^1H-^{15}N$ ) に拡張したものが HSQC スペクトルである。異種核スピン間の  $J$ -結合を利用して、共有結合で隣接している核スピ

ン間の NMR 現象を 2 次元 NMR スペクトルとして測定する方法である。タンパク質の場合は、 $^{15}\text{N}$  核スピント、それに共有結合している  $^1\text{H}$  核スピンの測定によく用いられる。 $^{15}\text{N}$  を含む培地で培養された菌体からタンパク質を抽出すると、一様に  $^{15}\text{N}$  置換された試料が得られる。ポリペプチド鎖の NH 基の NMR 測定に最適の方法である。タンパク質の場合、1 次元のプロトン NMR スペクトルは多数の  $^1\text{H}$  共鳴線が重なり合うため、 $B_0$  磁場を大きくして高分解能にする方法には限界があった。 $^{15}\text{N}$  の共鳴線を同時に測定することによって、スペクトルを 2 次元目 ( $^{15}\text{N}$  軸) の方向に展開し、プロトンの共鳴線の縮退を解くことが可能になったので、一気に高分解能のプロトン NMR スペクトルが得られるようになった (31 節の解説も参考になる)。

図 20 は HSQC スペクトルを測定するためのパルスプログラムを示している。異種核を励起するため、I を  $^1\text{H}$ 、S を  $^{15}\text{N}$  とすると、パルスプログラムのチャートも 2 段になる。 $^{15}\text{N}$  の磁気角運動量比である  $\gamma_{\text{N}}$  は  $^1\text{H}$  に対する  $\gamma_{\text{H}}$  の 1/10 程度であり、共鳴周波数が大きく異なるため、核スピンを励起する rf 発振器も 2 種類必要になる。各パルス列に特徴的な役割があるので、A~E までの期間に分けて説明しよう。

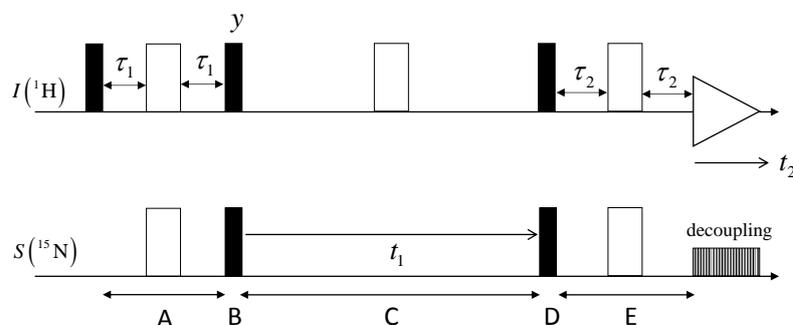


図 20 HSQC のパルスプログラム。白色のパルスは  $180^\circ$  パルスを表す。黒色のパルスは  $90^\circ_x$  であるが、I スピンへの第 2 のパルスは  $90^\circ_y$  である。FID データ取得時に S スピンに照射される矩形状のパルスは広帯域デカップリングと呼ばれる (下記の注参照)。

A 期:  $^1\text{H}$  に  $90^\circ$  パルスを照射し (特に断らない限り  $x$  軸まわりのパルスとする)、続いて両方の核に  $180^\circ$  パルス ( $x$  軸まわり) を照射してスピンエコーさせる。これは同

種核スピンエコーなので、オペレータは  $\hat{U} = e^{-i(4\pi J\tau_1)\hat{I}_z\hat{S}_z} e^{-i\pi(\hat{I}_x+\hat{S}_x)}$  と表される。従って、A 期の最後のスピン状態を  $\hat{\sigma}_A$  とすると、

$$\hat{\sigma}_A = \hat{U}(-\hat{I}_y)\hat{U}^{-1} = \cos(2\pi J\tau_1)\hat{I}_y - 2\sin(2\pi J\tau_1)\hat{I}_x\hat{S}_z \quad (22.1)$$

注意：A 期の最後に存在する  $\hat{S}_z$  は、その後の時間展開によって、どんな観測可能なスピン状態にも変化しないので無視してよい。

B 期：コヒーレンスを  $^1\text{H}$  から  $^{15}\text{N}$  に移すため、 $^1\text{H}$  に y 軸まわりの  $90^\circ_y$  パルス、 $^{15}\text{N}$  に  $90^\circ_x$  パルスを照射すると、 $\hat{\sigma}_B$  という状態になる。

$$\hat{\sigma}_B = \cos(2\pi J\tau_1)\hat{I}_y - 2\sin(2\pi J\tau_1)\hat{I}_z\hat{S}_y \quad (22.2)$$

両  $90^\circ$  パルス後に残る  $\hat{I}_y$  という項は位相回しによって消去する。このとき、 $^{15}\text{N}$  と J-結合していない  $^1\text{H}$  に対する  $\hat{I}_y$  も同時に消去されるので、今後考慮しない。

C 期：核スピン I だけに  $180^\circ$  パルスを照射するので、異種核スピンエコーと呼ばれる。

変換オペレータは、 $\hat{U} = e^{-i\Omega_s t_1 \hat{S}_z} e^{-i\pi \hat{I}_x}$  となる。 $\hat{\sigma}_B$  の第 2 項にこれを作用させると、

$$\hat{\sigma}_C = \cos(\Omega_s t_1) \sin(2\pi J\tau_1) \cdot 2\hat{I}_z\hat{S}_y - \sin(\Omega_s t_1) \sin(2\pi J\tau_1) \cdot 2\hat{I}_z\hat{S}_x \quad (22.3)$$

D 期：両スピンに  $90^\circ_x$  パルスを照射する。 $\hat{U} = e^{-i\frac{\pi}{2}\hat{I}_x} e^{-i\frac{\pi}{2}\hat{S}_x}$  を  $\hat{\sigma}_C$  に作用させると、

$$\hat{\sigma}_D = -\cos(\Omega_s t_1) \sin(2\pi J\tau_1) \cdot 2\hat{I}_y\hat{S}_z + \sin(\Omega_s t_1) \sin(2\pi J\tau_1) \cdot 2\hat{I}_y\hat{S}_x \quad (22.4)$$

$2\hat{I}_y\hat{S}_x$  という多量子コヒーレンスの項は E 期のスカラーカップリング項による時間展開の影響を受けない ( $\because [\hat{I}_y\hat{S}_x, \hat{I}_z\hat{S}_z] = 0$ ) ので、素通りして FID 信号を発生しない。今後はこの項を考慮しなくてよい。

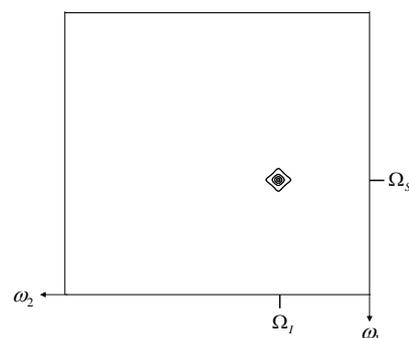
E 期：同種核スピンエコーなので、 $2\hat{I}_y\hat{S}_z$  に  $\hat{U} = e^{-i4\pi J\tau_2\hat{I}_z\hat{S}_z} e^{-i\pi(\hat{I}_x+\hat{S}_x)}$  を作用させる。

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}_E = & -\cos(2\pi J\tau_2) \cos(\Omega_s t_1) \sin(2\pi J\tau_1) \cdot 2\hat{I}_y\hat{S}_z \\ & + \sin(2\pi J\tau_2) \cos(\Omega_s t_1) \sin(2\pi J\tau_1) \cdot \hat{I}_x \end{aligned} \quad (22.5)$$

FID の観測時に S スピンに照射する広帯域デカップリング (注参照) によって、 $2\hat{I}_y\hat{S}_z$  という anti-phase SQ の 2 重線は消滅し、in-phase SQ の  $\hat{I}_x$  による 2 本の共鳴線が重なり合って 2 倍の強度をもつ 1 重線となって観測される。

結局、HSQC パルスプログラムの結果、 $\hat{\sigma}_E$  中の  $\hat{I}_x$  だけが  $t_2$  軸上の FID 信号を与える。それをフーリエ変換した  $\omega_2$  軸上のスペクトルは、オフセット周波数  $\Omega_I$  の位置に現れる 1 重線の吸収ピーク  $A_{\Omega_I}(\omega_2)$  となる。スピンエコー時間を  $\tau_1 = \tau_2 = 1/(4J)$  と選ぶことによって、ピークの強度は最大となる。一方、FID 信号の  $t_1$  依存性は、 $\cos$  フーリエ変換

によって吸収型の  $A_{\Omega_s}(\omega_1)$  を与えるので、2次元の HSQC スペクトルは、 $\omega_1\omega_2$  平面上の位置  $(\omega_1, \omega_2) = (\Omega_s, \Omega_I)$  に明瞭な 1 本の吸収ピークが現れるだけのシンプルなものとなる。タンパク質に対して測定された実際の HSQC スペクトルは第IV章の図 40 に示されている。タンパク質の全残基の主鎖 NH に対して、それぞれ一つの交差ピークが現れるので、主鎖 NH プロトンのピーク帰属をするさい、非常に重要なスペクトルとなる。




---

#### 広帯域デカップリング

異種核間のスカラーカップリングによって相互作用している 2 つの核スピンの一方にスピニングパルスを打ち続けて、観測核の共鳴線を 1 重線にする方法。例えば、 $^1\text{H}$  を観測核とすると、それに共有結合する  $^{15}\text{N}$  核は  $^1\text{H}$  核とスカラーカップリングしている。 $^{15}\text{N}$  核に  $180^\circ$  パルス照射してスピニングを起こすと、 $^1\text{H}$  はスカラーカップリング項の影響を受けないでオフセット周波数だけで時間展開する。したがって、切れ目なく  $180^\circ$  パルス照射を打ち続ければ原理的には  $^1\text{H}$  核は  $^{15}\text{N}$  核とデカップリングした FID 信号となる。しかし、 $^{15}\text{N}$  は様々なオフセット周波数をもつものが存在するので、非選択的にどの  $^{15}\text{N}$  核にも  $180^\circ$  パルス照射をするためには、 $180^\circ$  パルスのパルス幅を狭くしてより広い周波数帯域をカバーさせる必要があり、必然的に強度の強い rf パルス照射を打ち続けることになる。しかし、それには発振器の制約もあり、またサンプルの温度上昇という不都合も起きて、実行することは実際上不可能である。そのため、より弱い発振強度でより広い周波数帯域をカバーしてデカップリングを実現できる効率的な複合パルス列が開発された。パルスの回転角と位相を巧妙に組み合わせて、広い周波数帯域の核スピンを基本的には  $360^\circ$  回転させることを繰り返す複合パルス列として WALTZ-16 が知られている。NMR スペクトル測定上重要なことは、デカップリングパルス照射によって、カップリング定数  $J$  の値が実質的にゼロに収束していく点である。したがって、I スピンの演算子が in-phase doublet (例えば  $\hat{I}_y$ ) の場合は、同符号の共鳴 2 重線が 1 重線に重なり合い、スペクトル強度も倍になり、スペクトルも単純化される。一方、anti-phase doublet (例えば  $2\hat{I}_y\hat{S}_z$ ) の場合は、逆符号の 2 重線が重なり互いに打ち消しあって消滅する。

### 23. TOCSY (Total Correlation Spectroscopy)

COSY、DQF-COSY あるいは HSQC スペクトルは、基本的には展開時間  $t_1$  の間にスピン間のスカラーカップリングによって生成される anti-phase SQ-coherence 項を、第 2 の  $90^\circ$  パルスで  $J$ -結合した他方の核スピンのコヒーレンス移行させることによって、2 つのスピン間の交差スペクトルを得る方法である。したがって、弱いスカラーカップリングによって直接  $J$ -結合しているペアの交差ピークだけが観測される。しかし、直接  $J$ -結合はしていないが、 $J$ -結合の連鎖を通して間接的に結合しているスピン間の交差ピークを検出したいという要求もある。すなわち  $^1\text{H}$  核が集合した系において、R スピンと I スピン、I スピンと S スピンは直接  $J$ -結合しているが、R スピンと S スピンは  $J$ -結合していない場合でも、連鎖的な  $J$ -結合を通して R スピンと S スピンの交差ピークを得ることができると便利な場合がある。それを可能にする方法が TOCSY というパルスプログラムである。

#### (1) 等方的混合パルス (isotropic mixing pulse)

下の図は TOCSY スペクトルを得るためのパルスプログラムを示している。

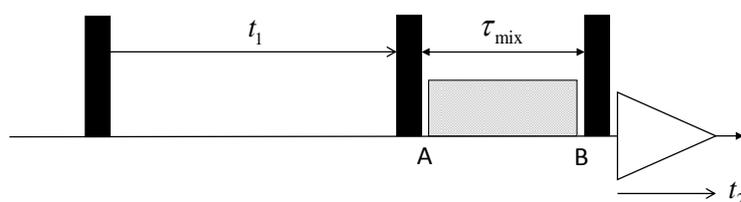


図 21 TOCSY のパルスプログラム

第 2 の  $90^\circ$  パルス照射までは COSY の実験のときと同一である。パルス照射後の時点 A における状態は式(20.3)の  $\hat{\sigma}_2$  という状態で表される。  $\hat{I}_{1,z}$ ,  $2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,y}$ ,  $\hat{I}_{1,x}$ ,  $2\hat{I}_{1,z}\hat{I}_{2,y}$  という直積演算子の項が混在しているが、TOCSY 実験においては、後述する「位相回し」という方法によってコヒーレンス次数 0 の  $\hat{I}_{1,z}$  という項だけを選択的に残す。TOCSY パルス列の中で、もっとも特徴的なパルスは、第 2 の  $90^\circ$  パルスの直後に置かれている影をつけた矩形状の等方的混合パルス (isotropic mixing) である。広帯域デカップリン

グのときと同様に、パルスの回転角と位相を巧妙に組み合わせた複合パルス列を照射し続けることによって、ハミルトニアン内の化学シフト項（オフセット周波数の項）が実質的に無視可能な状態が実現できる。そのような特殊なパルス列を **isotropic mixing** とよび、例えば **DIPSI-2** と命名された複合パルス列が知られている。このとき、ハミルトニアン  $\hat{H}$  には強いスカラーカップリング項だけが残る。

$$\hat{H} = 2\pi J \cdot \hat{\mathbf{I}}_1 \cdot \hat{\mathbf{I}}_2 = 2\pi J (\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,x} + \hat{I}_{1,y} \hat{I}_{2,y} + \hat{I}_{1,z} \hat{I}_{2,z}) \quad (23.1)$$

様々なオフセット周波数をもつ  $^1\text{H}$  スピンからなる系のハミルトニアンが、このように化学シフト項を含まずスピロックされたような状態になることを、**Homonuclear Hartmann-Hahn matching** が成り立っているという。そのため、このパルスプログラムを **TOCSY** と呼ぶ代わりに **HOHAHA** (homo-nuclear Hartmann-Hahn spectrum) と呼ぶこともある。

等方的混合パルスの照射下で、核スピン  $\text{I}$  の  $z$  磁化を  $\tau_m$  だけ時間展開してみよう。

$$\hat{U} = e^{-i\hat{H}\tau_m} = e^{-i2\pi J\tau_m (\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,x} + \hat{I}_{1,y}\hat{I}_{2,y} + \hat{I}_{1,z}\hat{I}_{2,z})} \quad (23.2)$$

$\theta = \pi J\tau_m$  として、 $\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,x}$ 、 $\hat{I}_{1,y}\hat{I}_{2,y}$ 、 $\hat{I}_{1,z}\hat{I}_{2,z}$  が互いに交換可能であることを用いると、

$$\hat{U} = e^{-i\theta 2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,x}} e^{-i\theta 2\hat{I}_{1,y}\hat{I}_{2,y}} e^{-i\theta 2\hat{I}_{1,z}\hat{I}_{2,z}} \quad (23.3)$$

と表せる。最初の状態が  $\hat{I}_{1,z}$  だとすると、等方的混合パルス照射後の状態は、

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}(\tau_m) &= \hat{U} \hat{I}_{1,z} \hat{U}^{-1} = e^{-i\theta 2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,x}} e^{-i\theta 2\hat{I}_{1,y}\hat{I}_{2,y}} \hat{I}_{1,z} e^{i\theta 2\hat{I}_{1,y}\hat{I}_{2,y}} e^{i\theta 2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,x}} \\ &= e^{-i\theta 2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,x}} \left\{ \cos \theta \cdot \hat{I}_{1,z} + \sin \theta \cdot 2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,y} \right\} e^{i\theta 2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,x}} \\ &= \cos \theta \left[ \cos \theta \cdot \hat{I}_{1,z} - \sin \theta \cdot 2\hat{I}_{1,y} \hat{I}_{2,x} \right] + \sin \theta \left[ \cos \theta \cdot 2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,y} + \sin \theta \cdot \hat{I}_{2,z} \right] \\ &= \cos^2 \theta \cdot \hat{I}_{1,z} + \sin^2 \theta \cdot \hat{I}_{2,z} - \sin \theta \cos \theta \left[ 2\hat{I}_{1,y} \hat{I}_{2,x} - 2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,y} \right] \\ &= 1/2 [1 + \cos(2\pi J\tau_m)] \hat{I}_{1,z} + 1/2 [1 - \cos(2\pi J\tau_m)] \hat{I}_{2,z} \\ &\quad - \sin(2\pi J\tau_m) Z\hat{Q}_y \end{aligned} \quad (23.4)$$

最後の行の  $Z\hat{Q}_y$  は 0 量子コヒーレンスである。

$$Z\hat{Q}_y \equiv \frac{1}{2i} (\hat{I}_1^+ \hat{I}_2^- - \hat{I}_1^- \hat{I}_2^+) = \frac{1}{2} (2\hat{I}_{1,y} \hat{I}_{2,x} - 2\hat{I}_{1,x} \hat{I}_{2,y}) \quad (23.5)$$

最初に存在したスピン  $\text{I}_1$  の  $z$  磁化が混合パルスの照射によって、 $J$ -結合しているスピン  $\text{I}_2$  の  $z$  磁化に移行している。  $\tau_m = 1/(2J)$  の時間経過によって完全に  $z$  磁化が入れ替わる。もしスピン  $\text{I}_1$  と  $\text{I}_3$  が直接  $J$ -結合で繋がっていなくても、 $\text{I}_2$  が  $\text{I}_3$  に  $J$ -結合していれば、 $\hat{I}_{1,z}$  は混合パルスの  $2\hat{\mathbf{I}}_1 \cdot \hat{\mathbf{I}}_2$  項の作用によって  $\hat{I}_{2,z}$  に入れ替わり、 $2\hat{\mathbf{I}}_2 \cdot \hat{\mathbf{I}}_3$  項の作用に

よって、この  $\hat{I}_{2,z}$  が  $\hat{I}_{3,z}$  と入れ替わる。例えば、オフセット周波数  $\Omega_1$  でラベルされた  $\hat{I}_{1,z}$  が等方的混合パルスの際に  $\hat{I}_{3,z}$  という状態に移行し、スピン  $I_3$  の FID 信号が周波数  $\Omega_1$  で振幅変調されている。これが等方的混合パルスの効果である。

TOCSY スペクトル測定を実際どのように実行するかは以下で考察しよう。

-----  
 強いスカラーカップリング項は変数  $x, y, z$  に関する対称式なので、 $\hat{U}\hat{I}_{1,z}\hat{U}^{-1}$  内の変数の添字を  $x \rightarrow y \rightarrow z \rightarrow x$  と循環させると  $\hat{U}\hat{I}_{1,x}\hat{U}^{-1}$  になる。従って、式(23.4)の添字を同様に循環させると、

$$\hat{U}\hat{I}_{1,x}\hat{U}^{-1} = \frac{1}{2}[1+\cos(2\pi J\tau_m)]\hat{I}_{1,x} + \frac{1}{2}[1-\cos(2\pi J\tau_m)]\hat{I}_{2,x} - \sin(2\pi J\tau_m)\frac{1}{2}(2\hat{I}_{1,z}\hat{I}_{2,y} - 2\hat{I}_{1,y}\hat{I}_{2,z})$$

となる。つまり、 $x$  成分間の磁化移行も起こすことができる。これが強いスカラーカップリング項による時間展開を等方的混合パルスと呼ぶ所以である。TOCSY の場合は、混合パルスを照射する直前に  $z$  磁化だけを残すことによって、 $z$  磁化間の移行を利用しているのである。

## (2) 2 スピン系における TOCSY スペクトル

最も簡単な 2 スピン系を例にして、TOCSY 実験によって得られるスペクトル線の特徴をより詳しく考察しよう。  $90^\circ \rightarrow t_1 \rightarrow 90^\circ$  パルス後の時点 A における  $z$  磁化の状態は  $-\cos(\pi Jt_1)\cos(\Omega_1 t_1)\hat{I}_{1,z}$  である。これを強いスカラーカップリング項で  $\tau_m$  時間展開すると、前述のように  $\hat{I}_{1,z}$  と  $\hat{I}_{2,z}$  という 2 つの  $z$  磁化に移行する。その際に生成される  $Z\hat{Q}_y$  は測定の障害となるので除去する必要がある (27 節 4 項の  $z$ -filter を参照) が、当面は除去できたものとして考察を進める。等方的混合パルス照射後 (時点 B) の状態は、

$$\hat{\sigma}(\tau_m) = -a_{11}\cos(\pi Jt_1)\cos(\Omega_1 t_1)\hat{I}_{1,z} - a_{12}\cos(\pi Jt_1)\cos(\Omega_1 t_1)\hat{I}_{2,z}$$

ただし、  $a_{11} = (1/2)[1+\cos(2\pi J\tau_m)]$ ,  $a_{12} = (1/2)[1-\cos(2\pi J\tau_m)]$  (23.6)

これを最後の  $90^\circ$  パルスで回転すると、

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}_{\text{fid}} &= a_{11}\cos(\pi Jt_1)\cos(\Omega_1 t_1)\hat{I}_{1,y} + a_{12}\cos(\pi Jt_1)\cos(\Omega_1 t_1)\hat{I}_{2,y} \\ &= (a_{11}/2)[\cos(\Omega_1^+ t_1) + \cos(\Omega_1^- t_1)]\hat{I}_{1,y} \\ &\quad + (a_{12}/2)[\cos(\Omega_1^+ t_1) + \cos(\Omega_1^- t_1)]\hat{I}_{2,y} \end{aligned} \quad (23.7)$$

第 1 項は対角ピーク、第 2 項は交差ピークを与える。  $t_2$  軸の複素 FID 信号は初期位相が  $y$  軸方向なので、  $(i/2)(e^{i\Omega^+ t_2} + e^{i\Omega^- t_2})$  となる。位相補正 ( $-i$ ) を施すと吸収型の in-phase doublet のスペクトルを与える。一方、  $t_1$  軸の振幅データも  $\cos$  フーリエ変換すると吸収型の in-phase doublet となるので、2 次元 NMR スペクトルは次のようになる。

$$\begin{aligned}
 \text{対角ピーク} &: (1/2) \left[ A_{\Omega_1^+}(\omega_1) + A_{\Omega_1^-}(\omega_1) \right] \times (1/2) \left[ A_{\Omega_1^+}(\omega_2) + A_{\Omega_1^-}(\omega_2) \right] \\
 \text{交差ピーク} &: (1/2) \left[ A_{\Omega_1^+}(\omega_1) + A_{\Omega_1^-}(\omega_1) \right] \times (1/2) \left[ A_{\Omega_2^+}(\omega_2) + A_{\Omega_2^-}(\omega_2) \right] \quad (23.8)
 \end{aligned}$$

結局、図 22 に示すように、対角ピークも交差ピークも **in-phase** の吸収型ピークになる。

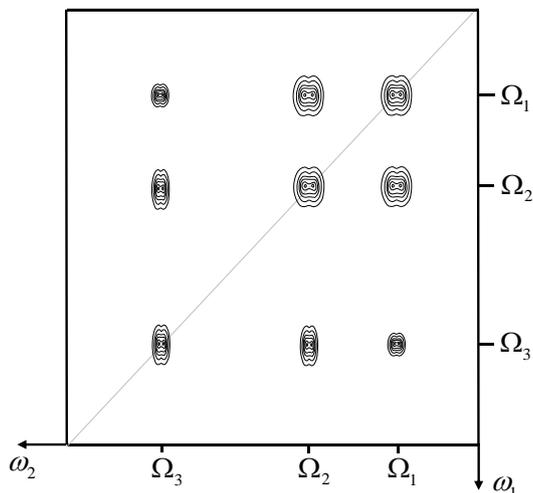


図 22 TOCSY スペクトル

周波数ラベルされた  $z$  磁化が強い  $J$ -結合を通して 2 つのスピンの間で交換されて交差ピークが得られることは分かった。しかし、単純な 2 スピン系では、TOCSY パルス実験の重要な特徴である  $J$ -結合のネットワークで繋がられた複雑なスピン間の相関ピークを考察したことになる。等方的混合パルスの照射によって  $z$  磁化の交換がリレー状に伝播することは分かったが、上記のように解析的には示せない。そのような系では数値計算によるシミュレーションによって解析が行われる。その結果、直接  $J$ -結合で連結されていない場合でも、そのネットワークを通してスピン間の  $z$  磁化の移行が生じ、混合時間  $\tau_m$  を長くすることによって、より遠く離れたスピン間の磁化移行が可能になることが示された。しかし、一方では、より近くのスピンへの磁化移行が小さくなるので、目的に応じて最適の  $\tau_m$  を設定する必要がある。

第 2 の  $90^\circ$ パルスの後、「位相回し」によって  $z$  磁化だけを選択に残し、混合時間  $\tau_m$  の間に分極移行を起こさせるという意味では、TOCSY はつぎに述べる NOESY スペクトルと同じである。混合期のスピン間の相互作用の違いに注意して NOESY 測定法を考察しよう。

## 24. NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)

核スピンは磁気双極子モーメントを持っていて、周囲の空間に局所磁場を作る。その近傍にある別の核スピンの双極子モーメントは、その局所磁場の影響を受けて2つのスピンは相互作用する。相互作用する2つの核スピン (I と S スピンとする) の励起状態は一般に図 23 のような4状態図で表される。左は I スピンの状態、右が S スピンの

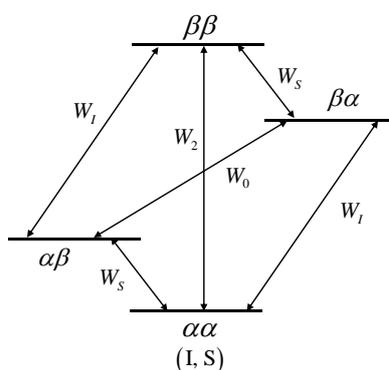


図 23 2 スピン (I, S) 系の 4 状態図と遷移速度定数

状態を表すとして、 $\alpha\alpha$ ,  $\beta\alpha$ ,  $\alpha\beta$ ,  $\beta\beta$  という状態が存在する。励起状態にある核スピンの緩和過程について、ここでは詳しく述べないが、緩和現象を応用して、双極子相互作用するスピン対を検出する重要な 2 次元 NMR 測定法があるので、必要な部分だけ簡単に説明する。

### (1) Solomon の方程式と自発緩和、交差緩和過程

双極子相互作用でカップリングしているスピン対 I と S が rf-パルスによって励起されたとする。その後の時間経過とともに、それは平衡状態に緩和していく。励起状態間の遷移速度定数を、図 23 のように  $W_I$ ,  $W_S$ ,  $W_0$ ,  $W_2$  と表し、それぞれの状態の占有確率を  $P_{\alpha\alpha}$ ,  $P_{\beta\alpha}$ ,  $P_{\alpha\beta}$ ,  $P_{\beta\beta}$  とすると、

$$\frac{dP_{\alpha\alpha}}{dt} = -(W_I + W_S + W_2)P_{\alpha\alpha} + W_I P_{\beta\alpha} + W_S P_{\alpha\beta} + W_2 P_{\beta\beta} \quad (24.1)$$

と表される。また、平衡状態における各状態の占有確率を  $P_{ij}^{eq}$  と表すと、

$$\frac{dP_{\alpha\alpha}^{eq}}{dt} = -(W_I + W_S + W_2)P_{\alpha\alpha}^{eq} + W_I P_{\beta\alpha}^{eq} + W_S P_{\alpha\beta}^{eq} + W_2 P_{\beta\beta}^{eq} = 0 \quad (24.2)$$

したがって、占有確率の平衡状態からのずれを  $\Delta P_{ij} = P_{ij} - P_{ij}^{eq}$  と表し、 $d/dt(\Delta P_{\alpha\alpha})$  を計算すると次の式が成り立つ。

$$\frac{d\Delta P_{\alpha\alpha}}{dt} = -(W_I + W_S + W_2)\Delta P_{\alpha\alpha} + W_I \Delta P_{\beta\alpha} + W_S \Delta P_{\alpha\beta} + W_2 \Delta P_{\beta\beta} \quad (24.3)$$

他の状態の占有確率  $\Delta P_{ij}$  に対しても同様の式が成り立つ。

$$\frac{d\Delta P_{\beta\alpha}}{dt} = -(W_I + W_S + W_0)\Delta P_{\beta\alpha} + W_I \Delta P_{\alpha\alpha} + W_S \Delta P_{\beta\beta} + W_0 \Delta P_{\alpha\beta}$$

$$\frac{d\Delta P_{\alpha\beta}}{dt} = -(W_I + W_S + W_0)\Delta P_{\alpha\beta} + W_I \Delta P_{\beta\beta} + W_S \Delta P_{\alpha\alpha} + W_0 \Delta P_{\beta\alpha}$$

$$\frac{d\Delta P_{\beta\beta}}{dt} = -(W_I + W_S + W_2)\Delta P_{\beta\beta} + W_S \Delta P_{\beta\alpha} + W_I \Delta P_{\alpha\beta} + W_2 \Delta P_{\alpha\alpha}$$

$z$  磁化の平衡状態からのずれ  $\Delta I_z(t) = I_z(t) - I^{eq}$  および  $\Delta S_z(t)$  は、次式

$$\langle I_z \rangle = (1/2)(P_{\alpha\alpha} + P_{\alpha\beta} - P_{\beta\alpha} - P_{\beta\beta}), \quad \langle S_z \rangle = (1/2)(P_{\alpha\alpha} - P_{\alpha\beta} + P_{\beta\alpha} - P_{\beta\beta}) \quad (24.4)$$

を用いて、次のように表される。

$$\frac{d\Delta I_z}{dt} = -(W_0 + 2W_I + W_2)\Delta I_z - (W_2 - W_0)\Delta S_z$$

$$\frac{d\Delta S_z}{dt} = -(W_0 + 2W_S + W_2)\Delta S_z - (W_2 - W_0)\Delta I_z \quad (24.5)$$

$R_{z,I} = W_0 + 2W_I + W_2$ ,  $R_{z,S} = W_0 + 2W_S + W_2$ ,  $\sigma_{I,S} = W_2 - W_0$  と表すと、 $z$  磁化の緩和による時間変化を決める次の微分方程式：Solomon の式が得られる。

$$\frac{d\Delta I_z(t)}{dt} = -R_{z,I}\Delta I_z(t) - \sigma_{I,S}\Delta S_z(t)$$

$$\frac{d\Delta S_z(t)}{dt} = -R_{z,S}\Delta S_z(t) - \sigma_{I,S}\Delta I_z(t) \quad (24.6)$$

$rf$ -パルスによって励起された直後の磁化ベクトルの  $z$  成分のずれを  $\Delta I_z(0)$ ,  $\Delta S_z(0)$  とすると、その後、 $\Delta I_z(t)$  や  $\Delta S_z(t)$  は緩和過程によって徐々に 0 に戻る。最初、仮に S スピンだけが選択的に励起されて、 $\Delta I_z(0) = 0$  だったとしても、 $\Delta I_z(t)$  は S スピンからの交差緩和  $\sigma_{I,S}$  の項によって過渡的に正または負 ( $\sigma_{I,S}$  の符号に応じて) の値をとる。この現象を交差緩和による S スピンから I スピンへの分極移行と呼ぶ。

簡単な場合を考えてみよう。I と S スピンが同種核の場合、 $R_{z,I} = R_{z,S} = R_z$  と近似してもよい。また、平衡状態における  $z$  磁化も  $I_z^{eq} = S_z^{eq} = I_0$  と近似できる。I スピンを

I<sub>1</sub>、S スピンを I<sub>2</sub> と表すことにより、rf-パルスで励起された直後の状態を  $\Delta I_{1,z}(0)$ 、 $\Delta I_{2,z}(0)$  として Solomon の方程式を解くと、 $R_z \equiv R$ 、 $\sigma_{I,S} \equiv \sigma$  として、

$$\begin{pmatrix} \Delta I_{1,z}(t) \\ \Delta I_{2,z}(t) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a_{11}(t) & a_{12}(t) \\ a_{21}(t) & a_{22}(t) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \Delta I_{1,z}(0) \\ \Delta I_{2,z}(0) \end{pmatrix} \quad (24.7)$$

$$a_{11}(t) = a_{22}(t) = \frac{1}{2} e^{-(R-\sigma)t} (1 + e^{-2\sigma t}), \quad a_{12}(t) = a_{21}(t) = -\frac{1}{2} e^{-(R-\sigma)t} (1 - e^{-2\sigma t}) \quad (24.8)$$

となる（証明は下記を参照）。関数  $a_{11}(t)$  または  $a_{22}(t)$  という項が自発緩和過程を表し、関数  $a_{12}(t)$  あるいは  $a_{21}(t)$  という項が交差緩和による分極移行を表している。 $\sigma < 0$  の場合、関数形は下図のようになり、どちらもいずれは 0 となり平衡状態に戻る。

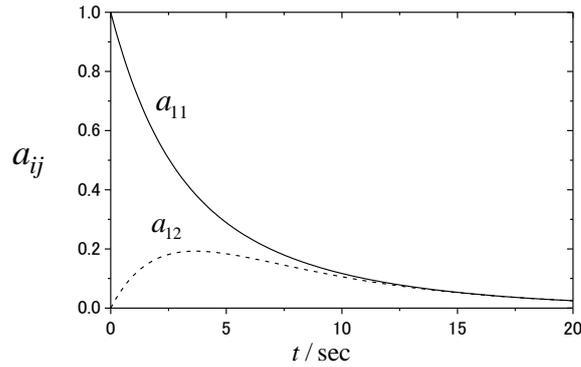


図 24 緩和を表す  $a_{11}(t)$ 、 $a_{12}(t)$  の関数形。 $R = 0.3 \text{ s}^{-1}$ 、 $\sigma = -0.15 \text{ s}^{-1}$  を用いて計算。

【証明】  $\Delta I_{1,z}(t) = y_1$ 、 $\Delta I_{2,z}(t) = y_2$  と表すと、Solomon の微分方程式は、

$$\dot{y}_1 = -Ry_1 - \sigma y_2, \quad \dot{y}_2 = -Ry_2 - \sigma y_1 \quad (24.9)$$

と書ける。 $Y = y_1 + y_2$ 、 $y = y_1 - y_2$  と変数変換し、 $Y(t)$ 、 $y(t)$  に関する微分方程式を解くと、 $Y(t) = Y_0 e^{-(R+\sigma)t}$ 、 $y(t) = y_0 e^{-(R-\sigma)t}$  である。ただし、 $Y_0$ 、 $y_0$  は初期条件より、

$$Y_0 = \Delta I_{1,z}(0) + \Delta I_{2,z}(0), \quad y_0 = \Delta I_{1,z}(0) - \Delta I_{2,z}(0) \quad (24.10)$$

$$\therefore y_1(t) = (1/2) e^{-(R-\sigma)t} [y_0 + Y_0 e^{-2\sigma t}], \quad y_2(t) = (1/2) e^{-(R-\sigma)t} [-y_0 + Y_0 e^{-2\sigma t}] \quad (24.11)$$

上の 2 式を未知定数  $\alpha$ 、 $\beta$  を用いて次のように書き直すと

$$\begin{aligned} y_1(t) &= (1/2) e^{-(R-\sigma)t} [1 + e^{-2\sigma t}] \alpha + (1/2) e^{-(R-\sigma)t} [-1 + e^{-2\sigma t}] \beta = a_{11} \cdot \alpha + a_{12} \cdot \beta \\ y_2(t) &= (1/2) e^{-(R-\sigma)t} [-1 + e^{-2\sigma t}] \alpha + (1/2) e^{-(R-\sigma)t} [1 + e^{-2\sigma t}] \beta = a_{21} \cdot \alpha + a_{22} \cdot \beta \end{aligned} \quad (24.12)$$

ただし、 $\alpha - \beta = y_0$ 、 $\alpha + \beta = Y_0$  である。初期条件： $\Delta I_{1,z}(0)$ 、 $\Delta I_{2,z}(0)$  を用いると、

$\alpha = \Delta I_{1,z}(0)$ ,  $\beta = \Delta I_{2,z}(0)$  となるので、結局、

$$\Delta I_{1,z}(t) = a_{11} \cdot \Delta I_{1,z}(0) + a_{12} \cdot \Delta I_{2,z}(0), \quad \Delta I_{2,z}(t) = a_{21} \cdot \Delta I_{1,z}(0) + a_{22} \cdot \Delta I_{2,z}(0) \quad (24.13)$$

## (2) 2次元 NOESY スペクトル (2D-NOESY)

交差緩和を表す係数  $a_{12}$  は、初期状態近似をすると ( $t \ll 1$ )、 $-\sigma t$  となるので、交差緩和によって移行した磁化の大きさは  $\sigma$  に比例している。プロトン間の距離を  $r$  とすると、磁気双極子モーメント間の相互作用エネルギーは  $r^{-3}$  に比例するが、緩和現象は局所磁場の揺らぎによって引き起こされるので、遷移速度定数の大きさは相互作用エネルギーの 2 乗に比例する。従って、 $\sigma = W_2 - W_0$  は  $r^{-6}$  に比例し、分極移行の大きさは距離の増大とともに急速に減少する。目安として  $5\text{\AA}$  以内にあるプロトン対には、交差緩和による分極移行が起きると考えてよい。

下に 2D-NOESY のパルス列を示す。第 2 の  $90^\circ$  パルス後の積オペレータは、COSY の場合と同じである (式(20.3)参照)。生成される 4 つの項のうち、今回はコヒーレンス次数ゼロの項、 $-\cos(\Omega_1 t_1) \cdot \cos(\pi J t_1) \hat{I}_{1,z}$  と  $-\cos(\Omega_2 t_1) \cdot \cos(\pi J t_1) \hat{I}_{2,z}$  だけを選択的に残して、それ以外の直積演算子の項は「位相回し」によって消去する。従って、I スピンの平衡磁化の大きさを  $I_0$  とすると、混合期  $\tau_{\text{mix}}$  の初期状態の磁化の大きさは、

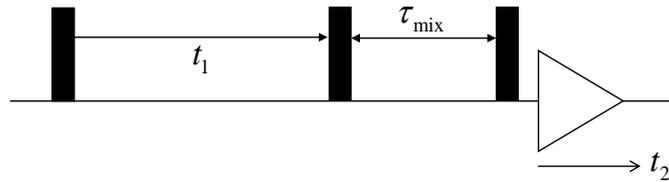


図 25 2D-NOESY のパルスプログラム

$$\begin{aligned} I_{1,z}(0) &= -\cos((\Omega_1 t_1) \cos(\pi J t_1) I_0 \cdot e^{i\phi_p} \\ I_{2,z}(0) &= -\cos((\Omega_2 t_1) \cos(\pi J t_1) I_0 \cdot e^{i\phi_p} \end{aligned} \quad (24.14)$$

となる。ここで、 $e^{i\phi_p}$  は第 1 のパルスの位相変化を考慮した因子である。 $90^\circ_x$  のとき  $\phi_p = 0$ 、 $90^\circ_{-x}$  のとき  $\phi_p = \pi$  となり、初期状態の  $z$  磁化を表す振幅は符号が反転する。混合時間  $\tau_m$  を適切な時間に設定すると、交差緩和による  $I_{2,z}$  から  $I_{1,z}$  への分極移行が最大となる。それぞれのスピンの  $z$  磁化の平衡値からのずれを Solomon の方程式から求

めよう。その初期値は次式のように表せる。

$$\begin{aligned}\Delta I_{1,z}(0) &= -\cos(\Omega_1 t_1) \cdot \cos(\pi J t_1) I_0 \cdot e^{i\phi_p} - I_0 \\ \Delta I_{2,z}(0) &= -\cos(\Omega_2 t_1) \cdot \cos(\pi J t_1) I_0 \cdot e^{i\phi_p} - I_0\end{aligned}\quad (24.15)$$

これを Solomon の方程式の解に代入すると、 $\Delta I_{1,z}(\tau_m) = I_{1,z}(\tau_m) - I_0$  を用いて、

$$\begin{aligned}I_{1,z}(\tau_m) &= -a_{11}(\tau_m) \cos(\Omega_1 t_1) \cos(\pi J t_1) I_0 \cdot e^{i\phi_p} - a_{12}(\tau_m) \cos(\Omega_2 t_1) \cos(\pi J t_1) I_0 \cdot e^{i\phi_p} \\ &\quad + (1 - e^{-(R_z + \sigma)\tau_m}) I_0\end{aligned}\quad (24.16)$$

となる。第 1 項、第 2 項は最初の  $90^\circ$  パルスの位相の影響を受けるが、第 3 項は平衡状態へ戻る緩和過程を表す項で、 $90^\circ$  パルスの位相に関係しない。第 3 の  $90^\circ_x$  パルスによって  $\hat{I}_{1,z}$  は  $-\hat{I}_{1,y}$  に変化するので、その状態  $\hat{\sigma}_{fid}$  を演算子で表せば次のようになる。

$$\begin{aligned}\hat{\sigma}_{fid} &= a_{11}(\tau_m) \cos(\Omega_1 t_1) \cos(\pi J t_1) \cdot e^{i\phi_p} \hat{I}_{1,y} + a_{12}(\tau_m) \cos(\Omega_2 t_1) \cos(\pi J t_1) \cdot e^{i\phi_p} \hat{I}_{1,y} \\ &\quad - (1 - e^{-(R_z + \sigma)\tau_m}) \hat{I}_{1,y}\end{aligned}\quad (24.17)$$

第 3 項は  $t_1$  依存性がないので、この項を  $t_1$  で  $\cos$  フーリエ変換すると、式(20.7)において、 $\Omega = 0$  を代入した  $A(\omega) = R/(\omega^2 + R^2)$  というスペクトルになり、 $A(\omega_1)$  は  $\omega_1 = 0$  でピークとなる。これは軸性 (axial) ピークと呼ばれ不要なピークなので消去することが望ましい。最初の  $90^\circ$  パルスの位相を  $(0, \pi)$  と変えると、最初の 2 項は符号が反転するので、データ収集時に符号を反転して積算する。この操作は受信器の位相  $\phi_r$  を  $(0, \pi)$  と変えることに対応している。その結果、第 1、第 2 項は積算され、第 3 項は消滅する。これは一種の「位相回し」である (27 節 1 項軸性ピークの消去を参照)。

$t_2$  軸の FID 信号のオフセット周波数は  $\Omega_1$  である。従って、式(24.17)の第 1 項は対角ピークを表し、第 2 項は交差ピークに対応する。 $t_2$  軸上の FID データは  $\hat{I}_{1,y}$  の自由歳差運動によるものなので、位相補正  $(-i)$  の後フーリエ変換することによって、交差ピークも対角ピークも吸収型の in-phase doublet になる。 $t_1$  軸に関して、

$$\cos(\Omega t_1) \cdot \cos(\pi J t_1) = (1/2) \left[ \cos(\Omega^+ t_1) + \cos(\Omega^- t_1) \right] \quad (24.18)$$

となっているので、 $\cos$  フーリエ変換によって両ピークとも吸収型の in-phase doublet になる。 $I_{2,z}(\tau_m)$  に対しても、 $I_{1,z}(\tau_m)$  と同じことが起きているので、2D-NOESY スペクトルは図 26 のような 2 次元の NMR スペクトルになる。実際のタンパク質に対して測定された 2D-NOESY スペクトルは第 IV 章の図 41 に示されている。同一残基内のプロトン対にも NOE 交差ピークは観測されるが、遠く離れた残基間のプロトン対にも多数の交差ピークが観測されていることが分かる。

2D-TOCSY と 2D-NOESY のパルスプログラムは見かけ上よく似ている。第 2 の  $90^\circ_x$  パルス後の状態は COSY と同じであるが、どちらの場合も、 $t_1$  軸を各スピンの化学シフト周波数  $\Omega$  でラベルした  $z$  磁化だけを選択的に残す「位相回し」を実行する。その後の混合時間  $\tau_m$  の間に、相互作用している 2 つの  $z$  磁化の間で分極移行が起きて、交差ピークが出来ることを利用している。TOCSY の場合は、等方的混合パルスで照射

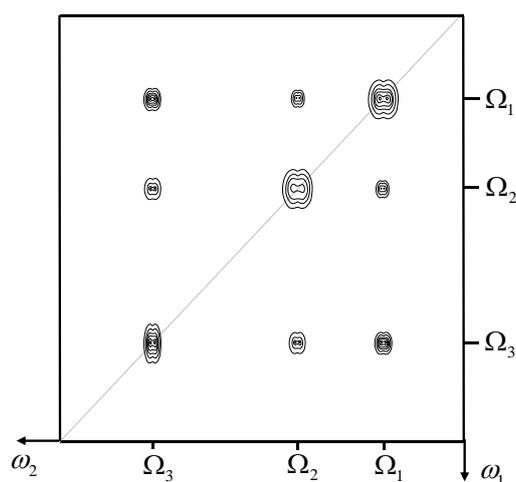


図 26 2D-NOESY スペクトル

しながら「強いスカラーカップリング」を通して  $z$  磁化間の分極移行を引き起こす。一方、NOESY の場合は「磁気双極子相互作用」による交差緩和によって  $z$  磁化の交換を促す。従って、TOCSY では、あくまでスピンスピン結合を通して繋がったスピン網が検出される。タンパク質の場合は、ペプチド結合の部分でスピン結合が途切れるため、同一残基内のプロトン間の交差ピークだけが検出される。一方、NOESY の方は、アミノ酸配列上遠く離れていても空間的に近接した残基間のプロトンの交差ピークが検出される。パルスプログラムは一見よく似た測定法であるが、混合期におけるプロトン間の相互作用が異なっているため、得られる情報は互いに相補的で得がたい重要な特徴を備えている。

### 第三章 コヒーレンス選択

#### 25. コヒーレンス次数

密度演算子を用いて多次元 NMR 分光法を記述することは、核スピンの状態変化をベクトル模型と対比させながら直感的に追跡することができて、非常に分かりやすい方法である。しかし、化学シフト項とスカラーカップリング項を含むハミルトニアンのもとで、種々のパルス照射を時間展開すると、様々な形の直積演算子が派生してきて、これをすべて追跡していくと、非常に煩雑な計算を毎回行うことになる。しかし、NMR 分光法にはコヒーレンス次数という概念があって、パルスを照射するたびに新しく現れてくる直積演算子をコヒーレンス次数で分類し、必要なコヒーレンス次数以外は消去してしまいうことが出来る系統的な方法があって、必要な直積演算子以外は考慮しなくてよい。それが「位相回し」(phase cycling) とか磁場勾配パルス (field gradient pulse) というテクニックである。余り詳細な説明に入らない範囲でその概念を理解しておくことは、多次元 NMR 法の物理的原理を理解する上で重要である。

##### (1) コヒーレンス次数の定義

直積演算子  $\hat{\sigma}_p$  を z 軸のまわりで角度  $\phi$  だけ回転させる操作によって、密度演算子の位相が  $-p\phi$  だけ変化するとき、その直積演算子のコヒーレンス次数を  $p$  という。

$$e^{-i\phi\hat{I}_z}\hat{\sigma}_p e^{i\phi\hat{I}_z} = e^{-ip\phi}\hat{\sigma}_p \quad (25.1)$$

【例】

(i)  $\hat{I}_z$  は  $p=0$  である。  $\therefore e^{-i\phi\hat{I}_z}\hat{I}_z e^{i\phi\hat{I}_z} = \hat{I}_z$

(ii)  $\hat{I}^+ = \hat{I}_x + i\hat{I}_y$  は  $p=+1$ 、 $\hat{I}^- = \hat{I}_x - i\hat{I}_y$  は  $p=-1$  である。

$$\therefore e^{-i\phi\hat{I}_z}\hat{I}^+ e^{i\phi\hat{I}_z} = e^{-i\phi}\hat{I}^+、e^{-i\phi\hat{I}_z}\hat{I}^- e^{i\phi\hat{I}_z} = e^{i\phi}\hat{I}^-$$

(iii)  $\hat{I}_x$  は  $p=\pm 1$  の混合物である。  $\therefore \hat{I}_x = (1/2)(\hat{I}^+ + \hat{I}^-)$

(iv)  $\hat{I}^+\hat{S}^+$  は  $p=2$  である。  $\hat{I}^-\hat{S}^-$  は  $p=-2$  である。

$$\therefore e^{-i\phi(\hat{I}_z+\hat{S}_z)}\hat{I}^+\hat{S}^+ e^{i\phi(\hat{I}_z+\hat{S}_z)} = e^{-i2\phi}\hat{I}^+\hat{S}^+、e^{-i\phi(\hat{I}_z+\hat{S}_z)}\hat{I}^-\hat{S}^- e^{i\phi(\hat{I}_z+\hat{S}_z)} = e^{i2\phi}\hat{I}^-\hat{S}^-$$

(v)  $\hat{I}^+\hat{S}^-$  は  $p=0$  である。

$$\because \hat{I}^+\hat{S}^- \xrightarrow{\phi\hat{I}_z} e^{-i\phi}\hat{I}^+\hat{S}^- \xrightarrow{\phi\hat{S}_z} e^{-i\phi}e^{i\phi}\hat{I}^+\hat{S}^- = \hat{I}^+\hat{S}^-$$

(vi)  $\hat{I}_x\hat{S}_z$  は 1 量子コヒーレンスであるが、 $p = \pm 1$  の混合物である。

$$\because \hat{I}_x\hat{S}_z = (1/2)(\hat{I}^+ + \hat{I}^-)\hat{S}_z = (1/2)(\hat{I}^+\hat{S}_z + \hat{I}^-\hat{S}_z)$$

(vii)  $\hat{I}_x\hat{S}_y$  などは 2 量子コヒーレンスであるが  $p=0, p = \pm 2$  の混合物である。

$$\because \hat{I}_x\hat{S}_y = \frac{1}{2}(\hat{I}^+ + \hat{I}^-)\frac{1}{2i}(\hat{S}^+ - \hat{S}^-) = \frac{1}{4i}(\hat{I}^+\hat{S}^+ - \hat{I}^-\hat{S}^- - \hat{I}^+\hat{S}^- + \hat{I}^-\hat{S}^+)$$

## (2) コヒーレンス次数に関する諸性質

(i) 自由歳差運動によってコヒーレンス次数は変化しない。

$$\begin{aligned} \because \hat{\sigma}_q &= e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma}_p e^{i\hat{H}t} \text{ とおく。 } \hat{H} \text{ は } \hat{I}_z \text{ と交換可能なので、} \\ e^{-i\phi\hat{I}_z} \hat{\sigma}_q e^{i\phi\hat{I}_z} &= e^{-i\phi\hat{I}_z} \left[ e^{-i\hat{H}t} \hat{\sigma}_p e^{i\hat{H}t} \right] e^{i\phi\hat{I}_z} = e^{-i\hat{H}t} \left[ e^{-i\phi\hat{I}_z} \hat{\sigma}_p e^{i\phi\hat{I}_z} \right] e^{i\hat{H}t} \\ &= e^{-i\hat{H}t} \left[ e^{-i\phi} \hat{\sigma}_p \right] e^{i\hat{H}t} = e^{-i\phi} \hat{\sigma}_p \quad \therefore \hat{\sigma}_q \text{ のコヒーレンス次数も } p \text{ である。} \end{aligned}$$

(ii) rf-パルスはコヒーレンス次数を変化させる。

$\hat{I}_z$  に  $90^\circ_x$  を照射すると、 $p = \pm 1$  の対称的なコヒーレンスを生み出す。

$180^\circ_x$  パルスはコヒーレンス次数を反転させる。

(iii)  $p = -1$  のコヒーレンスだけが FID 信号をあたえる。

NMR 分光法においては、 $p = 0$  の平衡磁化に  $90^\circ$  パルスを照射して  $p = \pm 1$  のコヒーレンスを生成する。その後のパルス照射によって様々なコヒーレンス次数の直積演算子が現れてくるが、FID 信号は  $Tr\{\hat{\sigma}\hat{I}^+\}$  に比例するので、最後は  $\hat{\sigma}$  内の  $p = -1$  の項だけが FID 信号を発生する。

(iv) 「位相回し」によって必要なコヒーレンス項だけを残す。

選択したコヒーレンスの変化を表すコヒーレンス移行パス (coherence transfer pathway; CTP と略す) をパルスプログラムに付属しておくことで各パルスの役割がよく分かる。

(v) 異種核多次元 NMR の場合には、CTP をそれぞれの核種に対して描く。

I および S スピンの次数が、それぞれ  $p_I, p_S$  のとき、その状態のコヒーレンス次数は  $p_I + p_S$  である。スピンの I へのパルスは  $p_I$  だけを変化させ、 $p_S$  に影響しない。同様にスピンの S へのパルスは  $p_S$  に影響を与えない。観測核が I で異種核が S の場

合、FID 信号が観測可能であるためには  $p_1 = -1$ 、 $p_s = 0$  で終わらなければならない。 $p_s \neq 0$ だと、状態は I と S スピンの多量子コヒーレンスとなるため、FID 信号を与えないからである。

(vi) コヒーレンス次数を  $p$  から  $q$  に変える rf-パルス  $\hat{U}$  の位相を  $\phi$  だけ変えて  $\hat{\sigma}_p$  に照射すると、状態  $\hat{\sigma}_q$  の位相は  $-\Delta p \cdot \phi$  だけ変化する。ただし  $\Delta p = q - p$  である。

$$\hat{\sigma}_p \xrightarrow{\hat{U}} \hat{\sigma}_q \text{ のとき } \hat{U}' = e^{-i\phi \hat{I}_z} \hat{U} e^{i\phi \hat{I}_z} \text{ として } \hat{\sigma}_p \xrightarrow{\hat{U}'} e^{-i\Delta p \cdot \phi} \hat{\sigma}_q \quad (25.2)$$

【証明】 次数  $p$  のコヒーレンス  $\hat{\sigma}_p$  を次数  $q$  のコヒーレンス  $\hat{\sigma}_q$  に変換する rf-パルスを演算子  $\hat{U}$  で表すと、 $\hat{\sigma}_q = \hat{U} \hat{\sigma}_p \hat{U}^{-1}$  である。rf-パルスの位相を  $\phi$  だけ変えるということは、演算子  $\hat{U}$  を  $z$  軸のまわりで角度  $\phi$  だけ回転させることに対応する。そのパルスを  $\hat{U}'$  とすると、 $\hat{U}' = e^{-i\phi \hat{I}_z} \hat{U} e^{i\phi \hat{I}_z}$  である。したがって、

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}' &= \hat{U}' \hat{\sigma}_p \hat{U}'^{-1} = e^{-i\phi \hat{I}_z} \hat{U} \left[ e^{i\phi \hat{I}_z} \hat{\sigma}_p e^{-i\phi \hat{I}_z} \right] \hat{U}^{-1} e^{i\phi \hat{I}_z} = e^{-i\phi \hat{I}_z} \hat{U} e^{ip\phi} \hat{\sigma}_p \hat{U}^{-1} e^{i\phi \hat{I}_z} \\ &= e^{ip\phi} e^{-i\phi \hat{I}_z} \hat{U} \hat{\sigma}_p \hat{U}^{-1} e^{i\phi \hat{I}_z} = e^{ip\phi} e^{-i\phi \hat{I}_z} \hat{\sigma}_q e^{i\phi \hat{I}_z} = e^{ip\phi} \cdot e^{-iq\phi} \hat{\sigma}_q = e^{-i\Delta p \cdot \phi} \hat{\sigma}_q \end{aligned} \quad (25.3)$$

このように状態  $\hat{\sigma}_p$  に、位相を  $\phi$  だけ変えた rf-パルス  $\hat{U}'$  を照射すると、状態  $\hat{\sigma}_q$  の位相が  $-\Delta p \cdot \phi$  変化する。

【例】 rf-パルス  $\hat{U}$  を照射すると、コヒーレンス次数  $p=2$  の状態  $\hat{\sigma}_2$  (例えば  $\hat{I}_1^+ \hat{I}_2^+$ ) がコヒーレンス次数  $p=-1$  の状態  $\hat{\sigma}_{-1}$  (例えば  $\hat{I}_1^-$ ) になるとする。このとき、パルス  $\hat{U}$  の位相を  $\phi_p$  変化させて  $\hat{\sigma}_2$  に照射すると、 $\Delta p = -1 - 2 = -3$  であるため、パルスを照射後の演算子には位相変化を表す  $e^{-i\Delta p \cdot \phi_p} = e^{i3\phi_p}$  という因子がかかって  $e^{i3\phi_p} \hat{\sigma}_{-1}$  という状態になる。

## 26. rf-パルスや受信器の位相を変える

### (1) rf-パルスの位相を変える具体的方法

実験室座標系  $XYZ$  で見れば、パルスを発生する発振コイルは  $X$  軸方向に固定されている。回転座標系  $(x, y, z)$  の  $x$  軸や  $y$  軸あるいは  $-x$  軸から rf-パルスを照射する (パルスを照射している間、 $x$  軸あるいは  $y$  軸に沿って静止した磁場を発生させる) ということは、実際どのようにして実現できるのだろうか。それは、すでに 6 節で述べたように、 $X$  軸に固定された発振コイルに流す rf-パルスの振動電流の初期位相  $\phi$  を変えることによって実現できる。それを考察してみよう。周波数  $|\omega_{rf}|$  で直線的に振動する磁場を実験室系の  $X$  軸に沿って発振していて、それを  $B_1(t) \cdot \vec{e}_x$  とする。

$$B_1(t) = \cos(\omega_{rf}|t - \phi) = (1/2) \left[ e^{i(\omega_{rf}|t - \phi)} + e^{i(-\omega_{rf}|t + \phi)} \right] \quad (26.1)$$

第1項は角速度 $|\omega_{rf}|$ でZ軸の正方向に回転する円偏光磁場を表し、第2項は $|\omega_{rf}|$ でZ軸の負方向に回転する円偏光磁場を表している。回転座標系において静止している磁場だけが磁気共鳴に関与するので、第1項の円偏光磁場は無視してよい。Z軸に対して $\omega_{rf} (< 0)$ で回転する回転座標系の座標軸をxyzとすると、z軸は実験室系のZ軸と一致しており、時刻 $t=0$ のときx軸はX軸と一致しているとする。第2項の円偏光磁場は、初期位相 $\phi$ の位置から角速度 $|\omega_{rf}|$ でZ軸の負方向に回転しているので、回転座標系で観測すると、xy平面内でx軸から角度 $\phi$ の位置に静止してxy平面と一緒に回転している。この角度 $\phi$ のことをrfパルスの位相といい $\phi_p$ で表す。従って、 $\phi_p = 0$ にしてrfパルスを照射すると、磁化ベクトルはx軸を中心にして回転し、 $90^\circ$ 倒れるまでrfパルスを照射すると、 $90^\circ_x$ というパルスになる。また $\phi_p = \pi/2$ の場合は、 $90^\circ_y$ というパルスに対応する。すなわち、実験室系に固定された発振コイルの振動電流の初期位相を $\phi_p = 0, \pi/2, \pi, 3\pi/2$ と変える事によって、rfパルスはx軸、y軸、 $-x$ 軸、 $-y$ 軸から照射されたパルス状の静止磁場ということになる。

$90^\circ$ パルスの位相を変えたときの影響を古典的なベクトル模型で考察しよう。いまx軸から $90^\circ_x$ パルスを照射すると、磁化ベクトルの初期位置は $-y$ 軸上にきて、X軸上に固定された検出コイルには $\cos(\omega_0 t - \pi/2) \cdot e^{-t/T_2}$  ( $\omega_0 < 0$ 、当面、緩和因子 $e^{-t/T_2}$ を1とする) というFID信号が検出される。19節で述べたように、このFID信号を直交位相検波器に通して複素FID信号に変換すると、オフセット周波数を $\Omega = \omega_0 - \omega_{rf}$ として、 $(1/2)e^{i(\Omega t - \pi/2)} = -(i/2)e^{i\Omega t}$ という複素数になり、振幅を因子 $2i$ によって補正すると複素FID信号は $e^{i\Omega t}$ に比例する。x軸からさらに位相 $\phi_p$ だけすすめて $90^\circ$ パルスを照射すると、検出コイルには $\cos(\omega_0 t - \pi/2 + \phi_p)$ というFID信号が検出され、直交位相検波器に通すと、 $-(i/2)e^{i(\Omega t + \phi_p)}$ という複素数になる。従って、 $90^\circ$ パルスの位相を $\phi_p$ にしてrfパルスを照射した結果は、振幅補正を考慮して複素FID信号が $e^{i(\Omega t + \phi_p)}$ となる。

密度演算子を用いて複素FID信号を厳密に計算してみよう。 $90^\circ_x$ パルスを表す変換演算子を $\hat{U}$ として、熱平衡状態 $\hat{I}_z$ に照射すると $\hat{U}\hat{I}_z\hat{U}^{-1} = -\hat{I}_y = -(i/2)(\hat{I}^- - \hat{I}^+)$ になる。このとき、 $\hat{I}^-$ だけが観測可能な磁化を与えるので、それを $\hat{H} = \Omega\hat{I}_z$ のもとで自由歳差運動させると $\hat{\sigma}(t) = -(i/2)e^{i\Omega t}\hat{I}^-$ となり、 $Tr\{\hat{\sigma}\hat{I}^+\} = -(i/2)e^{i\Omega t}$ となる。その結果、振幅補正を行って複素FID信号は $e^{i\Omega t}$ となる。一方、 $90^\circ_x$ パルスの位相を $\phi_p$ だけ変え

ると  $rf$ -パルスの演算子は  $\hat{U}' = e^{-i\phi_p \hat{I}_z} \hat{U} e^{i\phi_p \hat{I}_z}$  となる。その結果、

$$\hat{U}' \hat{I}_z \hat{U}'^{-1} = e^{-i\phi_p \hat{I}_z} \hat{U} \hat{I}_z \hat{U}^{-1} e^{i\phi_p \hat{I}_z} = -(i/2) e^{-i\phi_p \hat{I}_z} (\hat{I}^- - \hat{I}^+) e^{i\phi_p \hat{I}_z} = -(i/2) (e^{i\phi_p} \hat{I}^- - e^{-i\phi_p} \hat{I}^+)$$

となる。 $\hat{I}^-$  の項だけが観測可能な量なので、これを  $\hat{H}$  で時間展開して複素 FID 信号を求めると、振幅補正を考慮して  $e^{i(\Omega + \phi_p)}$  となる。この結果はベクトル模型による考察と首尾一貫している。位相変化  $\phi_p$  の影響をもっと一般的に述べると、 $\hat{U}$  の作用によってコヒーレンス次数  $p$  の演算子  $\hat{\sigma}_p$  が演算子  $\hat{\sigma}_q$  (次数  $q$ ) に変わる場合、 $\hat{U}$  の位相を  $\phi_p$  変えると、その  $\hat{\sigma}_q$  の項には位相因子  $e^{-i(\Delta p)\phi_p}$  が掛かる。ただし、 $\Delta p = q - p$  である。上記の例では、 $\hat{\sigma}_p = \hat{I}_z$  で、 $\hat{\sigma}_q = \hat{I}^-$  の場合  $\Delta p = -1$ 、 $\hat{\sigma}_q = \hat{I}^+$  の場合  $\Delta p = +1$  であった。

## (2) 受信器の位相を変える具体的方法

$rf$ -パルスの位相を  $\phi_p$  変えるのと同様、受信された FID 信号の位相を  $\phi_r$  変えることも可能である。ベクトル模型で考えてみよう。 $X$  軸に設置した受信器で観測すると  $e^{i(\Omega + \phi_p)}$  に従って運動している複素磁化ベクトルがある。受信器の位置を  $\phi_r$  だけ  $Y$  軸側に移動すると、複素磁化ベクトルの運動は  $e^{i(\Omega + \phi_p - \phi_r)}$  と表され、これが受信された複素 FID 信号となる。受信器の位置を移動させるためには、具体的にどうすればよいのだろうか。受信器が  $X$  軸上にあるとき、 $R$  チャンネル、 $I$  チャンネルには  $e^{i(\Omega + \phi_p)}$  の実数部、虚数部のデータが格納されているので、 $R$  チャンネルのデータに因子  $\cos \phi_r$  を掛けたものと、 $I$  チャンネルのデータに  $\sin \phi_r$  を掛けたものとの和をとって、 $\cos \phi_r \cdot R + \sin \phi_r \cdot I$  を新しく  $R$  チャンネルのデータとし、同様に、 $\cos \phi_r \cdot I - \sin \phi_r \cdot R$  を  $I$  チャンネルのデータとして書き換えると、新しい複素 FID データは次のようになる。

$$\begin{aligned} & \cos \phi_r \cdot \cos(\Omega t + \phi_p) + \sin \phi_r \cdot \sin(\Omega t + \phi_p) \\ & + i [\cos \phi_r \cdot \sin(\Omega t + \phi_p) - \sin \phi_r \cdot \cos(\Omega t + \phi_p)] = e^{i(\Omega t + \phi_p)} \cdot e^{-i\phi_r} = e^{i(\Omega t + \phi_p - \phi_r)} \quad (26.2) \end{aligned}$$

これは受信器の位相を  $\phi_r$  変化させて、複素 FID 信号を観測したことに対応する。

もっと一般的に表現すると、 $\phi_r = 0$  で受信された FID データ： $R + iI$  を用いて、

$$R \cos \phi_r + I \sin \phi_r + i [I \cos \phi_r - R \sin \phi_r] = R e^{-i\phi_r} + i I e^{-i\phi_r} = e^{-i\phi_r} \cdot (R + iI)$$

と処理する。すなわち、位相因子  $e^{-i\phi_r}$  が掛かることになる。

## (3) $rf$ -パルスや受信器の位相を変えて FID データを積算する

受信器の位相を  $\phi_r = 0^\circ$  に固定して、 $90^\circ$  パルスの位相  $\phi_p$  を  $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ$  と変

えて照射し、観測される複素 FID 信号を積算すると、 $\Delta p = -1$  のとき位相変化の因子  $e^{i\phi_p}$  の和は、 $1 + e^{i(\pi/2)} + e^{i(\pi)} + e^{i(3\pi/2)} = 1 + i - 1 - i = 0$  となって演算子は消滅する。一方、 $90^\circ$  パルスを常に  $x$  軸 ( $\phi_p = 0$ ) から照射して、受信器の位相  $\phi_r$  を  $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ$  と変えると、観測される複素 FID 信号に掛かる位相因子  $e^{-i\phi}$  の和をとると、 $1 + e^{-i\pi/2} + e^{-i\pi} + e^{-i(3\pi/2)} = 0$  となり、積算された複素 FID 信号は消滅する。つぎに、 $\phi_p$  を  $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ$  と変えて照射しても、受信器の位相  $\phi_r$  を同様に  $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ$  と変えると、複素 FID 信号にかかる位相因子  $e^{i(\phi_p - \phi_r)}$  は差  $\phi_p - \phi_r$  が常にゼロとなるので、積算されたものは信号強度が 4 倍になる。

#### (4) 「位相回し」によるコヒーレンスの選別

$rf$ -パルスがコヒーレンス次数を  $\Delta p$  だけ変えるとき、そのパルスの位相を  $\phi_p$  だけ変えると、観測されるコヒーレンスには位相因子  $e^{-i(\Delta p)\phi_p}$  が掛かることをすでに指摘した。受信器の位相を  $\phi_r$  にして、位相  $\phi_p$  の  $rf$ -パルスを照射する。このパルスによってコヒーレンス次数が  $\Delta p$  だけ変化する場合、観測される複素 FID 信号にかかる位相因子は  $e^{i(-\Delta p)\phi_p - \phi_r}$  である。 $\phi_p$  と  $\phi_r$  をうまく変化させて、この位相因子の和がゼロとならないようにすることによって、必要なコヒーレンス次数の変化だけを選択する方法が「位相回し」と呼ばれる方法である。

具体的な例として、 $rf$ -パルスによって、次数が  $p = 2$  から  $q = -1$  に変化するコヒーレンス移行パス (CTP) を選択的に残して、他のコヒーレンスを消滅させたいとしよう。 $\phi_p$  を  $[0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$  と変化させると、観測される FID データの位相は、 $-(\Delta p) \cdot \phi_p = 3\phi_p = [0^\circ, 270^\circ, 540^\circ = 180^\circ, 810^\circ = 90^\circ]$  と変わる。受信器の位相  $\phi_r$  を  $3\phi_p$  と同様に  $[0^\circ, 270^\circ, 180^\circ, 90^\circ]$  と回すと、合計した位相変化  $3\phi_p - \phi_r$  は常に  $0^\circ$  となるので、4 ステップの FID 信号を積算すると強度が 4 倍に増強される。他の  $\Delta p$  の場合も、計算して表にすると下記のようなになる。このとき、コヒーレンス次数の変化、 $\Delta p$  が  $-2, -1, 0$  となるコヒーレンスは、受信器の位相と合計した位相変化  $-\Delta p \cdot \phi_p - \phi_r$  が表のようなになる。位相因子の和は、いずれも

$$e^0 + e^{i(\pi/2)} + e^{i\pi} + e^{i(3\pi/2)} = 0 \quad \text{あるいは、} \quad e^0 + e^{i\pi} + e^0 + e^{i\pi} = 0$$

となり、積算された複素 FID 信号は消滅する。つまり、受信器の位相変化  $\phi_r$  が、 $\phi_p$  による位相変化  $-\Delta p \cdot \phi_p$  に完全に追従するものだけが選択的に残されることになる。

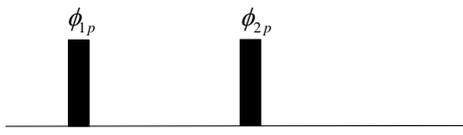
		$\Delta p = -3$			$\Delta p = -2$	
step	$\phi_p$	$3\phi_p$	$\phi_r$	$3\phi_p - \phi_r$	$2\phi_p$	$2\phi_p - \phi_r$
1	$0^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$
2	$90^\circ$	$270^\circ$	$270^\circ$	$0^\circ$	$180^\circ$	$-90^\circ=270^\circ$
3	$180^\circ$	$540^\circ=180^\circ$	$180^\circ$	$0^\circ$	$360^\circ=0^\circ$	$-180^\circ=180^\circ$
4	$270^\circ$	$810^\circ=90^\circ$	$90^\circ$	$0^\circ$	$540^\circ=180^\circ$	$90^\circ$

		$\Delta p = -1$		$\Delta p = 0$		$\Delta p = 1$	
step	$\phi_p$	$1\phi_p$	$1\phi_p - \phi_r$	$0\phi_p$	$0\phi_p - \phi_r$	$-1\phi_p$	$-1\phi_p - \phi_r$
1	$0^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$
2	$90^\circ$	$90^\circ$	$-180^\circ=180^\circ$	$0^\circ$	$-270^\circ=90^\circ$	$-90^\circ=270^\circ$	$0^\circ$
3	$180^\circ$	$180^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$	$-180^\circ=180^\circ$	$-180^\circ=180^\circ$	$0^\circ$
4	$270^\circ$	$270^\circ$	$180^\circ$	$0^\circ$	$-90^\circ=270^\circ$	$-270^\circ=90^\circ$	$0^\circ$

一般に  $N$  ステップでパルスの「位相回し」が行われる場合、ステップ毎の位相変化は  $\phi_p = 360^\circ/N$  となり、「位相回し」によって CTP が選択される  $\Delta p$  の値は  $N$  周期ごとに現れる。したがって  $N=4$  の「位相回し」を実行すると、 $\Delta p = -3$  のコヒーレンスが選択される場合、 $\Delta p = (-3), -2, -1, 0, (1), 2, \dots$  となって、( ) 付で示された次数変化のコヒーレンスが選択的に残り、 $\Delta p$  が他の値となる CTP は消滅する結果となる。

(5) 複合パルス列に対する「位相回し」

右に示したような複数のパルスから構成される複合パルス列において、特定のコヒーレンス移行パス (CTP) を選択的に残すためには、どのような「位相回し」をする必要があるのだろうか。第 1 のパルスでは  $\Delta p_1 = 1$  を、第 2 のパルス



では  $\Delta p_2 = -2$  だけを残す CTP を選別したいとする。第 1 のパルスの位相  $\phi_{1p}$  を  $[0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$  と回し、第 2 のパルスの位相  $\phi_{2p}$  も  $[0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$  と変化させる。 $\phi_{1p}$ 、 $\phi_{2p}$  の値のすべての組み合わせに対して複素 FID 信号を測定して積算する必要がある。

つまり最初は $\phi_{2p}$ を $0^\circ$ に固定して、 $\phi_{1p}$ の値を4ステップで回して測定し、つぎに $\phi_{2p}$ を $90^\circ$ に固定して同様の測定を繰り返し、最終的には合計 $4 \times 4 = 16$ 回の「位相回し」を行う。第1のパルス照射によって $-(1) \cdot \phi_{1p}$ の位相変化がおき、第2のパルス照射によって $-(-2) \cdot \phi_{2p}$ の位相変化が起きるので、受信器の位相を $\phi_r = -\phi_{1p} + 2\phi_{2p}$ に設定して複素FID信号を積算すると、目的のCTPだけが残って他のCTPは消滅する結果が得られる。具体的な測定の手続きを述べると、 $\phi_{1p}$ または $\phi_{2p}$ を $[0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$ と変えるとき、 $-\phi_{1p} = [0^\circ, 270^\circ, 180^\circ, 90^\circ]$ 、 $2\phi_{2p} = [0^\circ, 180^\circ, 0^\circ, 180^\circ]$ となるので、 $\phi_{2p} = 0^\circ$ のとき、 $\phi_r = -\phi_{1p} + 2\phi_{2p} = -\phi_{1p} + 0$ より、 $\phi_r = [0^\circ+0^\circ, 270^\circ+0^\circ, 180^\circ+0^\circ, 90^\circ+0^\circ]$ と設定して複素FIDを測定し、つぎに2回目の「位相回し」では、 $\phi_{2p} = 90^\circ$ と設定して、 $2\phi_{2p} = 180^\circ$ となるので、 $\phi_r = [0^\circ+180^\circ, 270^\circ+180^\circ=90^\circ, 180^\circ+180^\circ=0^\circ, 90^\circ+180^\circ=270^\circ]$ と設定して「位相回し」を実行する。さらに、 $\phi_{2p} = 180^\circ$ 、 $\phi_{2p} = 270^\circ$ のときも同様の方法で $\phi_r$ の値を設定して合計16回の位相回しを繰り返して、複素FID信号を積算する。その結果、第1のパルスでは $\Delta p_1 = 1$ のコヒーレンスを選択し、第2のパルスでは $\Delta p_2 = -2$ のコヒーレンスを選択することが実現できたことになる。つまり、 $4 \times 4 = 16$ 回の位相回しで、受信器の位相を $\phi_r = -\Delta p_1 \phi_{1p} - \Delta p_2 \phi_{2p}$ と設定して実行すれば、望ましいCTPの選択が実現できたことになる。

## 27. コヒーレンス選択の実例

「位相回し」によって特定のコヒーレンス移行パス (CTP) が選別される様子を具体的に見てみよう。実例として COSY、DQF-COSY、HSQC、TOCSY、NOESY パルスプログラムについて考察する。

### (1) COSY における「位相回し」

COSY のパルスプログラムと CTP を図 27 に示す。パルスプログラムの下に示された線は、それぞれの時期に選択される  $\hat{\sigma}$  のコヒーレンスを表している。 $+1, 0, -1$  はコヒーレンスレベルの次数を表し、最初の平衡状態では  $p=0$  である。第 1 のパルスの後  $p=\pm 1$  の状態が生じ、2 番目のパルスの後、 $p=-1$  のコヒーレンス状態だけが選択されて FID の観測にかかることを示している。この図を Coherence Transfer Pathway (CTP) と呼ぶ。

第 1 のパルスで必ず  $p=\pm 1$  のコヒーレンスが生まれ、第 2 のパルスの後は式(20.3)のように  $p=\pm 2, 0, \pm 1$  の各コヒーレンスが生まれるが、「位相回し」をしなくても、CTP 図に示されたように自動的に  $p=-1$  だけが選択される。なぜなら、 $\langle M^+ \rangle \propto Tr\{\hat{\sigma} \hat{I}^+\}$  としてゼロにならない FID 信号を生み出すのは、 $p=-1$  の  $\hat{\sigma}$  だけだからである。従って、パルスの位相は  $\phi_{1p}$  も  $\phi_{2p}$  も一定値に固定しておけばよい。

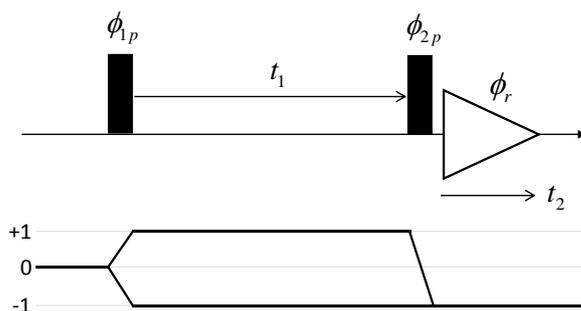


図 27 COSY のパルスプログラムと CTP

また受信器の位相  $\phi_r$  も固定値でよい。つまり CTP を選択するために「位相回し」は必要ない。しいて行うとしたら、 $\phi_{1p} = [0^\circ, 180^\circ]$ 、 $\phi_r = [0^\circ, 180^\circ]$  と位相変化させるとよい。

これは2ステップの「位相回し」で、2次元 NMR スペクトルに現れる「軸性ピーク」と呼ばれるアーチファクトの消去に有効な手段である。他にも、直交位相検波器のハードウェアの不完全さに起因するアーチファクトを消去するのに有効な CYCLOPS という4ステップの「位相回し」もよく知られている。

-----

**軸性ピークの消去:** 「軸性ピーク」とは  $\omega_1 = 0$  の軸上に現れるピーク ( $\omega_2$  の値は観測核のオフセット周波数) のことである。このようなピークが現れる原因は  $t_1$  時間展開期におきる励起スピンの緩和過程によって不可避免的に生じる  $z$  磁化が、その後の読み出しパルスによって、横磁化に変化して小さなアーチファクトのピークとして観測にかかるからである。 $t_1$  時間のあいだは  $z$  磁化なので、 $t_1$  時間依存性のない定数項となるため、 $\omega_1 = 0$  の「軸性ピーク」となる。不要なピークなので消去するのが望ましい。そのためには、 $\phi_{1p} = [0^\circ, 180^\circ]$ 、 $\phi_r = [0^\circ, 180^\circ]$  と位相を回すとよい。 $\phi_{1p} = 180^\circ$  にすると、 $t_1$  時間展開期のコヒーレンス (横磁化) に起因する項は、 $\phi_{1p} = 0^\circ$  のときに比べて、すべて逆符号になるので、 $\phi_r = 180^\circ$  とすると FID 信号は積算されて残る。しかし、 $t_1$  展開期の定数項は  $\phi_p$  を反転した影響を受けないので、 $\phi_r = 180^\circ$  として積算すると軸性ピークは打ち消されて消滅する。

**CYCLOPS:** 「位相回し」と同様の手法でアーチファクトを取り除く手段である。複素 FID 信号を測定するために「直交位相検波」が行われるが、複素数の実数部と虚数部を取り込むために2つの検出器を通るルートが使用される (図 14 参照)。理想的には、2つの検出器の位相の差が完全に  $90^\circ$  となり、得られる電気信号の振幅が完全に等しく、ノイズの DC 成分が完全にそろっていることが望まれる。しかし、ハードウェア (電子回路) の完璧さを期待することはできないので、不完全さに伴うアーチファクトが現れる。それは **Quadrature Artifacts** と呼ばれる。これを取り除くために、 $\phi_p = [0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$ 、 $\phi_r = [0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$  と4ステップで「位相回し」を実行する。詳細な説明は省くが、一例として、R チャンネルの FID データの振幅が 1 で、I チャンネルのデータの振幅が  $(1+\epsilon)$  であったとする。オフセット周波数  $+\Omega$  の正規の共鳴線が観測される場合、「位相回し」による複素 FID 信号の積算をしないと、周波数  $-\Omega$  の位置に小さな偽の共鳴線が現れる。これは直交位相検波器によるミラーイメージと呼ばれるアーチファクトの一種である。「位相回し」でこれが消える仕組みを考察してみよう。観測される複素

FID 信号は、両チャンネルの信号の振幅の違いを考慮すると、

$$\cos(\Omega t + \phi_p) + i(1 + \varepsilon)\sin(\Omega t + \phi_p) = (1 + \varepsilon/2)e^{i(\Omega t + \phi_p)} - (\varepsilon/2)e^{-i(\Omega t + \phi_p)} \quad (27.1)$$

と表される。受信器の位相  $\phi_r$  を  $\phi_p$  に追従させて「位相回し」をすると、複素 FID 信号は

$$\left[ (1 + \varepsilon/2)e^{i(\Omega t + \phi_p)} - (\varepsilon/2)e^{-i(\Omega t + \phi_p)} \right] e^{-i\phi_r} = (1 + \varepsilon/2)e^{i(\Omega t + \phi_p - \phi_r)} - (\varepsilon/2)e^{-i(\Omega t + \phi_p + \phi_r)} \quad (27.2)$$

となる。 $\phi_r = \phi_p$  より、積算すると第 1 項は 4 倍強度の正規の共鳴線を与える。一方、第 2 項は周波数が  $-\Omega$  のミラーイメージであるが、積算すると、 $e^{-i(\phi_p + \phi_r)}$  の和が、

$$e^0 + e^{-i\pi} + e^{-i2\pi} + e^{-i3\pi} = 0$$

と打ち消しあってミラーイメージは消滅する。

## (2) DQF-COSY における「位相回し」

DQF-COSY のパルスプログラムと CTP を図 28 に示す。第 2 の  $90^\circ$  パルス後の状態は COSY のときと同じで、 $p = \pm 2, \pm 1, 0$  の積演算子が存在しているが、 $p = \pm 2$  のコヒーレンスだけを選択するような「位相回し」を行う。 $\phi_{1p} = \phi_{2p} = 0^\circ$  に固定して、第 3 のパルスの位相を、 $\phi_{3p} = [0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$  と変え、 $p = +2 \rightarrow p = -1$  ( $\Delta p = -3$ )

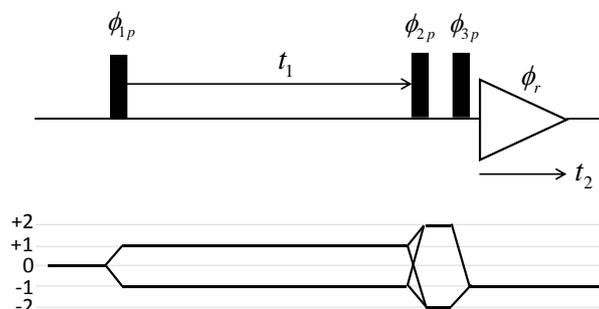


図 28 DQF-COSY と CTP の図

と、 $p = -2 \rightarrow p = -1$  ( $\Delta p = 1$ ) のコヒーレンス移行パス (CTP) だけを選択するためには、 $\Delta p = -3$  の場合、 $\phi_{3p}$  の位相回しに応じて第 3 パルス後に生じたコヒーレンスの位相が  $3\phi_{3p} = [0^\circ, 270^\circ, 540^\circ = 180^\circ, 810^\circ = 90^\circ]$  と変化するので、受信器の位相もこれに応じて、 $\phi_r = 3\phi_{3p} = [0^\circ, 270^\circ, 180^\circ, 90^\circ]$  と変化するように位相を変える必要がある。その結果、積算された複素 FID データは 4 倍に増強されて観測される。26 節 4 項ですでに述べたように、この「位相回し」によって選択される  $\Delta p$  は、(-3), -2, -1, 0, (1) と周期

4で繰り返されるので、 $\Delta p = 1$ の場合も FID は観測されるが、他の CTP はデータ積算のさいに位相の不整合のため打ち消されて消滅する。結局、前述のような「 $\phi_{3p}$ と $\phi_r$ の位相回し」によって、第2の $90^\circ$ パルス後のコヒーレンスレベル $p = \pm 2$ の状態だけが選択されて、他のコヒーレンス状態が消去されたことに相当する。すなわち、2量子フィルターを適用した COSY スペクトルが測定されたことになる。

### (3) HSQC における「位相回し」

図 29 は HSQC のパルスプログラムと I スピン、S スピンに対するコヒーレンス移行パス (CTP) のチャートを示す。22 節において HSQC スペクトルの説明のさいに述べたように、I スピンへの第2の $90^\circ_y$ パルス後、式(22.2)の中に $\hat{I}_y$ というコヒーレンスが残る。この項は、その後のスピンエコーによって、展開時間 $t_1$ に依存するどんな

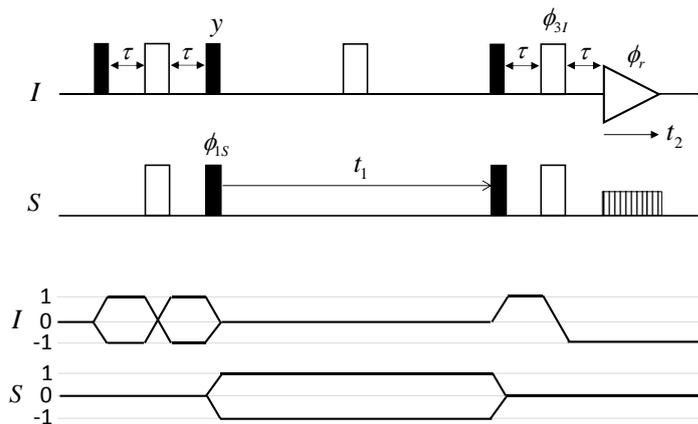


図 29 HSQC のパルスプログラムと CTP

情報ももたらさないので、「位相回し」によって消去する方がよい。同時に、S スピンと J-結合していない I スピンのコヒーレンスが測定されると HSQC スペクトルには無用のシグナルとなるのでこれを除く効果もある。そのために次の方法をとる。I スピンへの $90^\circ_y$ パルスの照射後、 $\hat{\sigma}$ は $\hat{I}_y$ と $2\hat{I}_z\hat{S}_z$ という状態に変化し、同時に S スピンへの $90^\circ_x$ パルスによって $\hat{\sigma}$ は $\hat{I}_y$ と $2\hat{I}_z\hat{S}_y$ に比例する状態へと変わる。つまり、S スピンへの $90^\circ_x$ パルスは $\Delta p_s = \pm 1$ というコヒーレンス変化を招くので、このパルスの位相を $\phi_{1s} =$

$[0^\circ, 180^\circ]$ と変えると、 $2\hat{I}_z\hat{S}_y$ という状態には $-(\Delta p_s)\phi_{1s} = \mp\phi_{1s}$ という位相因子が掛かる。最終的には演算子は観測核 I の横磁化に変わるが位相因子はそのまま残るので、受信器の位相を $\phi_{1r} = -(\Delta p_s)\phi_{1s} = [0^\circ, 180^\circ]$ と変えれば、 $2\hat{I}_z\hat{S}_y$ という状態は位相回しによって選択されたことになる。一方、I スピンへの $90^\circ_y$ パルスの位相は固定されているので、 $\phi_{1r}$ の位相回しによって $\hat{I}_y$ に起因する信号は打ち消しあって消滅する。

つぎに I スピンに照射する第 3 の  $180^\circ$ パルスは、 $\Delta p_I = -2$ を選択的に残したいので、パルスの位相を $\phi_{3I} = [0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$ と変え、 $\phi_{2r} = -(-2)\phi_{3I}$ として、受信器の位相を $\phi_{2r} = [0^\circ, 180^\circ, 0^\circ, 180^\circ]$ と「位相回し」を行う。これは EXORCYCLE と呼ばれる。このとき $\Delta p_I = +2$ も選択されるが、 $p_I = -1$ 以外は観測されないので CTP の図に描いてない。結局、 $\Delta p_s = \pm 1$ を選別する「位相回し」と、 $\Delta p_I = \pm 2$ を選別する「位相回し」を同時に満たすためには、 $\phi_{1s}$ と $\phi_{3I}$ の位相変化のすべての組み合わせに対して、 $\phi_{1r}$ と $\phi_{2r}$ を加算したものを最終的な $\phi_r$ として実行する。つまり、合計 8 ステップの次のような「位相回し」を行えばよい。

step	1	2	3	4	5	6	7	8
$\phi_{1s}$	$0^\circ$	$180^\circ$	$0^\circ$	$180^\circ$	$0^\circ$	$180^\circ$	$0^\circ$	$180^\circ$
$\phi_{3I}$	$0^\circ$	$0^\circ$	$90^\circ$	$90^\circ$	$180^\circ$	$180^\circ$	$270^\circ$	$270^\circ$
$\phi_r = \phi_{1r} + \phi_{2r}$	$0^\circ$	$180^\circ$	$180^\circ$	$0^\circ$	$0^\circ$	$180^\circ$	$180^\circ$	$0^\circ$

-----

**EXORCYCLE:** 2次元 NMR 測定のパルスプログラムにはしばしばスピネコーパルスが組み込まれている。理想的な  $180^\circ$ パルスの場合、磁化の完全な refocus が行われるが、一般には  $180^\circ$ パルスの不完全性のために NMR スペクトルに小さなアーチファクトが現れる。不完全性は、 $180^\circ$ パルスに伴う off-resonance 効果とか、パルス幅が正確に、 $180^\circ$ になっていないなどの結果である。 $180^\circ$ パルスは前後のコヒーレンス次数を反転させるので、 $\Delta p = \pm 2$ の CTP を選択的に残し、アーチファクトから生じるそれ以外の $\Delta p$ となる CTP を消去することが望まれる。 $180^\circ$ パルスの位相を $\phi_p = [0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$ と変え、受信器の位相を $\phi_r = 2\phi_p = [0^\circ, 180^\circ, 0^\circ, 180^\circ]$ と変えて「位相回し」を行うと、 $\Delta p = (-2), -1, 0, 1, (2)$  となって、 $\Delta p = \pm 2$ 以外のアーチファクトで生じたコヒーレンス項が消去される。このような「位相回し」による、スピネコーパ

ルスの不完全さに伴うアーチファクトの消去法を EXORCYCLE と呼ぶ。

(4) TOCSY および NOESY における「位相回し」

TOCSY および 2D-NOESY のパルスプログラムと CTP のチャートを図 30 に示す。どちらの場合も第 2 の  $90^\circ$  パルス照射後の状態は COSY の場合と同じで、式(20.3)のようにコヒーレンス次数  $p = \pm 2$  ( $2\hat{I}_{1x}\hat{I}_{2y}$ )、 $p = \pm 1$  ( $\hat{I}_{1x}$ ,  $2\hat{I}_{1z}\hat{I}_{2y}$ )、 $p = 0$  ( $\hat{I}_{1z}$ ) という積演算子の項が存在する。TOCSY の場合も 2D-NOESY の場合も、混合期に存在する  $p = 0$  というコヒーレンスから  $p = -1$  という CTP だけを選択する「位相回し」が

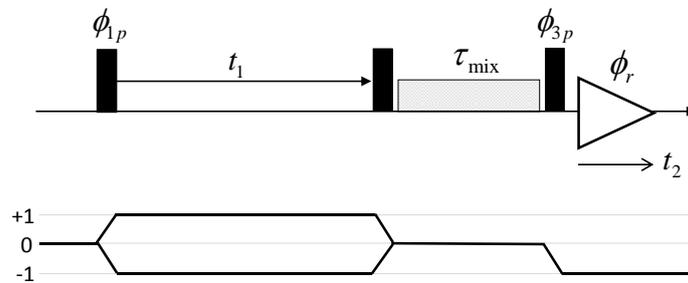


図 30 TOCSY および NOESY のパルスプログラムと CTP

行われる。すなわち、最後の  $90^\circ$  パルスの位相を  $\phi_{3p} = [0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$  と変え、 $\Delta p = -1$  だけを選択的に残すために、受信器の位相を、 $\phi_{2r} = -(-1) \cdot \phi_{3p} = [0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ]$  と変える ( $\phi_{1r}$  については後で軸性ピークを消去するための位相回しとして説明する)。 $\phi_{3p}$  は 4 ステップの「位相回し」なので、 $\Delta p = (-5), (-1), (3)$  が選択される CTP となるが、 $p = -1$  だけが観測可能な FID 信号を与えるので、結局、混合期に存在する  $p = 0$  のコヒーレンスだけが位相回しで選択されたことになる。ただし、以下で述べるように、混合期に共存している  $Z\hat{Q}_y$  も消去できずに残るので、z-filter と呼ばれるパルス列を組み込む必要がある。また、2D-NOESY における式(24.17)の第 3 項のように、第 3 の読み出しパルス後、 $t_1$  に依存しない横磁化が残っていると  $\omega_1 = 0$  の位置に「軸性ピーク」が現れる。これだけを消去し、他の積演算子の項を残すために、24 節ですでに述べたように、最初の  $90^\circ$  パルスの位相を  $\phi_{1p} = [0^\circ, 180^\circ]$  と変え、受信器の位相を  $\phi_{1r} = [0^\circ, 180^\circ]$  と変える必要がある。結局、 $\phi_{1p}$  と  $\phi_{3p}$  のすべてを組み合わせる「位相回し」を行

い、それに対する  $\phi_{1r}$  と  $\phi_{2r}$  の和を受信器の位相  $\phi_r$  として設定することになる。

step	1	2	3	4	5	6	7	8
$\phi_{1p}$	0°	180°	0°	180°	0°	180°	0°	180°
$\phi_{3p}$	0°	0°	90°	90°	180°	180°	270°	270°
$\phi_r = \phi_{1r} + \phi_{2r}$	0°	180°	90°	270°	180°	0°	270°	90°

-----

**z-filter:** TOCSY や NOESY スペクトル測定の場合、 $90^\circ \rightarrow t_1 \rightarrow 90^\circ$  パルス後、 $\hat{I}_z$  という項を選択的に残して、混合時間のあいだに  $z$  磁化間の磁化移行を起こさせる。そのため、「位相回し」によってコヒーレンス次数 0 以外の項を消去して、 $z$  磁化だけを選択的に残すことを実行するが、実は式(20.3)内の  $2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,y}$  という項は  $D\hat{Q}_y - Z\hat{Q}_y$  に等しく、位相回しによって  $D\hat{Q}_y$  の項は消去できても  $Z\hat{Q}_y = (1/2)(2\hat{I}_{1,y}\hat{I}_{2,x} - 2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,y})$  という 0 量子コヒーレンス項が残っている。TOCSY の場合は、混合パルス期の間にもこの 0 量子コヒーレンス項が生成される。 $\hat{I}_{1,z}$  となる  $z$  磁化を  $-\hat{I}_{1,y}$  として FID 信号を観測するために、第 3 の  $90^\circ_x$  パルスを照射すると、 $Z\hat{Q}_y$  の中から  $2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,z}$  という anti-phase SQ の項が現れてくる。どちらも  $I_1$  スピンの横磁化で、前者は  $y$  軸に沿う in-phase SQ であり、後者は  $x$  軸に沿う anti-phase SQ であるため、前者を吸収型とすると、後者は分散型となって重なるため、スペクトル観測の大きな障害となる。つまり、NOESY や TOCSY の混合期には  $\hat{I}_{1,z}$  と  $Z\hat{Q}_y$  の両者が共存していて、どちらも  $p=0$  となるため、位相回しや、あるいは後で述べる磁場勾配パルス法という方法を用いても、 $\hat{I}_{1,z}$  を残して、 $Z\hat{Q}_y$  を消去することはできない。しかし、z-filter という巧妙な方法があって、これを用いると  $\hat{I}_{1,z}$  を残して  $Z\hat{Q}_y$  だけを消去することが可能である。その原理の説明はあまり詳細に立ち入ることになるので、それは避けて  $z$  磁化 ( $\hat{I}_{1,z}, \hat{I}_{2,z}$ ) だけが残せたとして、NOESY や TOCSY の測定原理を説明した。多次元 NMR 分光法では、しばしば、 $Z\hat{Q}_y$  を選択的に消去する必要がある生じるので、z-filter は実用上重要なテクニックである。

## 28. $t_1$ 時間展開期における周波数識別法

パルスフーリエ変換 NMR 測定法においては、様々な化学シフト値をもつスピン

の集団を単一周波数のパルス照射によって一気に  $90^\circ$  倒し、その FID 信号を時間変数  $t_2$  の関数として観測する。rf-パルスの振動周波数は単一の  $\omega_{rf}$  であるが、観測されるスピンの Lamor 周波数  $\omega_0$  は  $\omega_{rf}$  近傍の様々な値をとって分布している。 $\Omega = \omega_0 - \omega_{rf}$  をオフセット周波数と呼び、rf-パルス照射時の off-resonance 効果をなるべく小さくするために、 $\omega_{rf}$  は  $\omega_0$  の周波数帯域の中央付近に選ばれる。したがって、オフセット周波数には正と負の値が存在する。検出コイルで観測される FID 信号は一般に  $\cos(\Omega t_2)$  という形で現れるために、 $\Omega$  の符号を識別することはできない。しかしすでに述べたように、直交位相検波という方法を用いると、横磁化の運動を複素ベクトル表示することができ、 $t_2$  軸上で観測される周波数  $\Omega$  の正負を識別することが可能であった。しかし、1次元目の  $t_1$  時間に対しては、とびとびの値を設定してパルス照射し、観測される FID 信号を  $t_1$  と  $t_2$  の2変数の関数としてメモリーに記録する。したがって、変数  $t_1$  の関数としては、直交位相検波のような方法を用いることができない。すでに 20 節で述べたように、 $\cos(\Omega t_1)$  という FID 信号を単に  $\cos$  フーリエ変換しても、共鳴線は  $\omega = \pm|\Omega|$  という対称的な位置に2本現れて、オフセット周波数の符号の識別をすることはできなかった。そこで  $t_1$  軸上で観測される周波数の識別をどうするかという問題が起きてくる。それを以下で考察してみよう。

(1)  $t_1$  時間展開期における  $\cos$  あるいは  $\sin$  振幅変調信号の生成

2次元 NMR 測定法においては、一般に、 $t_1$  時間展開期に  $\cos$  振幅変調された信号が得られる。例えば、HSQC パルスプログラムにおいて、S スピンに照射した  $90^\circ_x$  パルスで生成した  $2\hat{I}_z\hat{S}_y$  という状態を  $t_1$  時間展開すると、 $\cos(\Omega_s t_1)$  と振幅変調された  $2\hat{I}_z\hat{S}_y$  という状態と、 $\sin(\Omega_s t_1)$  と振幅変調された  $2\hat{I}_z\hat{S}_x$  という項が現れる。しかし、 $t_1$  時間展開終了後の両スピンへの  $90^\circ_x$  というパルスで前者は  $2\hat{I}_y\hat{S}_z$  となって FID 信号を与え、後者は  $2\hat{I}_y\hat{S}_x$  となって FID 信号に寄与しない。従って、1度目の実験の S スピンへの  $90^\circ_x$  パルスでは  $\cos(\Omega_s t_1)$  と振幅変調された信号が観測される (22 節の式(22.5)を参照)。次の実験では  $t_1$  時間展開開始パルスを  $90^\circ_y$  として S スピンに照射すると、上述の  $2\hat{I}_z\hat{S}_y$  に代わって  $2\hat{I}_z\hat{S}_x$  という状態が生じる。これを  $\Omega_s\hat{S}_z$  のもとで  $t_1$  時間展開すると、I スピンの FID 信号に変換できる  $2\hat{I}_z\hat{S}_y$  という項は  $\sin(\Omega_s t_1)$  と振幅変調されている。

このように、 $t_1$  時間展開の開始パルスの位相を  $x$  軸から  $y$  軸にシフトさせることに

よって、一般に  $t_1$  軸の信号を  $\cos$  振幅変調から  $\sin$  振幅変調に切換えることが可能である（その逆も可）。そのようにして得られた両者の信号を適切に処理することによって  $t_1$  期のオフセット周波数の符号を識別することが可能になる。

$$\begin{aligned} \cos \text{ 振幅変調信号} : S_C(t_1, t_2) &= \cos(\Omega_S t_1) e^{-R_1 t_1} e^{i\Omega_I t_2} e^{-R_2 t_2} \\ \sin \text{ 振幅変調信号} : S_S(t_1, t_2) &= \sin(\Omega_S t_1) e^{-R_1 t_1} e^{i\Omega_I t_2} e^{-R_2 t_2} \end{aligned} \quad (28.1)$$

と表すと、 $S_C$  と  $S_S$  を結合して  $t_1$  軸のデータも複素数に変換することができる。

$$S_p(t_1, t_2) = S_C(t_1, t_2) + iS_S(t_1, t_2) = e^{i\Omega_S t_1} e^{-R_1 t_1} \cdot e^{i\Omega_I t_2} e^{-R_2 t_2} \quad (28.2)$$

このとき、 $t_1$  軸上のオフセット周波数  $\Omega_S$  は、 $t_2$  軸上の  $\Omega_I$  と同様、正負の符号が識別されたものとなる。しかし、この複素信号を  $t_1, t_2$  に関して複素フーリエ変換すると、

$$\begin{aligned} S_p(\omega_1, \omega_2) &= \left[ A_{\Omega_S}(\omega_1) + iD_{\Omega_S}(\omega_1) \right] \left[ A_{\Omega_I}(\omega_2) + iD_{\Omega_I}(\omega_2) \right] \\ &= \left[ A_{\Omega_S}(\omega_1)A_{\Omega_I}(\omega_2) - D_{\Omega_S}(\omega_1)D_{\Omega_I}(\omega_2) \right] + \\ &\quad + i \left[ A_{\Omega_S}(\omega_1)D_{\Omega_I}(\omega_2) + D_{\Omega_S}(\omega_1)A_{\Omega_I}(\omega_2) \right] \end{aligned} \quad (28.3)$$

となる。この  $S_p(\omega_1, \omega_2)$  の実数部が NMR スペクトルとして表示されるので、2次元平面上の  $(\omega_1, \omega_2) = (\Omega_S, \Omega_I)$  の位置に共鳴ピークが現れる。しかし、この共鳴ピークは  $\omega_1$  軸に関しても  $\omega_2$  軸に関しても吸収型と分散型のスペクトルが重なり合った複雑な形となり、「ねじれ位相型の共鳴線」といって好ましくない。この問題を回避するために次の2つの方法が採用される。

## (2) States 法 (States-HaberKone-Ruben 法)

$S_C(t_1, t_2)$  を  $t_2$  に関して複素フーリエ変換し、その実数部だけをとると、

$$\text{Re}\{S_C(t_1, \omega_2)\} = \cos(\Omega_S t_1) e^{-R_1 t_1} A_{\Omega_I}(\omega_2) \quad (28.4)$$

つぎに、 $S_S(t_1, t_2)$  を  $t_2$  に関して複素フーリエ変換し、その実数部だけをとると、

$$\text{Re}\{S_S(t_1, \omega_2)\} = \sin(\Omega_S t_1) e^{-R_1 t_1} A_{\Omega_I}(\omega_2) \quad (28.5)$$

$\Omega_S$  の符号を識別するために、この2つを複素数として結合すると、

$$S_{\text{states}}(t_1, \omega_2) = \text{Re}\{S_C(t_1, \omega_2)\} + i \text{Re}\{S_S(t_1, \omega_2)\} = e^{i\Omega_S t_1} e^{-R_1 t_1} A_{\Omega_I}(\omega_2) \quad (28.6)$$

この  $S_{\text{states}}(t_1, \omega_2)$  を、 $t_1$  に関して複素フーリエ変換すると、

$$S_{\text{states}}(\omega_1, \omega_2) = \left[ A_{\Omega_S}(\omega_1) + iD_{\Omega_S}(\omega_1) \right] A_{\Omega_I}(\omega_2) \quad (28.7)$$

この実数部が NMR スペクトルとして表示されるので、スペクトルは  $A_{\Omega_S}(\omega_1)A_{\Omega_I}(\omega_2)$  となり、2次元平面上の点  $(\omega_1, \omega_2) = (\Omega_S, \Omega_I)$  に、周波数の符号が識別されて、吸収型

の共鳴ピークが現れる。この方法の特徴は、同一の  $t_1$  値に対してパルスの位相を変えて 2 回同一の実験を行い  $\cos$  変調型と  $\sin$  変調型のデータを集める必要がある。  $t_1$  の値は、サンプリング時間間隔  $\Delta$  を Nyquist の定理（下記の注を参照）にしたがって決め、  $\Delta$  の整数倍に設定する。

$$t_1 = (m-1)\Delta : m = 1, 2, \dots ; \quad \text{Nyquist の定理より } \Delta = 1/(2f_{ny}) \quad (28.8)$$

ただし  $f_{ny}$  は測定したい最大のオフセット周波数  $\Omega_{\max}$  を Hz 単位で示したもので、  $f_{ny} = \Omega_{\max}/2\pi$  の関係がある。  $f_{ny}$  を Nyquist 周波数という。

### (3) TPPI 法 (time-proportional-phase-incrementation 法)

「位相回し」による周波数識別法ともいえる。  $t_1$  の値を  $\Delta t_1$  間隔で順次増大させながらパルスプログラムを実行し FID を記録していくが、  $t_1$  を増加するたびに  $t_1$  期開始パルスの位相を  $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ$  とシフトさせて、  $t_1$  時間展開期の信号の振幅を  $\sin$  変調、  $\cos$  変調して 2 次元の FID 信号を記録する。以下で具体的な方法を説明するが、このような方法によって、  $t_1$  軸上で観測されるオフセット周波数はすべて正にすることができるので、周波数識別の問題がなくなる。  $t_1$  軸のデータのフーリエ変換を終えた後、  $\omega_1$  軸の周波数を  $-\Omega_{\max}$  だけ平行移動させると、  $-\Omega_{\max} \leq \omega_1 \leq \Omega_{\max}$  の領域に周波数の正負を識別したスペクトルが得られる。

$t_1$  軸のサンプリング間隔を  $\Delta t_1$  として、  $t_1 = (m-1)\Delta t_1 : m = 1, 2, 3, \dots$  と設定して、パルスを照射して得られる FID 信号を次のように表す。

$$S_{TPPI}(\Omega_S t_1) e^{-R_1 t_1} \cdot e^{i\Omega_S t_1} e^{-R_2 t_2} = S_{TPPI}[\Omega_S \cdot (m-1)\Delta t_1] e^{-R_1 t_1} \cdot e^{i\Omega_S t_1} e^{-R_2 t_2} \quad (28.9)$$

$m=1$  は、  $t_1=0$  に対応しているので、  $S_{TPPI}(0)=1$  である。  $m \geq 2$  の場合の  $t_1$  時間に対して、  $m$  が 1 増加するたびに、  $t_1$  時間展開期の開始パルスの位相を  $90^\circ$  ずつシフトさせていくと、交互に  $\sin$  振幅変調、  $\cos$  振幅変調した FID 信号を得ることが可能である。例えば、  $-\sin(\Omega_S \cdot \Delta t_1)$ ,  $-\cos(\Omega_S \cdot 2\Delta t_1)$ ,  $\sin(\Omega_S \cdot 3\Delta t_1)$ ,  $\cos(\Omega_S \cdot 4\Delta t_1)$  と振幅が変化するようにパルスの位相を変えることができる。  $m \geq 6$  の場合は、この 4 ステップの繰り返しである。  $\sin$  関数を  $\cos$  関数で表すと、  $S_{TPPI}$  関数は、

$$m=2 \text{ のとき、 } -\sin(\Omega_S \cdot \Delta t_1) = \cos(\Omega_S \cdot \Delta t_1 + \pi/2)$$

$$m=3 \text{ のとき、 } -\cos(\Omega_S \cdot 2\Delta t_1) = \cos(\Omega_S \cdot 2\Delta t_1 + 2 \cdot \pi/2)$$

$$m=4 \text{ のとき、 } \sin(\Omega_S \cdot 3\Delta t_1) = \cos(\Omega_S \cdot 3\Delta t_1 + 3 \cdot \pi/2)$$

$$m=5 \text{ のとき、} \cos(\Omega_S \cdot 4\Delta t_1) = \cos(\Omega_S \cdot 4\Delta t_1 + 4 \cdot \pi/2)$$

と表される。したがって、すべての整数値  $m$  に対して、

$$\begin{aligned} S_{TPPI}[\Omega_S \cdot (m-1)\Delta t_1] &= \cos[\Omega_S \cdot (m-1)\Delta t_1 + (m-1) \cdot \pi/2] \\ &= \cos\left[\left(\Omega_S + \pi/(2\Delta t_1)\right) \cdot (m-1)\Delta t_1\right] = \cos\left[(\Omega_S + \Omega_{\max}) \cdot (m-1)\Delta t_1\right] \end{aligned} \quad (28.10)$$

ただし、上の式変形の最後で  $\pi/(2\Delta t_1) = \Omega_{\max}$  となることを用いた。Nyquist の定理によるサンプリング時間  $\Delta$  を用いて  $\Delta t_1 = \Delta/2$  と設定すると、 $\pi/(2\Delta t_1) = \pi/\Delta$  となるので、 $1/\Delta = 2f_{ny}$  という関係を用いると  $\pi/(2\Delta t_1) = 2\pi f_{ny} = \Omega_{\max}$  が成り立つからである。 $t_1$  軸のサンプリング間隔が TPPI 法では States 法に比べて  $1/2$  に短縮されているので、測定に 2 倍時間がかかるように見えるが、States 法においては同じ  $t_1$  時間に対して、2 回同一のパルスプログラムを実行して FID データを集めるので、実験の実行回数は、どちらの方法でも同じことになる。

式(28.10)より、TPPI 法において得られる 2 次元の FID 信号は、

$$S_{TPPI}(t_1, t_2) = \cos\left[(\Omega_S + \Omega_{\max})t_1\right] e^{-R_1 t_1} e^{i\Omega_1 t_2} e^{-R_2 t_2} \quad (28.11)$$

と表される。 $-\Omega_{\max} < \Omega_S < \Omega_{\max}$  となるように  $\Omega_{\max}$  は選ばれているので、 $\Omega_S + \Omega_{\max}$  は常に正である。従って、 $t_1$  軸を単に cos フーリエ変換しても周波数識別の問題は起きない。 $t_1$  軸を cos フーリエ変換し、 $t_2$  軸を複素フーリエ変換すると、

$$A_{\Omega_S + \Omega_{\max}}(\omega_1) \times \left[ A_{\Omega_1}(\omega_2) + iD_{\Omega_1}(\omega_2) \right] \quad (28.12)$$

となる。実数部は  $A_{\Omega_S + \Omega_{\max}}(\omega_1) A_{\Omega_1}(\omega_2)$  となるので、NMR スペクトルは両軸ともに吸収型の共鳴ピークとなる。 $\omega_1$  軸上の共鳴線は  $\Omega_S + \Omega_{\max}$  の位置に現れるが、

$$0 \leq \Omega_S + \Omega_{\max} \leq 2\Omega_{\max} \quad \text{より} \quad -\Omega_{\max} \leq \Omega_S \leq \Omega_{\max}$$

となる。すなわち、 $t_1$  軸の cos フーリエ変換によって得られた共鳴線を  $\Omega_{\max}$  だけ負方向に平行移動させると、オフセット周波数  $\Omega_S$  の位置にその符号を識別した共鳴線が現れる。Hz 単位の周波数で表せば、 $f_{ny}$  だけ負方向に平行移動させれば、周波数の正負を識別した最終的な NMR スペクトルが得られる。

<注> Nyquist の定理

FID データはデジタル化されてメモリーに格納され、その後、種々のデータ処理が施されて NMR スペクトルが得られる。時間の連続関数としての FID データがメモリーに格納されるためには、ある一定の時間間隔で FID データを離散的なデータとしてメモリーに取り込む。この

時間間隔をサンプリング間隔という。データをなるべく正確に再現するためには、サンプリング間隔はなるべく短いほうが良い。しかし、不必要に短くすると、膨大なメモリー領域が必要になり、その後のデータ処理にも時間がかかる。サンプリング間隔が長すぎると、時間変化する FID データの高周波成分は記録から抜け落ちる。FID データの最も速い周波数成分が Hz 単位で  $f_{ny}$  と予測できる場合、この周波数で時間変化するデータを正しく再現できるようにサンプリングするためには、 $\Delta = 1/(2f_{ny})$  の時間間隔でデータを記録しなければならない。これが Nyquist の定理である。その証明は省くが、振動の 1 周期当たり少なくとも 2 回データをサンプリングする必要がある。 $f_{ny} = 1/(2\Delta)$  を Nyquist 周波数という。

実際の NMR 測定のさいには、測定すべき信号の周波数領域 (Hz 単位のオフセット周波数) を  $-f_{ny} \leq f \leq f_{ny}$  とあらかじめ想定し、中心周波数 (*rf*-パルスの周波数) とスペクトル幅  $SW = 2f_{ny}$  を分光器に設定する。それによってサンプリング間隔  $\Delta = 1/SW = 1/(2f_{ny})$  が自動的に設定される。しかし、想定外に高周波の信号成分  $f_h > f_{ny}$  が FID データに含まれていると、その高周波成分はどのように表示されるのだろうか。サンプリング定理に従うと、時間的に離散的なデジタルデータの周波数スペクトルは、 $2f_{ny}$  を周期として周期的に現れるという特徴がある。すなわち、真の周波数が  $f_h$  のスペクトルは  $f_h + m \cdot 2f_{ny}$  ( $m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$ ) となって現れる。従って、 $f_h$  は  $f_a = f_h - 2f_{ny}$  のとき、 $-f_{ny} \leq f_a \leq f_{ny}$  となって、スペクトルの観測領域に出現する。この共鳴線  $f_a$  は「折りたたみ信号」と呼ばれ「偽の共鳴線」なので、得られた NMR スペクトルから除外されなければならない。

## 29. 磁場勾配パルス (Field Gradient Pulse)

最新の NMR 分光器は、静止磁場  $B_0$  ( $Z$  軸あるいは  $z$  軸) の方向に短時間だけ磁場勾配を作る磁場勾配パルス (Field Gradient Pulse: FGP) 発生器を備えていることが多い。プローブ内の検出コイルの近傍に小さな補助コイルが設置されていて、これにパルス的に電流を流して  $z$  軸方向に磁場の空間的不均一性を発生させる。通常は、サンプルの中央付近を  $z=0$  として、 $z$  軸方向を向く大きさ  $Gz$  の補助磁場を短時間パルス状に発生させる。磁場勾配パルス (FGP) が発生している間だけは、 $B_0$  磁場の  $z$  成分が  $B_z = B_0 + Gz$  となり、 $G$  が正の場合は、 $z$  が正の領域にあるスピンの Larmor 周波数は大きく、逆に  $z$  が負の領域では、それが小さくなる。90°パルスが照射され、スピン全体が位相の揃った横磁化をもつ状態にあるとき、FGP が照射されると、 $B_0$  磁場の空間的不均一性のために、スピンの横磁化の位相が空間的に不均一となり (dephasing)、サンプル全体としての横磁化が消失する。補助コイルに流す電流を逆向きにすると、 $G$  の符号が反転してスピンの位相が回復し、再び位相が揃った状態にもどる (rephasing)。例えば、 $G$  の大きさを 20 G/cm 程度にし、FGP の時間幅が 1-2 ms だとすると、dephasing によって、サンプル全体のスピンの大きさは十分無視できるほど小さくなる (位相が揃っているときの 0.1 - 1%程度)。

### (1) 磁場勾配パルス (FGP) によるスピンエコー

FGP による Larmor 周波数の変化を  $\Delta\Omega$  で表すと、 $\omega_0 = -\gamma(B_0 + Gz)$  であることを考慮に入れて、 $\Delta\Omega = -\gamma Gz$  と表される。パルス幅  $\tau$  の FGP が照射される時、それは  $z$  軸のまわりでスピンを  $\phi = \Delta\Omega \cdot \tau$  だけ余分に回転させることに対応する。すなわち、演算子  $\hat{\sigma}$  に  $z$  軸まわりで  $\phi$  だけ回転させる演算子  $e^{-i\phi\hat{I}_z}$  を作用させることになる。もし  $\hat{\sigma}$  のコヒーレンス次数が  $p$  のときは、 $e^{-i\phi\hat{I}_z} \hat{\sigma}_p e^{i\phi\hat{I}_z} = e^{-ip\phi} \hat{\sigma}_p$  となり、次数  $p$  のコヒーレンスに FGP を照射すると、それに  $-p\phi = -p\Delta\Omega \cdot \tau = p\gamma Gz\tau$  の位相変化が起きる結果となり、 $z$  が正の領域と負の領域では位相変化が逆になるので、全体として位相の dephase が起きてコヒーレンスは失われる。ただし、コヒーレンス次数が  $\pm 1$  などの混合状態のときは、それぞれのコヒーレンス次数に応じて個別に考察する必要がある。

下の図は、rf-パルス (RF と略) と FGP (G と略) の様子を表すチャートである。

FGP は時間幅が少し広く高さの低い斜線付の矩形で示されている。そのパルスの高さは  $G$  の大きさに比例しているとする。180°パルス前後に同一の FGP を照射すると、

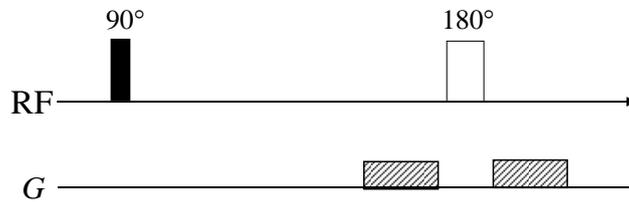


図 31 FGP によるスピリエコー

180°パルスでコヒーレンス次数が反転するので、FGP によっていったん dephase した位相が、次の FGP で元に戻って refocus する。これを FGP によるスピリエコーと呼ぶ。180°パルスのときは、コヒーレンス次数が正負の混合状態でも同じ結果になる。

(2) 磁場勾配パルス (FGP) による水の信号の消去

タンパク質の NMR スペクトルは通常水溶液中で測定される。溶媒の  $^1\text{H}$  の濃度は約 110 M であり、溶質のタンパク質分子の濃度は 0.1 mM 程度で測定が行われる。従って、水の  $^1\text{H}$  はタンパク質分子内の特定の  $^1\text{H}$  の  $10^5$  倍ほど濃度が高く、水の巨大な信号のためにタンパク質由来の信号の観測は事実上不可能であった。水の信号を効果的に消去する様々な方法が開発されてきたが、最も強力な方法が磁場勾配パルス (FGP) を用いて水の信号を消去する方法である。下に「水消し」の FGP の図を示す。

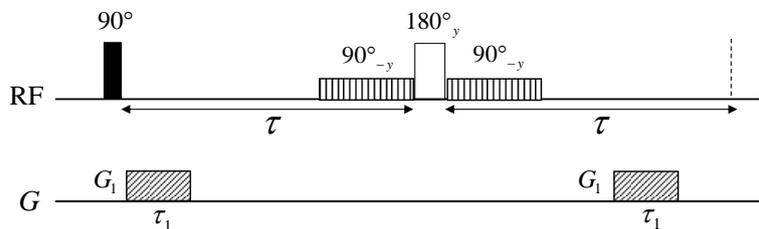


図 32 rf-パルスと水消しの FGP

最初の非選択的 90°パルスですべての  $^1\text{H}$  は  $-y$  軸方向に倒れる。次の非選択的 180°<sub>y</sub>

パルスの前後で選択的に水の  $^1\text{H}$  に作用する  $90^\circ_{-y}$  パルスを照射する。そして、その前後に同一の FGP ( $G_1$ ) を照射すると、タンパク質の  $^1\text{H}$  は非選択的  $180^\circ_y$  パルスの効果によって 2 つの FGP で refocus されて  $2\tau$  時間後にはスピネコーによって、全てのスピンの  $y$  軸上に揃う。一方、水の  $^1\text{H}$  は、2 つの選択的  $90^\circ_{-y}$  と非選択的  $180^\circ_y$  パルスの影響を受けてコヒーレンス次数は反転しない。第一の FGP によって dephase した状態はさらに第二の FGP でいっそう dephasing が進行する。その結果、水の  $^1\text{H}$  の信号は完全に消失し、タンパク質の  $^1\text{H}$  の信号だけが選択的に観測されることになる。このパルスプログラムは WATERGATE と呼ばれる。

### (3) FGP による特定のコヒーレンス移行パス (CTP) の選択

$rf$ -パルスによって、コヒーレンス次数が  $p_1$  から  $p_2$  への CTP だけを選択したいとする。 $rf$ -パルスの前後に  $G_1$  (パルス幅  $\tau_1$ ) および  $G_2$  (パルス幅  $\tau_2$ ) という FGP を照射する。下の図は、 $rf$ -パルスと FGP と CTP のチャートを示している。

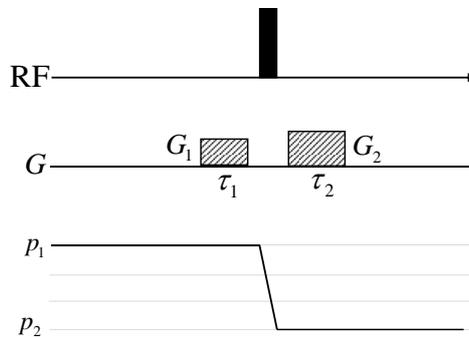


図 33  $rf$ -パルスと FGP と CTP のチャート

第 1 の  $G_1$  パルスによるコヒーレンス次数  $p_1$  の位相変化は  $\phi_1(z) = p_1\gamma G_1 z \tau_1$  である。第 2 の  $G_2$  パルスによるコヒーレンス次数  $p_2$  の位相変化は  $\phi_2(z) = p_2\gamma G_2 z \tau_2$  である。したがって、両方の FGP を照射した後、refocus されるための条件は

$$p_1\gamma G_1 z \tau_1 + p_2\gamma G_2 z \tau_2 = 0 \quad \therefore \frac{G_1 \tau_1}{G_2 \tau_2} = -\frac{p_2}{p_1} \quad (29.1)$$

例えば、 $p_1 = 2 \rightarrow p_2 = -1$  という CTP を選択するためには、

$$G_1 \tau_1 / G_2 \tau_2 = -(-1/2) = 1/2 \quad (29.2)$$

である。もし  $\tau_1 = \tau_2$  とすれば、 $G_2 = 2G_1$  という強度比の FGP を照射する。この場合、コヒーレンス次数は符号も含めて純粋に  $p_1$  あるいは  $p_2$  である。

#### (4) 異種核 NMR 実験系における FGP による CTP の選択

下の図は I と S スピンからなる異種核 2 スピン系において、特定の CTP を選択するためのパルスプログラムと FGP と CTP のチャートである。

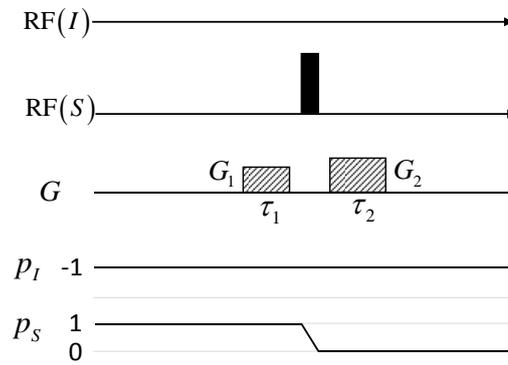


図 34 rf-パルスと FGP と CTP

コヒーレンスを表す演算子が  $\hat{I}^- \hat{S}^+$  の場合、 $p_I = -1, p_S = +1$  である。通常はこの演算子のコヒーレンス次数は  $p_I + p_S = 0$  というが、それは、I スピンと S スピンに対してパルスの位相を  $\phi$  だけ変えると、I スピンも S スピンも z 軸のまわりで同じ角度  $\phi$  だけ回転させるので、コヒーレンスの位相変化が  $\Delta\phi = -p_I\phi - p_S\phi = -(p_I + p_S)\phi = 0$  となるからである。しかし、FGP を照射した場合は、 $\gamma_I$  と  $\gamma_S$  の相違のため I スピンと S スピンの回転角が異なるので、位相の変化は 0 ではない。強さ  $G$  パルス幅  $\tau$  の FGP を照射すると、z 軸のまわりで I スピンを  $\Delta\Omega_I\tau = -\gamma_I Gz\tau$  だけ余分に回転させ、S スピンを  $\Delta\Omega_S\tau = -\gamma_S Gz\tau$  だけ回転させる。 $\hat{I}^- \hat{S}^+$  において、それぞれのコヒーレンス次数が  $p_I, p_S$  であることを考慮すると、FGP 照射による位相変化は

$$\hat{I}^- \hat{S}^+ \underline{\Delta\Omega_I\tau \hat{I}_z + \Delta\Omega_S\tau \hat{S}_z} e^{-ip_I(\Delta\Omega_I\tau)} e^{-ip_S(\Delta\Omega_S\tau)} \hat{I}^- \hat{S}^+ \quad (29.3)$$

と表される。従って、コヒーレンス  $p_I$  と  $p_S$  の直積演算子が強さ  $G$ 、パルス幅  $\tau$  の FGP によって受ける位相変化は次のように表される。

$$\phi(z) = -p_I \Delta\Omega_I \tau - p_S \Delta\Omega_S \tau = (p_I \gamma_I + p_S \gamma_S) G z \tau \quad (29.4)$$

図 34 に示したように、S スピンに照射した 90°パルスによって、 $p_I = -1$ 、 $p_S = 1$  から  $p_I = -1$ 、 $p_S = 0$  へのコヒーレンス移行を選択したいとする。90°パルス前後の  $G_1$  と  $G_2$  という FGP によって、一旦 dephase した位相が refocus するためには、位相変化が次の条件を満たす必要がある。 $(-\gamma_I + \gamma_S) G_1 z \tau_1 + (-\gamma_I + 0) G_2 z \tau_2 = 0$

$$\therefore \frac{G_1 \tau_1}{G_2 \tau_2} = -\frac{\gamma_I}{-\gamma_I + \gamma_S} = \frac{\gamma_I}{\gamma_S - \gamma_I} = \frac{1}{\gamma_S / \gamma_I - 1} \quad (29.5)$$

### (5) FGP による CTP 選択の実例

#### (i) DQF-COSY スペクトル

DQF-COSY の rf-パルスと FGP と CTP のチャートを図 35 に示す。

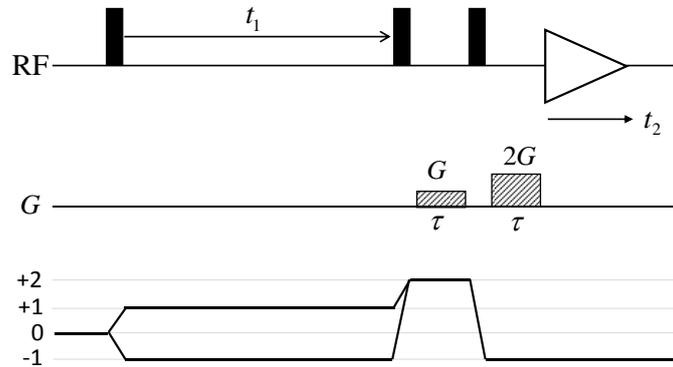


図 35 DQF-COSY の rf-パルスと FGP と CTP

2 量子フィルターを実現するために、コヒーレンス次数  $p = 2$  だけを FGP で選択する。そのため、上図のように強度が 2 倍異なる FGP を第 3 の 90°パルスの前後に照射すると、 $p = 2 \rightarrow p = -1$  となる CTP の位相差だけが 0 となって refocus される。

$$\therefore \phi_1 = 2\gamma G z \tau, \quad \phi_2 = -1 \cdot \gamma (2G) z \tau = -2\gamma G z \tau \quad \therefore \phi_1 + \phi_2 = 0 \quad (29.6)$$

(ii) FGP 照射中に進行する off-resonance 効果の除去

上に示した例では、望ましい CTP の選択が FGP で容易に実現できたように見える。しかし、図 35 を見ると第 2 パルスと第 3 パルス間の時間が、図 18 に示された通常の DQF-COSY パルスプログラムに比べ長いことに気付く。FGP のパルス幅は、効果的な dephasing を実現するために、通常 1-2 ms に設定される。これは通常のハードパルス（非選択的 90°パルスなど）に比べ十分時間が長いため、異なるオフセット周波数の分布によって生じる「位相のずれ」（off-resonance 効果）が大きな問題となる。例えば、オフセット周波数が 0 ~ 2500 Hz の場合、ハードパルスの幅が 10 μs 程度だとすると、パルス照射の間に起きる最大オフセット周波数による「位相のずれ」は  $2\pi \times 2.5 \times 10^3 \times 10^{-5} \times (180^\circ/\pi) = 9^\circ$  程度になる。この程度であれば、様々なオフセット周波数をもつスピンの周波数スペクトルを得るさいに生じる共鳴線の「形のゆがみ」は位相補正（19 節の注参照）によって容易に対処できる。従って、ハードパルスの「位相回し」によって CTP の選択を実現するときには、off-resonance 効果は大きな問題にならなかった。しかし、FGP のパルス幅が 1.5 ms だとすると、FGP 照射中の「位相のずれ」は最大 1350°にもなり、もはや位相補正では対処できない（on-resonance の共鳴線を吸収型にしても off-resonance のオフセット周波数の共鳴線は分散型が混在して複雑なスペクトルになる）。従って、FGP でコヒーレンス選択を実現するためには、この off-resonance

効果を除く必要が起きる。そのために、FGP をスピンエコー内に挿入することによって、大きな「位相のずれ」を回避する方法がとられる。例えば、右の図はスピンエコーを起こす 180°パルスの前後に組み込まれた FGP を示している。パルス幅  $\tau/2$  の FGP は 180°パルスの前後で強度が反転しているので、全体として強度  $G$  でパルス幅  $\tau$  の FGP と同じ役割を果たして、空間的なスピンの位相の不均一性を誘起しコヒーレンスを消失させる。しかし、この空間的不均一性は、また必要なときにそれを回復する FGP を照射してコヒーレンスを取り戻すことが可能である。一方、内在的な off-resonance 効果による位相の「ばらつき」は、FGP では回復できないが、スピンエコーによって  $\tau$  時間待つと完全に回復させることができる。このようにして、スピンエコーで「内在的 off-resonance 効果」を除去しながら FGP による位相制御が可能になる。

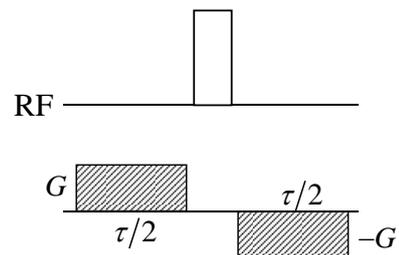


図 36 は、DQF-COSY のパルスプログラムに組み込まれた FGP を示している。スピネコー内に挿入された、大きさ  $G$  と  $2G$  で同一のパルス幅  $\tau$  をもつ FGP によって選択された CTP を表している。2 つの FGP による位相変化の結果、 $p = 2$  から  $p = -1$  への CTP が refocus され、それ以外のコヒーレンスは dephasing によって消滅する。

$$\therefore 2\gamma Gz\tau + (-1)\gamma(2G)z\tau = 0 \quad (29.7)$$

FGP を照射している間における off-resonance 効果を回避するために、FGP はスピネコー内に挿入されている。第 2 の  $90^\circ$  パルス後の強さ  $G$  の FGP は時間幅  $2\tau$  のスピネコーに組み込まれて「内在的 off-resonance 効果」を回避しながら空間的位相を dephase し、強さ  $2G$  の FGP も時間幅  $2\tau$  のスピネコーに組み込まれて、 $p = 2$  から  $p = -1$  へのコヒーレンスだけを refocus させることに寄与している。

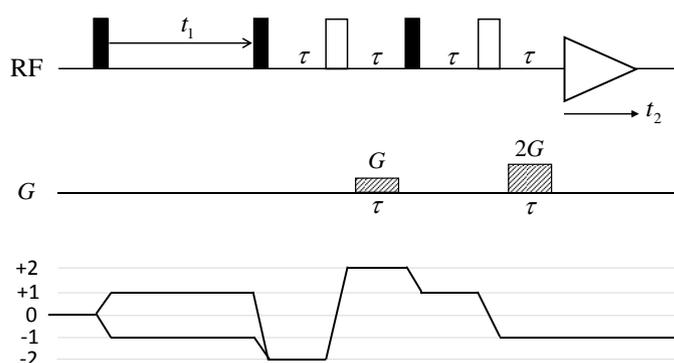


図 36 DQF-COSY パルスプログラムにおいて、スピネコー内に挿入された 2 つの FGP と選択される CTP

### (iii) HSQC スペクトル

図 37 は I スピン ( $^1\text{H}$ ) と S スピン ( $^{15}\text{N}$ ) に照射するパルスプログラムを示している。パルスプログラムは、「位相回し」による HSQC スペクトル測定法と基本的に同じであるが、望ましい CTP の選択方法において多少様子が異なる。「位相回し」によって CTP を選択する場合には (図 29 参照)、 $\phi_{1S}$  の「位相回し」によって、 $t_1$  時間展開期における S スピンの  $\pm 1$  のコヒーレンスを両方同時に選択することが可能であった。しかし、FGP でコヒーレンス選択を行う場合には、 $t_1$  時間展開期において  $p_S = 1$  か  $p_S = -1$  のどちらか一方を選択するようにパルス幅を設定せざるを得ない。 $p_S = 1$  と

$p_s = -1$  の CTP を交互に選択して refocus する実験を 2 回繰り返す必要がある。G<sub>2</sub> と G<sub>3</sub> という 2 つの FGP でそれを実現するための条件は後述する。G<sub>2</sub> と G<sub>3</sub> という 2 つの FGP は off-resonance 効果で大きく位相が崩れるのを防ぐため、直前に 180°パルス照射してスピンのエコーの中に埋め込まれている。一方、G<sub>1</sub> という FGP の役割は、I スピンへの第 2 の 90°<sub>y</sub> パルスによって生じる  $\hat{I}_y$  を dephase させて取り除くことである。そのため、このパルスは必ずしもスピンのエコー内に挿入する必要がない。同時に G<sub>1</sub> は、S スピンと J-結合していない I スピンの FID 信号を消去する役割も担っている。

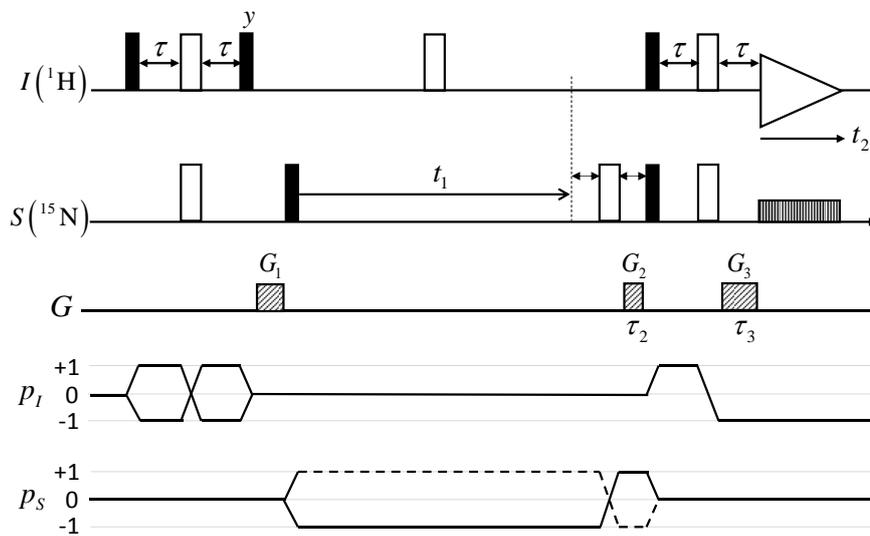


図 37 HSQC の rf-パルスと FGP と CTP。点線が N-type の CTP、実線が P-type の CTP を表している。同じ  $t_1$  の値に対して、N-type と P-type の 2 つの実験を行う必要がある。

G<sub>2</sub> と G<sub>3</sub> パルスによって、 $p_I = 0$   $p_S = 1$  あるいは  $p_I = 0$   $p_S = -1$  の状態から、 $p_I = -1$   $p_S = 0$  の状態を選択するための FGP の条件は、 $t_1$  時間展開期の S スピンのどちらのコヒーレンスを残すかによって異なる。 $p_S = 1$  から  $p_I = -1$   $p_S = 0$  を選択する経路（点線で表示）を N-type (negative) CTP と呼ぶ。N-type と呼ぶ理由は、 $t_1$  時間展開期の状態が  $\hat{S}^+$  なので  $t_1$  軸上の信号が  $e^{-i\Omega_S t_1}$  となり、 $t_2$  軸上の信号  $e^{i\Omega_I t_2}$  と反対符号になることに由来する（観測可能な条件より常に  $p_I = -1$  とするので FID は  $e^{i\Omega_I t_2}$  となる）。したがって  $p_S = -1$  が選択される場合は、同符号となるので P-type (positive) CTP と呼ばれる。N-type CTP の場合、G<sub>2</sub> パルス照射時のコヒーレンスが  $p_S = -1$   $p_I = 0$ 、G<sub>3</sub> パ

ルス照射時は  $p_S = 0$   $p_I = -1$  なので、FGP が満たすべき条件は、

$$\text{N-type CTP の場合： } -\gamma_S G_2 \tau_2 - \gamma_I G_3 \tau_3 = 0 \quad (29.8)$$

同様に、P-type CTP の場合は  $p_S = +1$   $p_I = 0$  から  $p_S = 0$   $p_I = -1$  への変化なので、

$$\text{P-type CTP の場合： } \gamma_S G_2 \tau_2 - \gamma_I G_3 \tau_3 = 0 \quad (29.9)$$

となる。上記のようにパルスの強度と時間幅を調整すると、 $t_1$  時間展開期の N-type あ  
るいは P-type の信号だけが refocus されて選択的に残る。「パルスの位相回し」によっ  
て CTP を選択する場合は、 $t_1$  時間展開期において  $p_S = \pm 1$  の両方が選択されて、 $\cos \Omega_S t_1$   
という振幅変調型の FID 信号が得られる（ただし、 $\sin \Omega_S t_1$  という振幅変調型のデータ  
を集めるためには、パルスの位相を変えてもう 1 回の実験が必要になる）。FGP の場合  
には上記のように  $p_S = 1$  あるいは  $p_S = -1$  と設定した CTP に対して 2 回の実験を行う。  
 $t_1$  軸の周波数識別のためには、

$$\begin{aligned} \text{P-type のデータセット } S_p(t_1, t_2) &= e^{i\Omega_S t_1} e^{-R_1 t_1} e^{i\Omega_I t_2} e^{-R_2 t_2} \\ \text{N-type のデータセット } S_N(t_1, t_2) &= e^{-i\Omega_S t_1} e^{-R_1 t_1} e^{i\Omega_I t_2} e^{-R_2 t_2} \end{aligned} \quad (29.10)$$

を結合して、 $\cos$  振幅変調データ  $S_C(t_1, t_2)$  と  $\sin$  振幅変調データ  $S_S(t_1, t_2)$  を作成し、  
States 法に従って処理してフーリエスペクトルを計算する。その結果、 $\omega_1$ ,  $\omega_2$  軸とも周  
波数識別された吸収型のスペクトルを得ることができる。

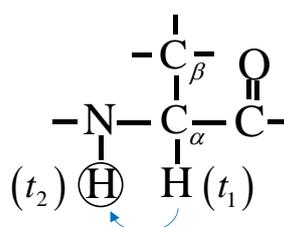
## 第IV章 タンパク質の2次元 NMR スペクトルの測定例

これまでは、2次元 NMR スペクトルを測定するプログラムの物理的な原理に注目して考察してきた。タンパク質に対して、これらの2次元 NMR 測定法を適用すると、実際どのようなスペクトルが得られるのだろうか。そのスペクトルから、どのようにしてタンパク質に関する情報を得るのだろうか。タンパク質の立体構造に立脚した考察を行うためには、NMR スペクトル上の共鳴ピークがどの残基由来のものなのか同定する必要がある。すなわちピーク帰属という作業である。種々の測定法によって得られたスペクトルの情報を組み合わせてピーク帰属が行われるが、2次元のスペクトルだけではなく3次元スペクトルも必要になる。以下では、具体的な NMR スペクトルを例として、そのような問題を考察していこう。

### 30. DQF-COSY スペクトル

スピンスピン結合する2つのスピンの交差ピークを与える DQF-COSY スペクトルを測定する場合を考えよう。図 16 に示した COSY のパルスプログラムを参考にして、スペクトル測定の流れを考える。右はアミノ酸残基の概

略図である。スピン 1 を  $C_\alpha H$  プロトン ( $^1HC_\alpha$  と略記)、スピン 2 を主鎖 NH プロトン ( $^1HN$  と略記) としてコヒーレンスの移動を具体的に考えよう。 $^1HC_\alpha$  と  $^1HN$  はスピンスピン結合した2スピン系である。第1の  $90^\circ_x$  パルスでスピ



ン 1 が  $xy$  平面上に倒れ、 $-\hat{I}_{1,y}$  という状態になり、スピン 1 の横磁化 (コヒーレンス) は周波数  $\Omega_1$  で時間  $t_1$  だけ歳差運動する。スカラーカップリング項を含んだハミルトニアンのもとで時間展開するので、式(20.2)に示されているように、状態  $\hat{\sigma}$  は4つの直積スピン演算子の和で表されるが、このとき各スピン演算子には、 $\cos(\Omega_1 t_1)$  あるいは  $\sin(\Omega_1 t_1)$  という振幅変調が掛かり、時間軸  $t_1$  を  $^1HC_\alpha$  の化学シフト周波数  $\Omega_1$  でラベルしたという。つぎに、第2の  $90^\circ_x$  パルスを照射すると、 $\hat{I}_{1,y}\hat{I}_{2,z}$  という状態は  $\hat{I}_{1,z}\hat{I}_{2,y}$  となってコヒーレンスがスピン 1 ( $^1HC_\alpha$ ) からスピン 2 ( $^1HN$ ) に移行する (上の挿絵の中の青い矢印)。そのまま FID 信号を観測すると COSY スペクトルになるが、対角ピー

クが分散型になって分解能が悪いので、第 2 のパルス照射前後で  $\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,z}$  から  $\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,y}$  となる状態変化だけが残るように「コヒーレンス選択」を行う。すなわち、 $\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,y}$  という 2 量子コヒーレンスだけを選択するので、この測定法は DQF-COSY と呼ばれる。図 18 はそのパルスプログラムの概略図を示す。外見上は図 16 に第 3 の  $90^\circ_x$  パルスが追加されただけのように見えるが、第 3 のパルスの位相を 4 ステップの「位相回し」で変化させて積算された FID データが解析に用いられる (27 節の(2)項を参照)。その結果、 $\hat{\sigma}$  のうち次のスピン演算子の項だけが FID という観測量を与える。

$$\left[ \sin(\Omega_1^+ t_1) - \sin(\Omega_1^- t_1) \right] \cdot (2\hat{I}_{1,x}\hat{I}_{2,z} + 2\hat{I}_{1,z}\hat{I}_{2,x}) \quad (30.1)$$

$t_1$  軸は振幅変調因子で、周波数  $\Omega_1^\pm$  の anti-phase doublet である。 $t_2$  軸に関しては、第 1 項が周波数  $\Omega_1^\pm$  の anti-phase doublet 信号を与え、第 2 項は周波数  $\Omega_2^\pm$  の anti-phase doublet 信号となる。 $^1\text{HC}_\alpha$  がスピン 1、 $^1\text{HN}$  がスピン 2 であったので、第 1 項は  $\omega_1 = \Omega_{\text{C}_\alpha\text{H}}^\pm$ 、 $\omega_2 = \Omega_{\text{C}_\alpha\text{H}}^\pm$  となる対角線上の位置に 4 つの正負の吸収型ピークとして現れる (対角ピーク)。一方、第 2 項は  $\omega_1 = \Omega_{\text{C}_\alpha\text{H}}^\pm$ 、 $\omega_2 = \Omega_{\text{NH}}^\pm$  となる位置に正負の 4 つの吸収型ピークが現れ、それが  $^1\text{HC}_\alpha$  と  $^1\text{HN}$  との間の交差ピークを表す。同様にスピン 1 を  $^1\text{HN}$ 、スピン 2 を  $^1\text{HC}_\alpha$  として考えても同じ現象が起きるので、 $\omega_1 = \Omega_{\text{NH}}^\pm$ 、 $\omega_2 = \Omega_{\text{C}_\alpha\text{H}}^\pm$  という、対角線に対して対称な位置にもう一つの交差ピークが現れる (図 19 参照)。

アミノ酸残基内の  $^1\text{HN}$  と  $^1\text{HC}_\alpha$  の交差ピークを考察したが、残基内にはスピンスピン結合する他のプロトン対も存在する。例えば、 $^1\text{HC}_\alpha$  と  $^1\text{HC}_\beta$ 、 $^1\text{HC}_\beta$  と  $^1\text{HC}_\gamma$  などである (3 つ以内の共有結合で連結された  $^1\text{H}$ )。従って、これらのプロトン間には前述のような交差ピークが見出される。しかし、ペプチド結合をまたいだ 2 つのアミノ酸残基間のプロトンは、共有結合上 4 つ以上離れているため検出可能なスピンスピン結合が存在しない。従って、DQF-COSY スペクトルにおいて交差ピークが検出されるプロトン対は同一残基内に限られる。これはピーク帰属を行うさい重要な情報となる。

DQF-COSY スペクトルの実例を 2 つ示してその意味を考えてみよう。例はニワトリ・リゾチームに対して得られた 2 次元スペクトルである。図 38 は NH-C $\alpha$ H 領域の交差ピークを表している。測定原理の説明では、NMR スペクトルの周波数軸を角振動数  $\omega$  で表したが、実際の NMR スペクトルでは、Hz 単位の周波数に変換し、さらに ppm 単位の化学シフト  $\delta$  で表すので、周波数軸を F1、F2 軸と名付けた。横軸 (F2 軸) は

NH プロトン領域、縦軸 (F1 軸) は  $C_{\alpha}H$  プロトン領域を表している。赤と黒で表され

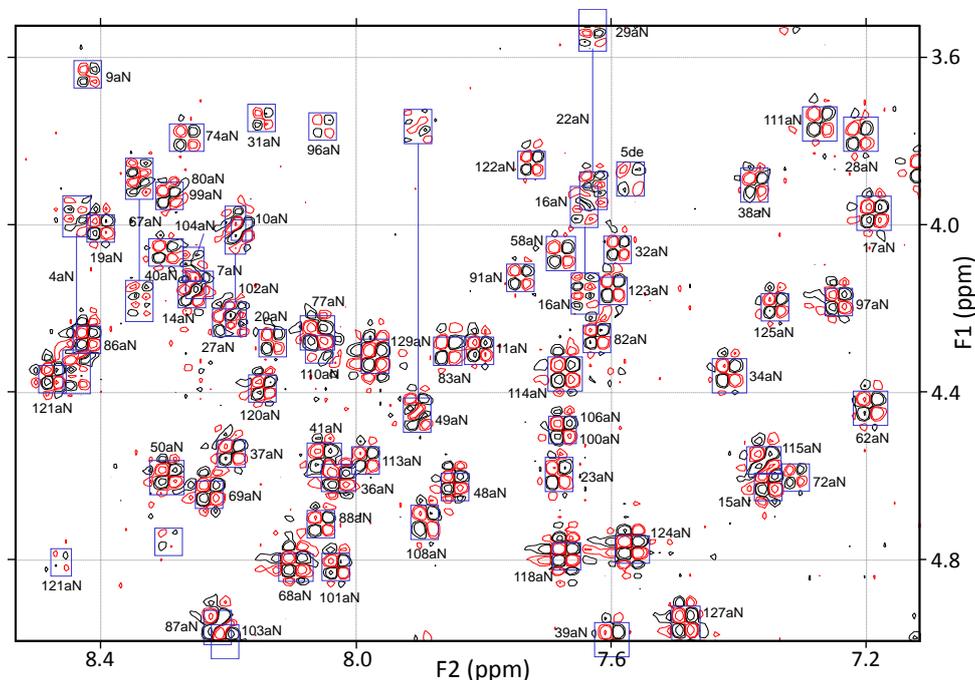


図 38 DQF-COSY スペクトルの NH- $C_{\alpha}H$  領域。図中の赤と黒のピーク合計 4 つで 1 つの交差ピークを表す。交差ピークの名前は数字が残基番号を表し、aN は  $\alpha N$  を意味している。例えば 34aN は残基 F34 内の  $^1HN$ - $^1HC_{\alpha}$  の交差ピークを表す。

た 4 つのピークで一つの交差ピークを表しているので、ピークを間違える可能性が少ない。F2=7.42 ppm, F1=4.36 付近に 34aN と名付けられた交差ピークが見つかる。34 は残基番号を表し、残基 F34 内の  $^1HN$  の化学シフトが 7.42 ppm、 $^1HC_{\alpha}$  の化学シフトが 4.36 であることを示している。もちろん、ピーク帰属が未定の状態では交差ピークは何も情報を与えないが、もし残基 F34 の  $^1HN$  の化学シフトが 7.42 ppm であるという確証が得られれば、F34 の  $^1HC_{\alpha}$  の化学シフトが 4.36 であることが確定する。以下で述べるが、NH 基のプロトンの化学シフトは 3 次元の HSQC-NOESY-HSQC というスペクトルを用いて連鎖帰属が高い確率で成功する。3 次元でなくとも、2 次元の NOESY スペクトルから得られる隣接残基の  $^1HN$  間の交差ピーク ( $d_{NN}$  相関という) 情報でも、COSY スペクトルの情報と組み合わせると、 $^1HN$ - $^1HC_{\alpha}$ - $^1HN$ -... というピークの連鎖帰

属が比較的容易に成功する。

一枚の DQF-COSY スペクトル上には、NH-C $\alpha$ H 領域だけでなく 0 ~ 10 ppm にわたる他の領域においても交差ピークが現れる。図 39 は DQF-COSY スペクトルの C $\alpha$ H-C $\beta$ H 領域を示している。この場合も、C $\alpha$ H プロトンのピーク帰属が出来ていれば、C $\beta$ H プロトンの化学シフトが分かることになる。このように DQF-COSY スペクトルは、交差ピークを用いて同一残基内の水素原子の化学シフトを NH 基から順に側鎖の末端に向かって決めていくことが出来るので、貴重な情報源である。特にタンパク質の構造を考察する場合には、側鎖の水素原子間の距離情報が重要になる（残基間接触は多くの場合側鎖間で起きる）ので、側鎖の水素原子のピーク帰属は大切な作業である。

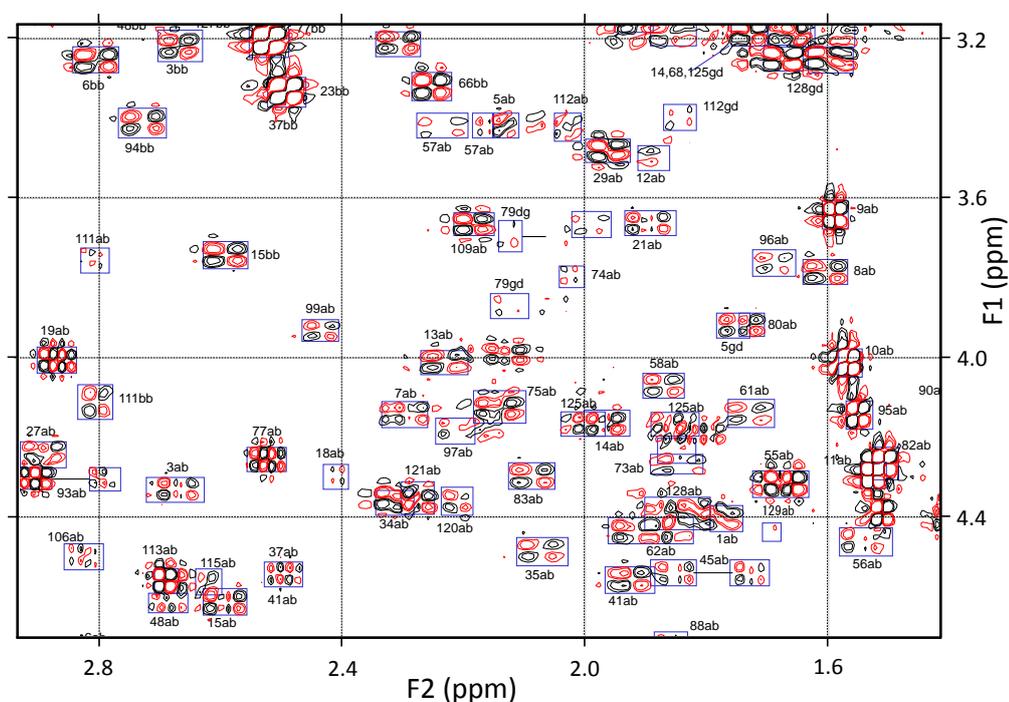
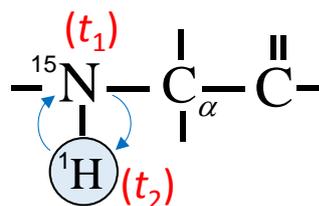


図 39 DQF-COSY スペクトルの C $\alpha$ H-C $\beta$ H 領域。F1 軸が C $\alpha$ H プロトン領域、F2 軸が C $\beta$ H プロトン領域。図中の数字は残基番号、ab は  $\alpha\beta$  を意味し、C $\alpha$ H-C $\beta$ H の交差ピークであることを示す。図中の bb や gd は、 $\beta\beta$  あるいは  $\gamma\delta$  を意味し、C $\beta$ H、C $\gamma$ H あるいは C $\delta$ H プロトン間の交差ピークであることを示す。交差ピークの強度が特に強いものは、残基が Ala などで C $\beta$ H プロトンが CH $_3$  基である。

### 31. $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ HSQC スペクトル

タンパク質の主鎖 NH 基の N 原子を同位体の  $^{15}\text{N}$  で置換した試料を用いると、 $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC という 2 次元スペクトルを測定することが出来る。スピンスピン結合した 2 スピン系のコヒーレンス移行を利用して交差ピークを得るという意味では COSY スペクトルの測定原理と同じである。ただし、HSQC の H は hetero nucleus の頭文字に由来し、COSY が同種核であるプロトン間のコヒーレンス

移行を利用しているのと違って、このパルスプログラムでは、主鎖 NH 基内の異種核である  $^{15}\text{N}$  核と  $^1\text{H}$  核との間のコヒーレンス移行を利用している。HSQC パルスプログラムは図 20 に示されている。挿入図は主鎖 NH 基内で



のコヒーレンス移行と各スピンの展開時間を図示している。 $^{15}\text{N}$  核を S スピン、 $^1\text{H}$  核を I スピンとして、パルスプログラムの流れを具体的に考察しよう。スピン I と S は異種核なのでパルスは別々の発生器を用いて照射される。図 20 に示されたパルスプログラムの A 期は I スピンに  $90^\circ_x$  パルスを打ってスピنعコーさせ、 $\hat{I}_x\hat{S}_z$  というスピン状態を作り出す準備期間である。同時に生成される  $\hat{I}_y$  という状態は「位相回し」によって消去する。つぎに、I スピンには y 軸から、S スピンには x 軸から  $90^\circ$  パルスを照射すると、 $\hat{\sigma}$  状態は  $\hat{I}_x\hat{S}_z$  から  $\hat{I}_z\hat{S}_y$  という状態に変わる。このとき、コヒーレンスは I スピンから S スピンに移行しているの、挿入図では  $^1\text{H}$  から  $^{15}\text{N}$  に向かう青い矢印でそれを示している。つぎに、 $\hat{I}_z\hat{S}_y$  を  $t_1$  時間展開すると、S スピンの歳差運動に伴って  $\cos(\Omega_S t_1)$  という振幅変調が掛かって  $t_1$  軸を S スピンの周波数でラベルし、 $\cos(\Omega_S t_1) \cdot \hat{I}_z\hat{S}_y$  という状態になる（それ以外の項は FID 信号として観測されない）。続いて両スピんに照射された  $90^\circ_x$  パルスによって  $\cos(\Omega_S t_1) \cdot \hat{I}_y\hat{S}_z$  という状態に変化して、コヒーレンスが S スピンから再び I スピンに戻される。この操作をコヒーレンスバックと呼び、図中では  $^{15}\text{N}$  から  $^1\text{H}$  に向かう矢印で示されている。厳密な式は(22.4)に与えられた第 1 項であるが、比例係数の違いは測定原理の説明には影響しないので無視する。パルスプログラムの E 期において、さらにスピنعコーを打って S 核をデカップリングしながらコヒーレンスが移った観測核  $^1\text{H}$  の FID 信号を測定すると、 $t_2$  軸上には周波数  $\Omega_I$  で振動するデータが得られる。この FID 信号をフーリエ変換すると、2 次元のスペクトルが得られ、交

差ピークは $\omega_1$ 軸が S スピンの化学シフト $\Omega_S$ を表し、 $\omega_2$ 軸は観測核である I スピンの化学シフト $\Omega_I$ を表す。HSQC スペクトルの縦軸 (F1 軸)、横軸 (F2 軸) は化学シフト $\delta$ で示され、F1 軸の $^{15}\text{N}$ 核の化学シフト $\delta_{^{15}\text{N}}$ は通常 100 ~ 130 ppm の範囲に広がる。一方、F2 軸の $^1\text{H}$ 核の化学シフト $\delta_{^1\text{H}}$ の範囲は 6.5 ~ 10.0 ppm である。

図 40 はニワトリ・リゾチームの HSQC スペクトルを示している。スペクトルを見ると、NMR スペクトルが 2 次元化されたことの重要性がよく分かる。すなわち、129

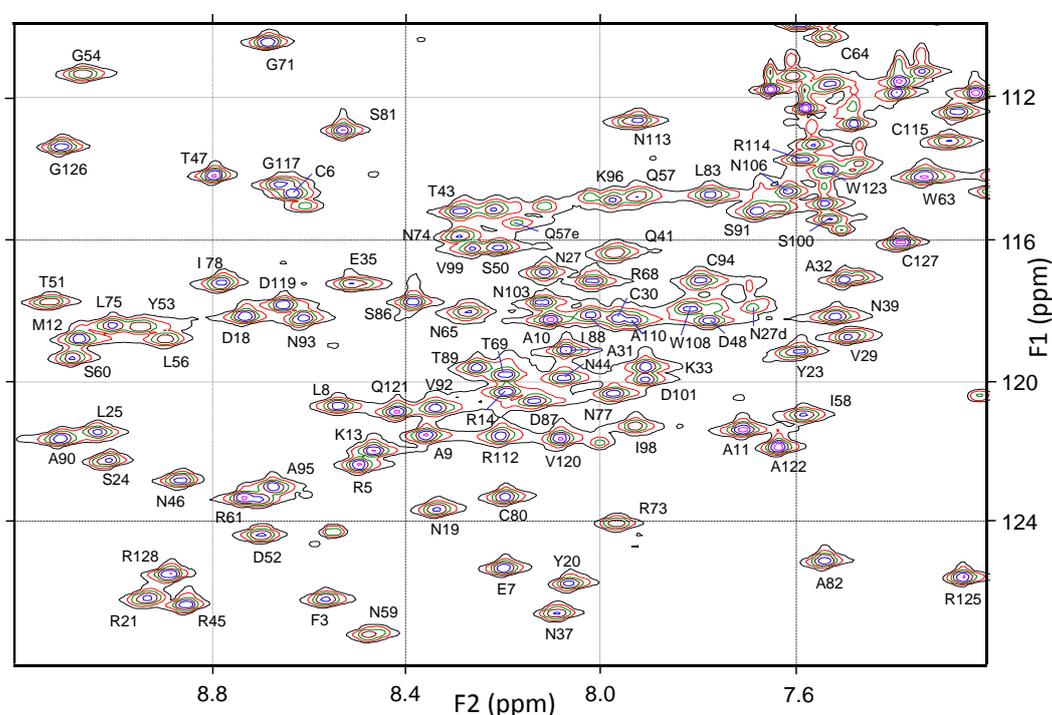


図 40 リゾチームの $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC スペクトル。F1 軸は $^{15}\text{N}$ 核の化学シフトを表す。横軸はアミドプロトンの化学シフトである。交差ピークの数字は残基番号を示し、例えば R73 は残基番号 73 の Arg の $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ 交差ピークを表す。 $^{15}\text{N}$ ラベルされたニワトリ・リゾチームは組み換え DNA を用いて大腸菌で発現されたタンパク質である。従って、天然の卵白リゾチームとは N 末端に残った Met 残基の分だけ異なる。NMR スペクトルのデータは BMRB Entry ID 7160 に登録されている。

個の主鎖 NH 基由来の交差ピークは、2 次元化されているため重なり合うことなく明瞭

に分離して識別出来る。しかし、これらの交差ピークが全て F2 軸上に縮退してしまったとすると、多くのピークは重なり合って識別できなくなることがよく分かる。スペクトルを 2 次元化することの意義は、F2 軸上に縮退したプロトン NMR のピークを  $^{15}\text{N}$  の化学シフトで F1 軸上に展開して高分解能にすることに対応している。主鎖 NH 基以外にも、残基 Asn, Gln, Trp の側鎖の NH 基由来の交差ピークが同じスペクトル領域に現れるので、主鎖 NH のピークと区別する必要がある。残基 Arg の側鎖の NH も交差ピークを与えるが、 $^{15}\text{N}$  核の化学シフトが主鎖 NH の  $^{15}\text{N}$  核とは大きく異なるので混同することはない。

ピーク帰属における HSQC スペクトルの役割は非常に大きい。2 次元の HSQC スペクトル上には、ほぼ全てのアミノ酸残基の主鎖 NH 基の交差ピークが現れている。従って、このスペクトル上のどの 2 つの交差ピークが隣接する残基のものであるかを決めて、それを続けていけば、いずれ全残基が繋がってピーク帰属が完成することになる。ピークの帰属を効率よく行う強力な方法が、NOESY-HSQC とか TOCSY-HSQC、HSQC-NOESY-HSQC という 3 次元 NMR スペクトルである。これらのスペクトルは 2 次元目に  $^{15}\text{N}$  核の周波数がくるように HSQC パルス列をプログラムの一部に組み込んでいる。以下では、HSQC-NOESY-HSQC スペクトルを例にして、そのパルスプログラムの概略とピーク帰属における意義について説明する。しかしその前に、プロトン間の 2 次元 NOESY スペクトルについて説明する必要がある。

## 32. プロトン間の 2 次元 NOESY スペクトル

これまで、DQF-COSY スペクトルではプロトンのスピンスピン結合による相互作用を考慮して 2 スピン系として考察してきた。スピンスピン結合は 2~3 の共有結合の電子雲を通して 2 つの  $^1\text{H}$  核のスピンスピンが相互作用している。一方、共有結合上は遠く離れていても空間的に近接した 2 つのプロトンは、電磁気学的な磁気双極子相互作用をしている。そのようなプロトン対の交差ピークを得る方法が NOESY という測定法である。スピンスピン 1 と 2 が NOE 相互作用しているとする。2 つのスピンの状態は  $\alpha\alpha$ ,  $\alpha\beta$ ,  $\beta\alpha$ ,  $\beta\beta$  という 4 状態の実現確率  $P_{\alpha\alpha}$ ,  $P_{\alpha\beta}$ ,  $P_{\beta\alpha}$ ,  $P_{\beta\beta}$  によって表される。この確率分布係数を用いて、系の励起状態や熱平衡状態における各スピンの  $z$  磁化を表すことができる。

パルス照射によって励起状態に上がった 2 スピン系は、時間経過とともに元の平衡状態に戻ろうとするが、その緩和過程において、 $\alpha\beta$  状態が  $\beta\alpha$  状態に遷移する（その逆も可）交差緩和という現象がおきて、スピンの  $z$  磁化の一部がスピン 1 の  $z$  磁化に変化するという分極移行が起きる。式(24.6)は Solomon の方程式と呼ばれる微分方程式で分極移行の進行状況を決定する。DQF-COSY はコヒーレンス移行という横磁化の移動であったが、分極移行は 2 つのスピンの  $z$  磁化の交換という現象である。それを利用して 2 つのスピンの交差ピークを検出する方法が NOESY スペクトルの測定原理である。パルスプログラムの概略を示す図 25 を参照しながら測定原理を考察しよう。最初の  $90^\circ_x$  パルスでスピンの  $z$  磁化が  $90^\circ$  倒れると、スピン系はエネルギーの高い励起状態に上がる。その後の展開期において、スピン 1 の横磁化は歳差運動によって、磁化の  $y$  成分に  $\cos(\Omega_1 t_1)$  という振幅変調が掛かり、続く第 2 の  $x$  軸まわりの  $90^\circ$  パルスによって再び  $z$  磁化に戻されたとき、その大きさは  $I_0 \cos(\Omega_1 t_1)$  となる。スピン 2 に対しても同じことが起きているので、スピン 2 の  $z$  磁化も  $I_0 \cos(\Omega_2 t_1)$  となる。すなわち、両スピンに対して、時間軸  $t_1$  を自分自身の化学シフト周波数でラベルした  $z$  磁化を作ることが展開期の役割である。この時点における  $\hat{\sigma}$  の状態は COSY のときと同じで、コヒーレンス次数が 1 や 2 という状態も存在している (COSY は次数 1 の状態を観測し、DQF-COSY では次数 2 の状態を選択的に残した)。しかし、NOESY 測定法では「位相回し」によって、コヒーレンス次数 0 の  $z$  磁化の項  $\hat{I}_{1,z}$  と  $\hat{I}_{2,z}$  だけを残して、他のスピン演算子の項を消去する。従って、次の混合期においては、スピン 1 と 2 の間で起きる分極移行だけを考慮すればよい。Solomon の方程式から最も効率のよい分極移行が起きるように混合時間  $\tau_{\text{mix}}$  を設定する。その結果、スピン 1 の  $z$  磁化はスピン 1 の自発緩和による項と、スピン 2 からの交差緩和による項の和で表される。自発緩和項は  $\cos(\Omega_1 t_1)$ 、交差緩和項は  $\cos(\Omega_2 t_1)$  と振幅変調されているので、スピン 1 は  $t_1$  軸において、 $\Omega_1$  と  $\Omega_2$  という周波数成分をもつ。この  $z$  磁化は第 3 の  $90^\circ$  パルスで再び横磁化に変換され、その FID 信号が  $t_2$  軸上のデータとして観測・記録される。スピン 1 の FID 信号は  $\Omega_1$  で振動しているので、スピン 1 由来の FID 信号をフーリエ変換すると、 $\omega_1$  軸上には  $\Omega_1$  と  $\Omega_2$  という周波数成分をもち、 $\omega_2$  軸上では  $\Omega_1$  である。スピン 2 に対しても同じことが起きているので、得られた 2 次元 NOESY スペクトルには、 $\omega_1 = \omega_2 = \Omega_1$  あるいは  $\omega_1 = \omega_2 = \Omega_2$  という対角ピークと、 $\omega_1 = \Omega_1$ 、 $\omega_2 = \Omega_2$  という位置（その逆もある）に交差ピークが現



2次元 NOESY スペクトルの他の領域にも重要な交差ピーク情報が存在する。特に F1 軸、F2 軸とも 6.5 ~ 9.0 ppm の領域に広がる主鎖 NH プロトン間の交差ピークは  $d_{NN}$  相関という名前が付けられていて特別な意味がある。同様に 3.5 ~ 5.5 ppm 領域と 6.5 ~ 9.0 ppm に広がる交差ピークは  $d_{\alpha N}$  相関と呼ばれ  $d_{NN}$  相関に匹敵する重要な意味を持っている。すなわち、タンパク質の 2 次構造が  $\alpha$  ヘリックス構造をとると、隣接残基間の主鎖 NH-NH プロトン間の距離が近接し  $d_{NN}$  相関という交差ピークが現れる。一方、2 次構造が  $\beta$  ストランド構造になると、前残基の  $C_{\alpha}H$  と次残基の主鎖 NH が近接するという構造上の特徴があつて、 $d_{\alpha N}$  相関 ( $d_{N\alpha}$  ではない) という交差ピークが検出される (同一残基内の  $C_{\alpha}H-NH$  ではないことに注意)。従つて、 $d_{NN}$  相関が検出される残基が連続する領域は  $\alpha$  ヘリックスを形成している確率が高く、 $d_{\alpha N}$  相関が続く領域は  $\beta$  ストランドとなる確率が高い。

$d_{\alpha N}$  や  $d_{NN}$  領域の 2 次元 NOESY スペクトルは、交差ピークの数が多く、重なり合つて十分な分解能が得られない。従つて、NOESY スペクトルを 3 次元に拡張して、ピークの重なりを避ける方法が 3D NOESY-HSQC という測定法である。HSQC パルス列をパルスプログラムの一部に組み込んで、2 次元目の周波数軸を  $^{15}N$  とし、重なり合つた交差ピークを  $^{15}N$  軸方向に展開してピークの縮退を回避する戦略である。この方法は、NH プロトンの 1 次元 NMR スペクトルを 2 次元目の  $^{15}N$  軸方向に引き出して共鳴線の縮退を解いた 2 次元 HSQC スペクトルと基本的に同じ戦略である。3 次元スペクトルの測定法としては、以下で HSQC-NOESY-HSQC というパルスプログラムを紹介するので、3D NOESY-HSQC の説明は省く。

$d_{NN}$  あるいは  $d_{\alpha N}$  相関は隣接残基間の情報なので、ピーク帰属を遂行する上でも非常に重要である。どれか 1 つの主鎖 NH プロトン ( $^1HN$ ) が特定残基に帰属されたとすると (例えば残基番号 20 とする)、同一残基内の  $^1HC_{\alpha}-^1HN$  交差ピーク (DQF-COSY の情報) から、残基 20 の  $^1HC_{\alpha}$  の化学シフトが決まり、 $d_{\alpha N}$  相関の情報から残基 21 の  $^1HN$  の化学シフトが確定し、つぎに残基内  $^1HC_{\alpha}-^1HN$  交差ピークから、残基 21 の  $^1HC_{\alpha}$  の化学シフトが確定し、また次の  $d_{\alpha N}$  相関から残基 22 の  $^1HN$  の化学シフトが決まる。 $d_{NN}$  相関に関しても同様のことが成り立って、ある残基の  $^1HN$  の化学シフトが決まれば、連鎖的に次々と  $^1HC_{\alpha}$ ,  $^1HN$  の化学シフトが決まっていく。これを主鎖プロトンの連鎖帰属という。

しかし、まだ未確定の要素は多く残っている。例えば、 $d_{NN}$  相関を用いて隣接残基の  $^1\text{HN}$  の化学シフトが分かったとしても、それは前の残基なのか後ろの残基なのか決まらない。 $d_{\alpha N}$  相関の情報を用いて、後ろの残基の  $^1\text{HN}$  の化学シフトが決まったとしても、 $^1\text{HN}$  の化学シフトは縮退しているので、同一の値をとる NH 基の候補は複数あり、それが同定できないと、 $^1\text{HC}_\alpha$  の化学シフトは決まらない。すなわち、隣接残基の  $^1\text{HN}$  プロトンの化学シフトから、一意的にアミノ酸残基を同定する方法が望まれる。図 40 に示した 2 次元の HSQC スペクトルを見ると、その答えが分かる。 $^1\text{HN}$  の化学シフトが同一となる複数のアミノ酸残基 (3 ~ 8 個) は、同位体で置換された  $^{15}\text{N}$  核の化学シフトを測定すると縮退が解ける。従って、隣接する主鎖 NH 基の  $^{15}\text{N}$  核の化学シフトを明らかにすれば、一意的に残基を同定することができる。すなわち、空間的に近接 (隣接を含む) した 2 つの主鎖 NH 基の  $^{15}\text{N}$  核の化学シフトを決めることができる測定法があれば問題は解決する。それがつぎに述べる HSQC-NOESY-HSQC というパルスプログラムである。

### 33. 3次元 HSQC-NOESY-HSQC スペクトルの測定原理

隣接した 2 つの NH 基を考える。隣接してなくても空間的に近接していれば同じ議論は成り立つが、ピーク帰属のことを考慮して隣接している場合を考える。図 42 は HSQC-NOESY-HSQC パルスプログラムの概略を表している。名前が長いので本書の中では H-N-H プログラムと略称することもある。図 42 の右に示したペプチド主鎖の図は、H-N-H パルスプログラムによるコヒーレンス移行と  $t_1$ ,  $t_2$ ,  $t_3$  軸の周波数ラベルの様子を要約している。最初に  $N_AH$  基に HSQC パルスが照射された（もちろん全ての NH 基は同様にパルス照射の影響を受ける）として、コヒーレンス移行の様子を追跡してパルスプログラムの流れを概観しよう。

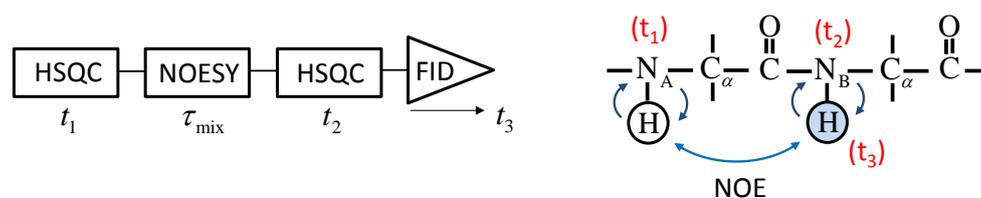


図 42 HSQC-NOESY-HSQC パルスプログラムの概略とペプチド主鎖内のコヒーレンス移行。H-N-H プログラムは 2D-HSQC パルスと 2D-NOESY パルスを上記のように組み合わせたものである。右の図はペプチド主鎖上の隣接する 2 つの残基を表し、主鎖 NH 基の  $^1H$  原子は空間的に近接しているため、双極子相互作用を通して、励起状態から緩和するとき  $^1HN_A$  核と  $^1HN_B$  核の間で分極移行が起きる (NOE と標記)。 $^{15}N$  核と  $^1H$  核の間の青い矢印は HSQC パルス照射時のコヒーレンス移行を示す。また  $t_1$ ,  $t_2$ ,  $t_3$  は各スピンのコヒーレンスの展開時間を表す。

最初の HSQC というパルス列によって、 $^1H$  核から  $^{15}N$  核にコヒーレンス移行させ、 $^{15}N$  核を  $t_1$  時間展開し、さらにそれを再び  $^1H$  核にコヒーレンスバックすることによって、 $^{15}N$  核の化学シフト周波数  $\Omega_N$  で  $t_1$  軸をラベルした NH プロトン ( $^1HN$  と略記) のコヒーレンスを作ることができる。次の NOESY パルス列で、それを  $z$  磁化にすると、 $^1HN_A$  は  $^{15}N_A$  核の化学シフト周波数  $\Omega_{NA}$  で振幅変調され、 $^1HN_B$  は周波数  $\Omega_{NB}$  で振幅変調された  $z$  磁化となる。NOESY の混合期に起きる交差緩和によって  $z$  磁化間の分極移行が起き、 $^1HN_B$  の  $z$  磁化にも  $^1HN_A$  の  $z$  磁化に比例する成分が交差緩和項として

混じってくる（自発緩和の項も存在するので、 ${}^1\text{HN}_B$  に比例する項も含む）。すなわち、 ${}^1\text{HN}_B$  の  $z$  磁化は、 $\Omega_{NB}$  で振幅変調された項と  $\Omega_{NA}$  で振幅変調された項の和となる。それに続く HSQC パルス列による  ${}^1\text{H}$  核と  ${}^{15}\text{N}$  核間のコヒーレンス移行と  ${}^{15}\text{N}_B$  核の  $t_2$  時間展開を利用すると、その  ${}^1\text{HN}_B$  の  $z$  磁化に、 $t_2$  軸を  $\Omega_{NB}$  で周波数ラベルした振幅変調を掛けることができる。最後にそれを  $90^\circ$  倒して観測核  ${}^1\text{HN}_B$  の FID 信号を観測すると  $\Omega_{HB}$  で振動する  $t_3$  軸上のデータが得られる。

分かりやすくするために、FID 信号の  $t_1, t_2, t_3$  時間依存性を模式的に表現しよう（厳密な式ではない）。 $t_1$  軸のデータは、 $\Omega_{NA}$  で振幅変調された項と  $\Omega_{NB}$  で振幅変調された項の和  $[I_a \cos(\Omega_{NA}t_1) + I_b \cos(\Omega_{NB}t_1)]$  で表される。それに  $t_2$  軸上の振幅変調因子である  $\cos(\Omega_{NB}t_2)$  を掛け、最後に  ${}^1\text{HN}_B$  の歳差運動による振動因子  $\cos(\Omega_{HB}t_3)$  を掛けた関数形のデータが時間軸信号として得られる。これをフーリエ変換すると、 $\omega_1$  軸は  ${}^{15}\text{N}$  核の化学シフト  $\Omega_{NB}$  と  $\Omega_{NA}$  という位置でピークを示し、 $\omega_2$  軸も  ${}^{15}\text{N}$  核の化学シフト  $\Omega_{NB}$

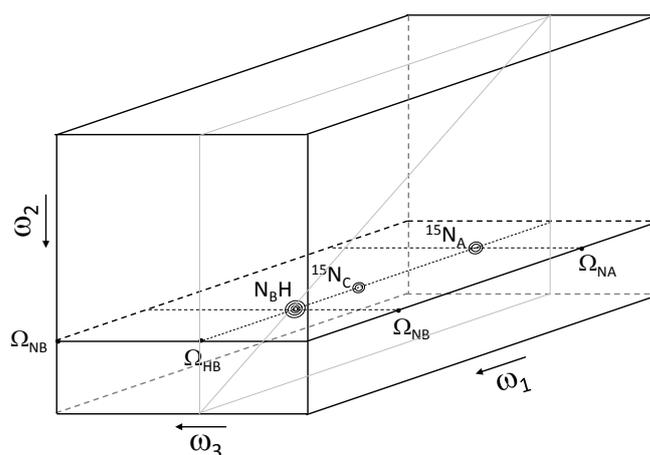


図 43 3次元 HSQC-NOESY-HSQC スペクトルの模式図。 $\omega_1, \omega_2$  軸は  ${}^{15}\text{N}$  核の周波数、 $\omega_3$  軸は  ${}^1\text{H}$  核の周波数を表す。図 42 の例では、 ${}^1\text{HN}_B$  が観測核であったので、 $\omega_3$  軸上では  ${}^1\text{H}$  の化学シフト  $\Omega_{HB}$ 、 $\omega_2$  軸上では  ${}^{15}\text{N}$  の化学シフト  $\Omega_{NB}$  となる交線上にピークが現れる。 $\omega_1$  軸上では、 $\text{N}_B\text{H}$  基自身とそれに隣接した  $\text{N}_A\text{H}$  基の  ${}^{15}\text{N}$  核の化学シフト  $\Omega_{NB}$  と  $\Omega_{NA}$  の位置に共鳴ピークが現れる。その結果、図中の  $\text{N}_B\text{H}$  と印した点に  $\text{N}_B\text{H}$  基自身の対角ピークが強く現れ、 ${}^{15}\text{N}_A$  と印した点に隣接  $\text{N}_A\text{H}$  基との交差ピークが現れる。 ${}^{15}\text{N}_C$  は  $\text{N}_B\text{H}$  基と空間的に近接した  $\text{NH}$  基との交差ピークを表す。

のところにピークをもつ。最後に、 $\omega_3$  軸は  $^1\text{H}$  核の化学シフトの  $\Omega_{\text{HB}}$  でピークを示す。  
3次元の  $\omega_1\omega_2\omega_3$  空間内にこのピークを図示すると図 43 のようになる。

$\omega_2 = \Omega_{\text{NB}}$  における  $\omega_1\omega_3$  平面上の 2次元スライス-スペクトルを取り出すと、 $\omega_3 = \Omega_{\text{HB}}$  の線上に  $\text{N}_\text{B}\text{H}$  の他にもいくつかの交差ピークが並ぶ (模式図には  $^{15}\text{N}_\text{A}$  と  $^{15}\text{N}_\text{C}$  の 2つ)。ピーク ' $\text{N}_\text{B}\text{H}$ ' は観測核  $^1\text{H}_\text{NB}$  自身の共鳴ピークを表し、 $^{15}\text{N}$  核の共鳴周波数が等しくなる対角ピーク ( $\omega_1 = \omega_2 = \Omega_{\text{NB}}$ ) である。一方、 $^{15}\text{N}_\text{A}$  や  $^{15}\text{N}_\text{C}$  は、 $^1\text{H}_\text{NB}$  核に空間的に近接している  $\text{NH}$  基の  $^{15}\text{N}$  核の交差ピークである。上記の例では隣接残基を  $\text{N}_\text{A}\text{H}$  基としたので、 $^{15}\text{N}_\text{A}$  が  $\text{N}_\text{B}\text{H}$  基と隣接  $\text{N}_\text{A}\text{H}$  基との交差ピーク、 $^{15}\text{N}_\text{C}$  は、その他の空間的に近接した  $\text{NH}$  基との交差ピークを表す。一般には一つに限らず複数個検出される。

3次元のスペクトル空間には多数の交差ピークが現れる。1つの  $\text{NH}$  基当たり、空間的に近接した  $\text{NH}$  基の数は 4 ~ 6 個程度である。平均 5 個であるとする、残基数 100 のタンパク質の場合、観測核自身の対角ピークも含めて合計 600 個の共鳴ピークが 3次元の  $\omega_1\omega_2\omega_3$  空間に分布している。これらのピークを 2次元平面  $\omega_2\omega_3$  に向かって射影をとると、 $\omega_1$  軸上に展開した複数のピークは平面上の 1 点に畳み込まれて、この平面上にはタンパク質中の主鎖  $\text{NH}$  基の数だけ交差ピークが現れる。すなわち、この  $\omega_2\omega_3$  平面上に畳み込まれた共鳴ピークは、図 40 に示した 2次元 HSQC スペクトルと同じものになる。言い換えると、 $\text{H-N-H}$  パルスプログラムによって得られた 3次元スペクトルの共鳴ピークは、2次元 HSQC スペクトル上の  $\text{NH}$  基 1 個当たりの交差ピークを  $\omega_1$  軸上に引き出して、観測核自身の対角ピークと、それに空間的に近接した  $\text{NH}$  基の交差ピークを展開したものである。従って、2次元 HSQC スペクトル上の、ある残基  $\text{B}$  ( $\Omega_{\text{NB}}, \Omega_{\text{HB}}$ ) を取り上げ、それに隣接する残基の  $^{15}\text{N}$  軸上の位置を知ろうと思えば、図 43 に示されているように、残基  $\text{B}$  の交差ピークから  $\omega_1$  軸に沿って引き出した直線上の交差ピークを検出すればよい。その内の何れか 2 つが、隣接残基の  $^{15}\text{N}$  核の位置を示している。すなわち、 $\omega_2 = \Omega_{\text{NB}}$  の位置で 3次元スペクトルを切り出した  $\omega_1\omega_3$  スライス-スペクトルを作成し、 $\omega_3 = \Omega_{\text{HB}}$  の直線上のピークを調べると、その中にピーク強度が最も強い残基  $\text{B}$  自身の対角ピークと、それに隣接する残基との交差ピークが存在している。

3次元の  $\text{H-N-H}$  スペクトルから、望みの 2次元スライス-スペクトルを切り出すために UCSF 版の Sparky というツールを用いて、ピーク帰属を行った具体例を以下に示

す (Sparky の情報はネットで常に最新のものを検索することを薦める)。

### 34. ピーク帰属の実例

図 44 は Starch-binding domain of glucoamylase (SBD と略す) という残基数 110 のタンパク質に対して測定された HSQC スペクトルである (正確にいうと、SBD の S-S 結合欠損変異体 C3G/C98G : BMRB Entry ID 11428)。2 次元スペクトルなので、

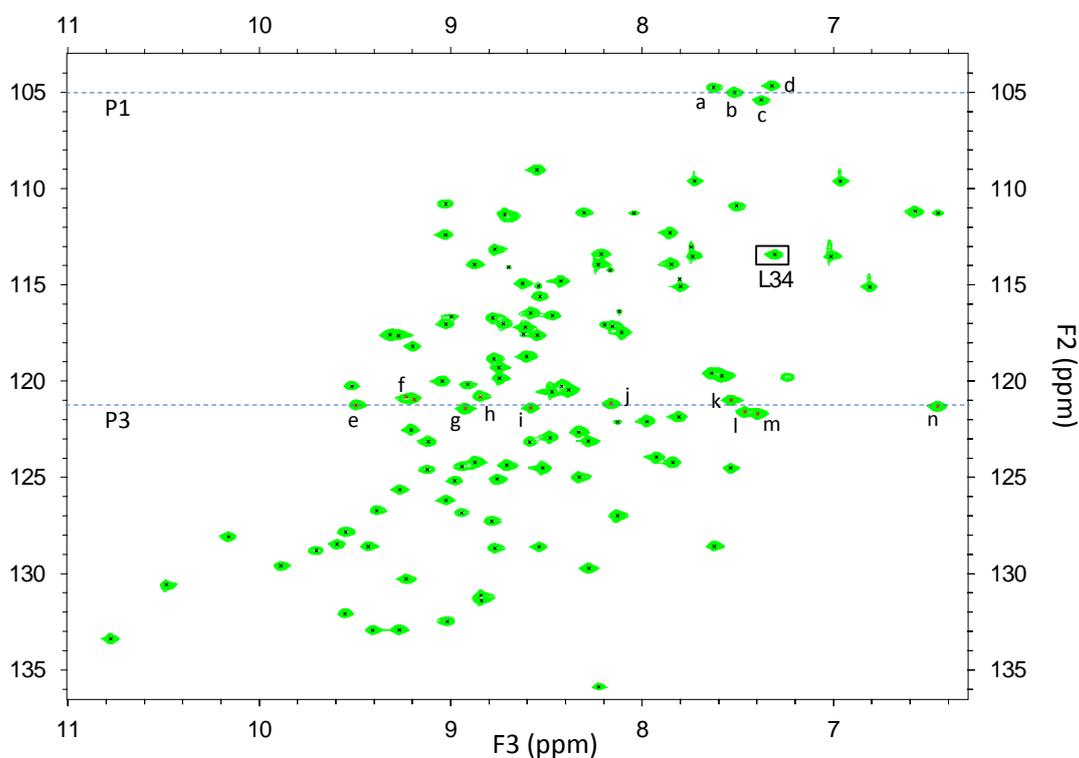
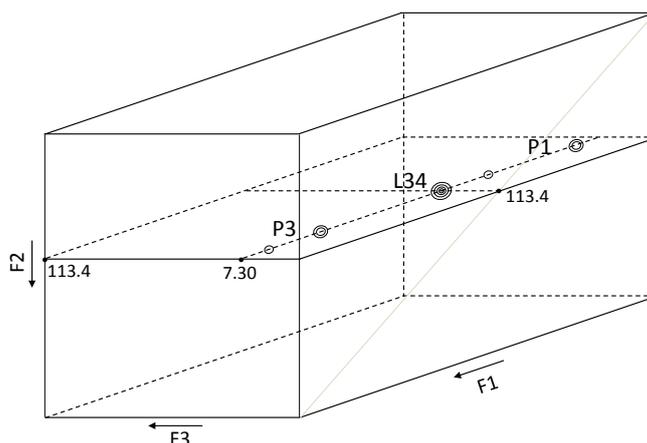


図 44 SBD の 2 次元 HSQC スペクトル。ピーク帰属は未定の状態であるが、残基 L34 だけが確定しているとする。縦軸、横軸は F2, F3 軸と名付けられている (理由は本文参照)。F2 軸は  $^{15}\text{N}$  核の化学シフト、F3 軸は  $^1\text{H}\text{N}$  核の化学シフトである。F2=105 ppm と 121.3 ppm の位置で F3 軸に平行な直線 : P1, P3 に注目し、その上の交差ピーク a ~ n の中から L34 に隣接する残基を探す。その理由は図 46 に示した 2 次元スライス-スペクトルにある。

縦軸 ( $^{15}\text{N}$  の化学シフト) を F1 軸、横軸 ( $^1\text{H}\text{N}$  の化学シフト) を F2 軸と名付けるの

が普通であるが、3次元 NMR スペクトルの共鳴ピークを F2-F3 平面に畳み込んだものが2次元 HSQC スペクトルであると見なすという観点から、縦軸を F2、横軸を F3 と名付けた。各軸の目盛りは ppm 単位で測った化学シフトの値  $\delta$  で示す。

ピーク帰属を始めるに当たって、ある種の情報から（何がそれに当たるかは個々の状況による）、図 44 上の F2=113.4 ppm, F3=7.30 ppm の位置の交差ピークが L34 という残基であると確定したとして、それを起点としてピーク帰属を始めよう。3次元の H-N-H スペクトルの全ピークを、F2-F3 平面上に畳み込んだ2次元 HSQC スペクトルを想定し、それを F1 軸に沿って引き出したとすると、F2=113.4, F3=7.30 の位置から引き出された直線上には残基 L34 自身の対角ピークが、F1=113.4 ppm の位置に存在する（F1 と F2 の値が同じ対角線上の位置）。それを模式的に示したものが図 45 である。



**図 45** H-N-H の 3 次元スペクトルと F1-F3 スライス-スペクトルの模式図。F2-F3 平面上の F2=113.4, F3=7.30 の点から、面に直交し F1 軸に沿う直線を引き出すと、いくつかのピークが見つかる。模式図には 5 点のピークが書き込まれているが、その中の主要なピークを P1, L34, P3 と印した。F1=113.4 に位置する L34 は、まさしく図 44 に存在する残基 L34 自身の対角ピークである。

実際に測定された SBD の 3 次元 H-N-H スペクトルに対し、Sparky を用いて F2=113.4 ppm の位置で切り出した F1-F3 スライス-スペクトルを作成した。それが図 46 である。F1 軸に平行な直線上には F1=113.4, F3=7.30 の位置に確かに最も強い共鳴ピーク

クが現れていて、それが L34 自身の対角ピークである。直線上には、それ以外にもいくつかの交差ピークが存在する。F1=105 ppm の位置にある比較的強いピークを P1、F1=121.3 ppm のピークを P3 と名付けた。このピークは L34 に隣接する 2 つの残基の可能性が高い。

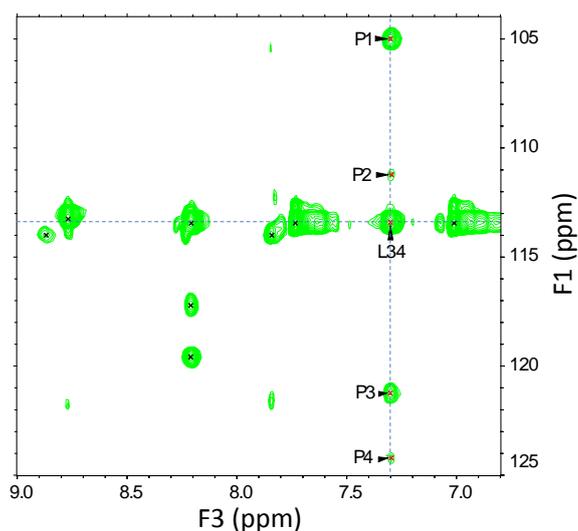


図 46 SBD の 3 次元スペクトルを F2=113.4 ppm で切り出した F1-F3 スライス-  
 スペクトル。残基 L34 を通って F1 軸に平行に引いた直線上には、L34 以外にも P1、  
 P2, P3, P4 という交差ピークが検出される。図 45 に図示した F1-F3 平面上には、  
 このスライス-スペクトルが模式的に描かれている。

ピーク P1 の  $^{15}\text{N}$  核の化学シフトは 105 ppm であるが、図 44 に示された 2 次元 HSQC  
 スペクトルを見ると、この付近には a, b, c, d という 4 つの残基の交差ピークが存在し  
 ている、どれが L34 に隣接する残基なのかは不明である。それを決めるためには F2=105  
 ppm で切り出した F1-F3 スライス-スペクトルを調べる必要がある。図 47 の左図はそ  
 れを表している。F1=105 ppm 近傍の横線上には各残基自身の対角ピーク a, b, c, d が  
 確かに並んでいて、それぞれのピークから F1 軸に平行に下ろした縦線上には、各残基  
 に空間的に近接した交差ピークが並ぶ。しかし、残基 a, c, d に近接する残基には、L34  
 は含まれていない。残基 b だけが、空間的近接ピークとして L34 を含んでいる。従っ  
 て、残基 b は L34 に隣接する Q33 か G35 の可能性が極めて高い。 $^{15}\text{N}$  核の化学シフト

が 105 ppm と観測範囲の最小値に近いことを考慮するとアミノ酸残基は Gly という可能性が高く、ほぼ G35 であると結論してよい。残基 b の  $^1\text{HN}$  の化学シフトが  $F3=7.52$  であることから、DQF-COSY スペクトルの情報を用いて  $^1\text{HN}$  と  $^1\text{HC}_\alpha$  の交差ピークを探すと、Gly に特徴的な 2 つの  $^1\text{HC}_\alpha$  核が検出された。ほぼ間違いなく G35 と同定できる。また、ピーク b を含む F1 軸に平行な直線上には、L34 以外にも 3 個の交差ピークが存在する。その中で、 $F1=124.2$  ppm 付近に強いピークが見つかる。このピークが残基 D36 であるという証拠が見つければ、残基 b が G35 という結果が一層確定的になる。ピークがある残基に帰属されたとき、DQF-COSY の情報を併用すると、

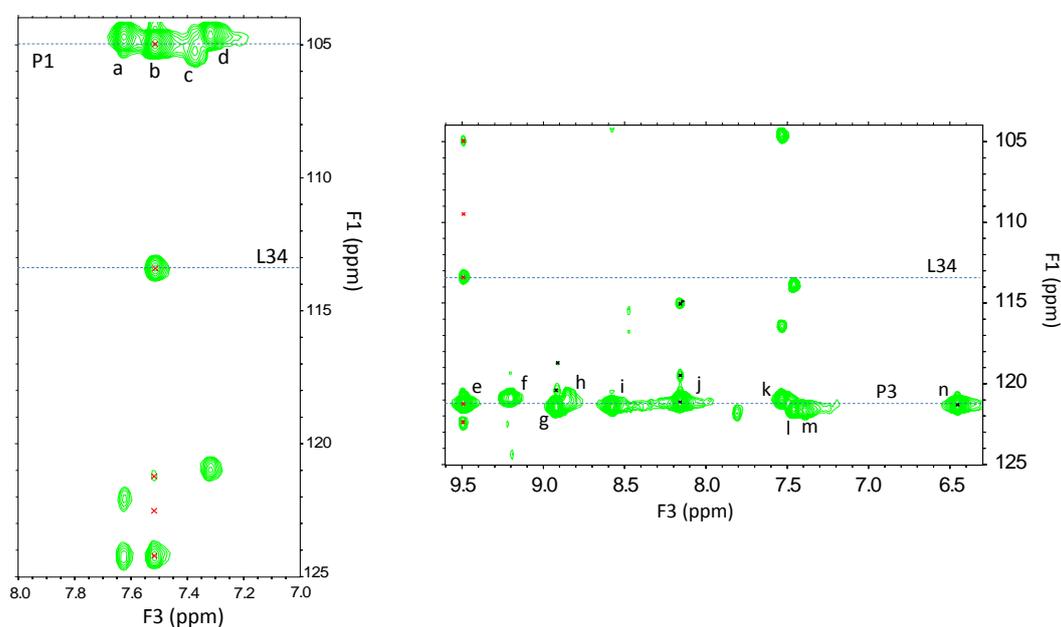


図 47 ピーク P1 および P3 の位置における F1-F3 スライス-スペクトル。左は  $F2=105$  ppm における、右は  $F2=121.3$  ppm におけるスライス-スペクトル。(左) a, b, c, d が残基自身の対角ピークで、そこから縦に引いた直線上に、当該残基に近接する残基の交差ピークが出現する。L34 の化学シフトの位置に交差ピークをもつ残基は b だけである。(右) e ~ n が残基自身の対角ピーク。L34 の位置に交差ピークをもつ残基は e だけである。

$^1\text{HN}$  の化学シフトから、 $^1\text{HC}_\alpha$ ,  $^1\text{HC}_\beta$ ,  $^1\text{HC}_\gamma$ ... というように側鎖の  $^1\text{H}$  の化学シフトが明らかになって、アミノ酸の種類を限定することに貢献する。実際、 $F1=124.2$  ppm の残

基は D36 として種々の情報が首尾一貫していた。

同様の手続きで、図 46 のピーク P3 がどの残基由来のものであるかを調べる。F2=121.3 ppm の位置で F1-F3 スライス-スペクトルを切り出した。それが図 47 の右図である。P3 という横線上に存在する e~n は各残基自身の対角ピークである。そこから縦線を引くと L34 の位置に交差ピークをもつ残基は e だけである。従って、残基 e は G35 か Q33 であるが、残基 b が G35 という結論と矛盾しないためには、残基 e は Q33 となる。その結論をさらに確実にするためには、図 47 のピーク e の下に現れている交差ピーク (F1=122.5 ppm 付近) を調べる必要がある。その結果、このピークが残基 S32 であるとする他の DQF-COSY や NOESY スペクトルの情報とも首尾一貫していた。

ピーク帰属には絶対的な証拠というものはない。隣接残基間の情報、同一残基内の情報を組み合わせて、首尾一貫した結果となることがピーク帰属の成否の判定条件である。帰属が不適切であれば、すぐに連鎖帰属が途切れてしまう。帰属が成功した残基が長く連続すれば、それだけ帰属の結果の信頼度が上がることになる。L34 を起点として連鎖帰属を行った結果を、短冊形のスペクトルにして確認してみよう。

図 48 は、当該残基を対角ピークとして含む F1-F3 スライス-スペクトルを細い短冊形にして、それを横に並べたものである。例えば、図 48 の L34 に対する短冊は、図 46 のスライス-スペクトルから残基 L34 を含む部分を細い短冊に切って、F1 軸を横にして置いたものである。その上の Q33 に対する短冊は図 47 の右図からピーク e を含む部分を短冊にしたものである。また、G35 に対する短冊は、図 47 の左図からピーク b を含む部分を短冊に切り取ったものを L34 の短冊の下に置いたものである。このように、連続する残基の短冊を並べると、隣接する残基間の交差ピークの位置がぴったり一致して並ぶ。また、Q33 と G35 は隣接してないが、両残基間の交差ピークが明瞭に現れていて、ピーク帰属の結果を一層確実に証明している。D36 と L34 の間の交差ピークに関しても同じことが指摘できる。

残基 L34 を起点として連鎖帰属を行った結果、I31 から G42 まで連続 12 残基の帰属が成功した。これは相当幸運な例である。ときどき連鎖帰属が途切れながらも帰属できた部分を増やしていくと、やがて全残基に対して矛盾のないアミノ酸残基の同定が成功していく。詳細には述べなかったが、DQF-COSY に現れる残基内の  $^1\text{H}$  間交差ピ

一つのパターンにはアミノ酸残基特有の明確な特徴があつて、連鎖帰属から同定されたアミノ酸残基の DQF-COSY 情報がアミノ酸配列情報と矛盾しないかどうかは重要な判定条件である。以上が SBD というタンパク質に対して行われたピーク帰属の一部分である。

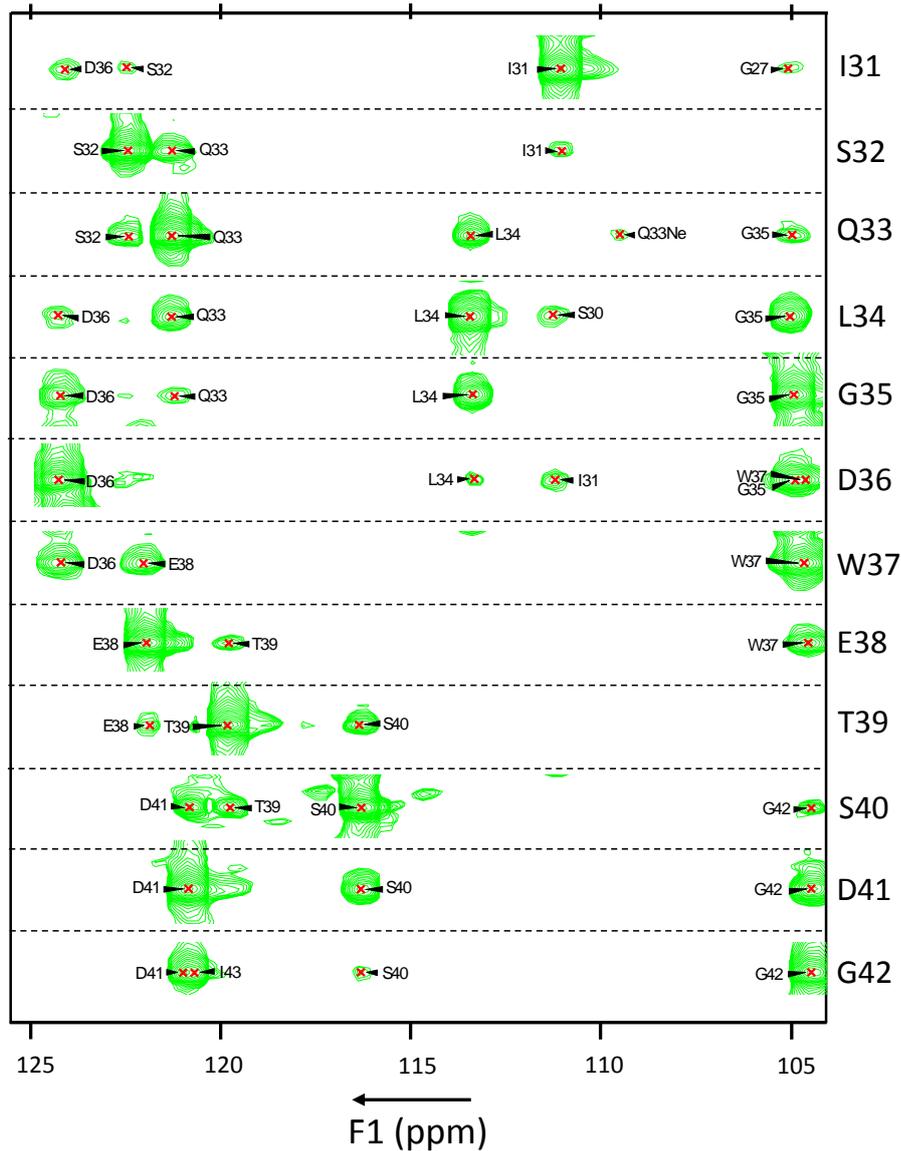


図 48 F1-F3 スライス-スペクトルを短冊形にして並べたもの。切り出した縦型の短冊を時計回りに 90°回転して並べてある。短冊の右端には当該残基名が表示されている。

ピーク帰属が完成すれば、タンパク質の立体構造の解析が始まるが、本書はタンパク質 NMR の測定原理を理解することに焦点を絞って概説してきた。タンパク質科学としては、NMR 分光法から得られるプロトン間の距離情報に基づく立体構造解析や構造変化が重要な問題であり、タンパク質 NMR が「タンパク質立体構造の構築原理」を探る強力な研究方法となっていることが明らかになる。それは十分魅力的で、解説する価値のある問題であるが、ピーク帰属までが「タンパク質 NMR の物理的基礎」の範囲内の問題であると考え本書をここで閉じる。

具体例として取り上げたリゾチームと SBD の NMR スペクトルは下記の参考文献を参照していただきたい。また、表紙にのせた PCP (Pyrrolidone Carboxyl Peptidase) の NMR スペクトルは、大阪大学蛋白質研究所の NMR 分光器を用いて測定された三重共鳴スペクトルを併用して、そのピーク帰属を完成した。筆者たちは、これらのタンパク質の種々のアミノ酸置換変異体を用いて研究し、「タンパク質立体構造の構築原理」というものを解明しようとしてきた。

-----  
参考文献：

1. Y. Noda et al. *Biochemistry* **41** (2002), 2130-2139. “NMR Structural Study of Two-Disulfide Variant of Hen Lysozyme: 2SS[6-127,30-115] - A Disulfide Intermediate with a Partly Unfolded Structure”.
2. A. Yokota et al. *Biochemistry* **43** (2004), 6663-6669. “NMR Characterization of Three-Disulfide Variants of Lysozyme, C64A/C80A, C76A/C94A, and C30A/C115A - A Marginally Stable State in Folded Proteins”.
3. H. Sugimoto et al. *J. Mol. Biol.* **412** (2011), 304-315. “NMR Analysis of a Kinetically Trapped Intermediate of a Disulfide-Deficient Mutant of the Starch-Binding Domain of Glucoamylase”.
4. S. Segawa 関西学院大学リポジトリ A007008 研究資料 (2015) “Experimental Evidence for the Structure of Lysozyme in the Transition State of Folding”.
5. S. Iimura et al. *Biochemistry* **46** (2007), 3664-3672. “Characterization of the Denatured Structure of Pyrrolidone Carboxyl Peptidase from a Hyperthermophile under Nondenaturing Conditions: Role of the C-terminal  $\alpha$ -Helix of the Protein in Folding and Stability”.

## あとがき

本書は関西学院大学の大学院において行われた「構造生物学」の講義ノートを元に、その内容に多少手を加えて成書としたものである。物理系の院生には、物理学の基礎理論が生命科学の先端的研究と深い部分で繋がっていることを、化学、生命科学系の院生には、生命科学の基礎はそれを構成する物質の性質を究極的に解明することにもあり、その意味では物理学的方法を巧みに利用することも重要であると伝えようとした。

タンパク質は生命科学の中心的研究課題であり、NMR 分光学は巨大分子の立体構造と生物学的分子機能との関係を調べる最も強力な研究手段を提供している。逆に、タンパク質という研究対象が存在したために、異種核多次元 NMR という想像を超えるような複雑で巧妙な測定法の開発が促されてきたのだとも言える。タンパク質は膨大な数のスピンの非周期的な集合体であり、スピン系の運動は基本的に量子力学に従う。量子力学的取り扱いを厭わなかったことがタンパク質 NMR という分光学を生み出したとも言えるだろう。従って、量子力学を避けて説明しようとするが無理が重なってかえって混乱を招く結果になる。量子力学の初歩的知識を修得するため少し遠回りしなければならないが、その方がストレートで分かりやすい。本書では密度演算子  $\hat{\sigma}$  を直積演算子で表現し、ハミルトニアン  $\hat{H}$  のもとで  $\hat{\sigma}$  がどのように時間変化をするかを追跡して FID 信号を観測するという立場で首尾一貫して NMR 現象を考察した。それが本書のタイトルを「タンパク質 NMR の物理的基礎」と名付けた理由でもある。

NMR 分光法は、タンパク質以外にも多くの研究分野において、強力な観測手段を提供している。従って、それぞれの研究目的に応じて最適の測定手法が開発されてきており、その全容は NMR 分光学の専門家ではない筆者たちの知識の及ぶところではない。さらに、NMR 分光学を学ぶには、測定装置のハードウェアに関する知識も最小限必要であり、またデジタルデータ処理に関する知識もある程度要求される。それらに関して解説することは筆者たちの力の範囲外のことであり、本書では触れていない。さらに、タンパク質 NMR の測定手法としても、本書で取り上げたものはごく一部に過ぎない。特に、 $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^1\text{H}$  の NMR 現象を活用した 3 重共鳴測定法はタンパク質 NMR として必要不可欠な問題であるが、必要最小限の範囲にとどめるという本書の立場から解説を割愛した。他の成書を参考にさせていただきたい。

下記の参考書は筆者が手にして通読したものに過ぎないことをお断りして、本書で

は触れなかった部分の参考書として取り上げておきたい。

#### 参考図書

T.C. Farrar and E.D. Becker: Pulse and Fourier Transform NMR. Introduction to Theory and Methods, Academic Press; 「パルスおよびフーリエ変換 NMR - 理論および方法への入門」(赤坂一之、井元敏明訳) 吉岡書店。

K. Wüthrich: NMR of Proteins and Nucleic Acids, Wiley; 「タンパク質と核酸の NMR - 二次元 NMR による構造解析」(京極好正、小林祐次訳) 東京化学同人。

小林祐次、京極好正: 「タンパク質の化学(下) 第IV部 11章-16章」(続生化学実験講座 2) 日本生化学会編、東京化学同人。

阿久津秀雄、嶋田一夫、鈴木栄一郎、西村善文 編: 「NMR 分光法 - 原理から応用まで」(日本分光学会 測定法シリーズ 41)、学会出版センター。

荒田洋治: 「NMR の書」、丸善出版。

R.R. Ernst, G. Bodenhausen and A. Wokaun: Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two dimensions, Oxford University Press; 「二次元 NMR - 原理と測定法」(永山国昭、藤原敏道、内藤晶、赤坂一之訳) 吉岡書店。

R. Freeman: A Handbook of Nuclear Magnetic Resonance, Longman; 「NMR ハンドブック」(坂口潮、嶋田一夫、荒田洋治訳) 共立出版。

S.W. Homans: A Dictionary of Concepts in NMR, Revised Edition, Oxford University Press.

J.K.M. Sanders and B.K. Hunter: *Modern NMR Spectroscopy. A Guide for Chemists*, Oxford University Press; 「NMR ガイドブック」(坂口潮訳、荒田洋治監訳) 廣川書店。

A. E. Derome: *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*, Pergamon Press; 「化学者のための最新 NMR 概説」(竹内敬人、野坂篤子訳) 化学同人。

J. Cavanagh, W.J. Fairbrother, A.G. Palmer III and N.J. Skelton: *Protein NMR Spectroscopy. Principles and Practice*, Academic Press.

J. Keeler: *Understanding NMR Spectroscopy*, Wiley.