磁気共鳴分光

I. NMR の原理

廣 明 秀 一

横浜市立大学大学院国際総合科学研究科生体超分子科学専攻
横浜市鶴見区末広町 1-7-29 (〒230-0045)

(2005年12月15日 受理)

Magnetic Resonance Spectroscopy I. Basics of NMR

Hidekazu HIROAKI

Field of Supramolecular Biology, International Graduate School of Arts and Sciences,
Yokohama City University 1-7-29, Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama 230-0045

(Received December 15, 2005)

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) is one of the key methodology of spectroscopy, which is based on the resonance between nuclear spin and radio frequency electric wave under the strong magnetic field. Although NMR began its history as a phenomena of quantum physics, its modern pulse-FT NMR have been widely applied in the area of analytical chemistry, molecular biology, medicine and quantum computing. In this review, the basic theory of NMR is introduced according to the classical magnetization model rather than the view of quantum mechanics. The meaning of the data available from NMR, such as chemical shift, spin coupling, and coupling constant as well as basics of density matrix and product operator formalism is briefly described.

1. 緒 言

いくつかの原子核は強い磁場中に置かれると、特定のエネルギーの電磁波を吸収するような性質をもつようになる。核磁気共鳴法 (Nuclear Magnetic Resonance: NMR) はこの性質を利用した分光法である^{1,2)}。分光分析法における NMR の重要性は、ますます増加しつつある。1940～1950年代にかけて、核スピンや電子スピンの NMR 現象が発見されてから、半世紀以上にわたる技術革新と装置の高度化が続けられてきた結果、高分解能 NMR 技術は 20世紀後半に爆発的に発展した。表 1 に、NMR の発展に関連のある成果に対して授与されたノーベル賞を掲げた。「物理学の時代」から始まり、「化学の時代」を経て「医学・生物学の時代」へと遷移しながら、発展を続けていることが見て取れる。2002年の K. Wüthrich 博士、2003年には P. Mannsfeld 博士、P. Rauterber 博士らの NMR に関連する応用研究が二年連続してノーベル賞に輝いたことも記憶に新しい。現在、NMR は溶液中の分子構造決定をはじめとして、固体物性研究のための固体 NMR や、生体

分子を解析する構造生物学、画像診断を通じた医療への応用へと幅広い広がりを見せており、分光法の中でも特別な地位を占めている。一方、NMR 現象は後述するように核スピンの観測する測定法であり、測定中に各核スピンにおける量子力学的重ね合わせ状態を実現でき、しかもそれを操作することができる。このことを利用して量子コンピューティングの装置としても注目されている。

本稿では、主に溶液 NMR の基礎原理と装置について紹介する。固体 NMR、MRI および生体分子の NMR への応用などの専門的なトピックについては、本誌の「講座」の他の項目において詳述される予定である。

2. NMR の原理

前述のように、NMR 現象は、強い磁場中に置かれた原子核と電磁波の相互作用を利用した分光法であり、核スピンの量子力学的な振る舞いについて、理論と実験が極めてよく一致する方法論である。しかし、限られたスペースで、初学者の理解を優先するために、量子力学的記述については成書³⁻⁵⁾に譲ることとする。実際、筆者の実感とし

表1 ノーベル賞から見た NMR 発展の歴史

物理の時代：原子核・量子力学・量子化学		
核スピン・電子スピンの発見	W. パウリ	ノーベル物理学賞 (1945)
	P. クッシュ	ノーベル物理学賞 (1955)
NMR 現象の発見	I. I. ラービ	ノーベル物理学賞 (1944)
	E. M. パーセル	ノーベル物理学賞 (1952)
	F. ブロッホ	ノーベル物理学賞 (1952)
超伝導現象の発見	H. K. オンネス	ノーベル物理学賞 (1913)
	J. バーディーンら	ノーベル物理学賞 (1972)
化学の時代：		
2 次元 NMR	R. R. エルンスト	ノーベル化学賞 (1991)
生物学、医学の時代：		
タンパク質の NMR による立体構造決定	K. ビュートリッヒ	ノーベル化学賞 (2002)
MRI による画像解析法	P. マンスフィールド	ノーベル医学生理学賞 (2003)
	P. ラウターバー	

では、後述する分極移動の項以外は、古典力学的モデルで NMR 現象のほとんどについて理解することができる。

2.1 電子スピンと核スピン

NMR の原理のもととなっているのは、原子や電子の状態を記述する波動方程式に出てくる量子数のうち、主量子数 n 、方位量子数 l 、磁気量子数 m のあとに見出された第 4 の量子数（スピン量子数 s ）に由来する物理量、核スピン I である。スピンを古典力学的にイメージしようとするならば、荷電粒子である電子や原子核が、それ自体で「自転」するときを生じる磁気モーメントに対応する。電子のスピンは $1/2$ であり、外部の静磁場により $+1/2$ と $-1/2$ の二つのエネルギー順位に分裂する。この分裂のことを Zeeman 分裂と呼び、二つのエネルギー差に相当する電磁波を吸収して電子のスピンは安定状態から励起状態に移移する（図 1）。この原理を利用した測定法が電子スピン共鳴法（ESR）である。同様に、核スピンは $1/2, 1, 3/2, 2 \dots$ のように半整数または整数のとびとびの値を持ち、静磁場中でエネルギー順位の分裂を起こし、電磁波を吸収して核のスピン状態が変化する。これが核磁気共鳴法（NMR）である。従って ESR と NMR は、特にそのスピンの理論的取り扱いにおいて共通した点が多い。さて、核スピンはそれぞれの原子核の原子番号と質量数に応じて、固有の値を持っている。一般的には、質量数が奇数の原子は $1/2, 3/2, 5/2$ などの半整数の値をとる。質量数が偶数かつ原子番号が奇数の原子は、 $1, 2, 3$ などの整数の値をとる。質量数が偶数かつ原子番号が偶数の原子ではスピンは 0 となる。NMR 現象は、この核スピンが 0 でない全ての原子において可能である。しかし、 $I \geq 1$ の核には電気四極子モーメントがあるために、NMR の吸収線の線幅の広幅化が起こるため高分解能 NMR には適さない。一方、特に $I = 1/2$ の核においては線幅の狭さと、そのスピンの挙動の理論的取扱いが容易なことも相まって、非常によく利用さ

図1 Zeeman 分裂．外部磁場により縮重していた核スピンの二つのエネルギー状態が分裂し、エネルギー差に相当する電磁波を吸収するようになる。

れている。典型的な原子とその核スピンの例を表 2 に示す。核によっては、特定の同位体のみが NMR で観測可能である。こうした同位体のうち放射能を持たない同位体（安定同位体）が NMR においてよく利用されている。例えば ^{13}C と ^{15}N はその天然存在比がそれぞれおよそ 1% と 0.4% であり、十分な試料量があれば実用可能な感度で NMR が観測可能である。 ^1H , ^{13}C , ^{15}N 以外の核種の NMR のことを多核（または他核）NMR と総称することがある。

2.2 巨視的磁荷の磁場中での振舞い（古典的モデル）

前述のように原子核がもっている電荷が、原子核のある軸にそって回転運動をすることで、あたかも微小な磁気双極子を生じているようにふるまい、いわば自転している小さな磁石と看做することができる（古典的モデル）。それぞ

表2 NMRで観測可能ないくつかの核の性質

核	原子番号	質量数	スピン	天然存在比 [%]	磁気回転比 [$10^7 \text{ rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}$]
中性子(n)	0	1	1/2	0	-18.325
^1H	1	1	1/2	99.9	26.752
^2H (D)	1	2	1	0.01	4.107
^{13}C	6	13	1/2	1.07	6.728
^{15}N	7	15	1/2	0.368	-2.712
^{19}F	9	19	1/2	100	25.162
^{23}Na	11	23	3/2	100	7.081
^{31}P	15	31	1/2	100	10.839
^{51}V	23	51	7/2	99.8	7.046
^{111}Cd	48	111	1/2	12.8	-5.698
^{113}Cd	48	113	1/2	12.2	-5.961
^{129}Xe	54	129	1/2	26.4	-7.452

図2 個々のスピンと巨視的磁荷. それぞれのスピンは α または β 状態であるが全体としては B_0 方向の巨視的な磁荷を持つようになる.

れのスピンのもつ磁石の大きさを電荷になぞらえて磁荷 (magnetization: 磁化とも表記する) と呼ぶ. この小さな磁石は外部磁場がないときには, その回転軸はランダムな方向を向いているが, 外部磁場 (静磁場) B_0 が与えられると, 静磁場に平行な軸のまわりに歳差運動する (図2). この運動を Larmor の歳差運動とよび, その周波数 (Larmor 周波数) ω と外部磁場の強さには以下の式で与えられる比例関係がある.

$$\omega = \gamma B / (2\pi) \quad (1)$$

この比例定数のことを磁気回転比 γ とよび, 個々の原子核は固有の磁気回転比 γ を持っている (表2). この周波数に等しい電磁波が更に外部から照射されると, 核スピンは磁気共鳴し, 電磁波を吸収する. たとえば11.7 T (テスラ) の磁場中で ^1H , ^{13}C , ^{15}N はそれぞれおよそ500 MHz, 125 MHz, 50 MHz で共鳴する.

スピン量子数 I をもつ原子核の核運動量 p と磁気モーメント μ の間には, 前述の磁気回転比に関連して以下の関係が成り立っている.

$$p = I (h/2\pi) \quad (h \text{ はプランク定数}) \quad (2)$$

$$\mu = \gamma p \quad (3)$$

図3 占拠数. スピンの二つの状態にはエネルギーの差があり, それぞれの状態を占拠するスピンの数が異なる.

つまりスピン量子数 I をもつ原子核の静磁場 B_0 中でのエネルギー順位は量子化されており, $2I+1$ 個に分裂する. エネルギー順位 E_m は量子状態 m ($-I, -I+1/2, \dots, 0, I-1/2, I$) の値に従い,

$$E_m = -\gamma (h/2\pi) m B_0 \quad (4)$$

である. $I=1/2$ の核 (^1H , ^{13}C , ^{15}N など) では $m=1/2$ と $-1/2$ の二つの状態のみが存在し, それぞれを α 状態と β 状態とよぶ. 図2に示したように, 個々のスピンは α 状態または β 状態の二つの状態の量子力学的重ね合わせである. それぞれの状態は, いずれもそれぞれの状態に対応するコーン上で歳差運動をしている.

現実に NMR 装置が観測するのは, 多くのスピンのアンサンブルを平均したものである. これを巨視的な磁荷 (熱平衡磁荷) という. 巨視的な磁荷は静磁場方向 (z 軸) の成分 M_z を持ち, 一方 xy 平面方向成分 M_x , M_y はそれぞれ平均化されて零になっている. この巨視的な z 磁荷は α , β の二つの状態の占有率の差とスピン一つあたりの磁気モーメントの z 成分 m_z について

$$M_z = (N_\alpha - N_\beta) m_z \quad (5)$$

(ただし N_α , N_β はそれぞれのスピンの占有率で $N_\alpha + N_\beta = 1$) である (図3). 熱平衡状態における占有率の差を Boltzmann 分布の式から計算してみると,

$$N_\beta / N_\alpha = \exp(-\Delta E/kT) \approx 1 - \Delta E/kT \quad (6)$$

(ただし $\Delta E/kT \ll 1$)

$$(N_\alpha - N_\beta) \approx \Delta E/2kT \quad (7)$$

^1H の共鳴周波数が500 MHz (外部磁場11.7 T) のときの両状態のエネルギー差はわずか $2.0 \times 10^{-4} \text{ kJ/mol}$ に過ぎないので, 室温での kT (2.5 kJ/mol) を代入するとおよそ 10^{-5} である. 言い換えれば, 巨視的な磁荷として観測されているものは10万個のプロトンのわずか一個分であることを意味している. 他の分光法に比較して NMR の感

度が低い理由はここにある。その反面、物質に吸収されるエネルギーが非常に少ないということは、NMR や MRI の持つ低い侵襲性につながっているともいえる。

一方巨視的な磁荷 M_z の大きさは

$$M_z = \frac{\gamma^2 \hbar^2 I(I+1)}{3kT} B_0 \quad (8)$$

となる。磁気回転比が大きく外部磁場強度が強ければ強いほど、磁荷が強くなり（＝感度がよくなり）、また温度が低ければ低いほど感度が上がることが予測される。

2.3 パルス FT-NMR の原理

さて、こうして得られた巨視的な磁荷 $\mathbf{M} = M_z$ が z 軸に平行な静磁場 B_0 中で、更に z 軸に垂直に振動磁場 B_1 をかけたときの時間変化を解析する。一般に核磁気モーメントの運動方程式は、核磁気作用する磁場 $\mathbf{B}$ （ベクトル量であることに注意）について

$$d\mathbf{M}/dt = \gamma \mathbf{M} \times \mathbf{B} \quad (9)$$

で記述できる。この式を x, y, z の三成分に分けて書き、それぞれに xy 平面での巨視的磁荷の減衰を表す項 T_2 （横緩和）と z 軸上での磁荷の回復を表す項 T_1 （縦緩和）を含めた運動方程式のことを Bloch 方程式という。

$$dM_z/dt = \gamma (\mathbf{M} \times \mathbf{B})_z - (M_z - M_z^0)/T_1 \quad (10)$$

$$dM_x/dt = \gamma (\mathbf{M} \times \mathbf{B})_x - M_x/T_2 \quad (11)$$

$$dM_y/dt = \gamma (\mathbf{M} \times \mathbf{B})_y - M_y/T_2 \quad (12)$$

さて、周波数 ω_1 で振動する磁場 B_1 は xy 平面上を時計回りに角速度 ω_1 で回転する成分と反時計回りに（ $-\omega_1$ ）で回転する成分のベクトル和であると考えられる。いま、振動磁場は実験室固定の座標系で見ているが、それとは別に z 軸に沿って振動磁場と同じ角速度で回転する座標系（回転座標系） x', y', z を導入すると、上記の回転磁場は例えば回転座標系における x' に沿って掛けられた磁場として記述できる（図 4）。この回転座標系内での磁荷 $\mathbf{M}$ の運動方程式は

$$(\partial \mathbf{M} / \partial t)_{\text{rot}} = \gamma \mathbf{M} \times (\mathbf{B} + 2\pi\omega_1/\gamma \cdot \mathbf{z}) \quad (13)$$

$$= \gamma \mathbf{M} \times (B_0 \cdot \mathbf{z} + B_1 \cdot \mathbf{x} + 2\pi\omega_1/\gamma \cdot \mathbf{z}) \quad (14)$$

$$= \gamma \mathbf{M} \times (2\pi(\omega_1 - \omega)/\gamma \cdot \mathbf{z} + B_1 \cdot \mathbf{x}) \quad (15)$$

（ただし $\mathbf{x}, \mathbf{z}$ は x' 軸と z 軸の単位ベクトル）

つまり、周波数が $\omega_1 = \omega$ となるように振動磁場を与えると、回転座標系では磁荷 $\mathbf{M}$ はあたかも静磁場 B_0 を感じていないかのように振舞い、その運動は振動磁場の強度 B_1 によって回転運動することがわかる。すなわち $\omega_1 = \omega$ が共鳴条件である。 $B_1/\gamma = \theta$ と置くと

$$(\partial \mathbf{M} / \partial t)_{\text{rot}} = \theta (\mathbf{M} \times \mathbf{x}) \quad (16)$$

となり、回転座標における $y'z$ 平面上での角速度 θ での回

実験室系

回転座標系

図 4 実験室座標系と回転座標系。 z 軸に沿って Larmor 周波数で回転する回転座標系を導入すると、スピンは見かけ上外部磁場が 0 になったように振舞う。

転運動であることがわかる。つまりパルス B_1 をかけている時間 t_p に応じて、磁荷 $\mathbf{M}$ の向きは $z \rightarrow y' \rightarrow -z \rightarrow -y'$ と変化していく。磁荷の回転角（ $=\theta t_p$ ）をパルスのフリップ角（flip angle）といい、磁荷の向きを 90° （ $=\pi/2$ ）だけ変化させるパルスを 90° （ $\pi/2$ ）パルス、 180° （ $=\pi$ ）変化させるパルスを 180° （ π ）パルスと呼ぶ。ところで、このパルスを与えるための振動磁場は y' 軸に平行な方向からもかけられる。（あるいは $x'y'$ 平面上の任意のどの方向でもかけることができる。これは単にプローブコイルに流す RF パルスの正弦波の位相で制御できる。） x, y などのパルスを与える方向をパルスの位相と呼ぶ。

このようにして、パルスをかけた後に生じてくる磁荷 $\mathbf{M}$ の x' 成分 M_x 、 y' 成分 M_y をそれぞれ x 磁荷、 y 磁荷と呼び、横磁荷と総称する。横磁荷はパルスを切った後、Larmor 周波数で z 軸の周りに歳差運動を続けるので、観測コイルに誘導電流を発生する。パルス FT-NMR とは、熱平衡磁荷にパルスを与えて横磁荷を生じさせ、それを振動電流として観測し、Fourier 変換してその周波数成分を解析する NMR の方式である。

3. NMR 装置のハードウェア

NMR の装置には粉末や固体試料を対象とする固体 NMR 専用の装置と溶液試料を対象とする溶液 NMR の二種類がある。また医療用画像診断装置として用いられている磁気共鳴イメージング装置（Magnetic Resonance Imaging: MRI）もほぼ同じ原理と装置構成によって構成されている。現在用いられている高分解能の装置のほとんどは、後述するパルス FT-NMR の装置である。

3.1 パルス FT-NMR 装置²⁾

現在の NMR 装置のほとんどは、パルス Fourier 変換 NMR 装置である。つまり、静磁場中の試料に電磁場のパルスを与えて吸収させてスピンを励起した後、そのスピンの熱平衡状態に戻る過程で放出する電磁波を観測し、Fourier 変換してスペクトルを得る。その装置の構成は、静磁場を発生させる超伝導マグネット、電磁波（パルス）

図5 FT-NMR 装置の概略

を照射し、信号を観測するプローブコイル、試料に磁場勾配をかけるための磁場グラジエントコイル、パルスが発生させるトランスミッター、アンプ、ADコンバータおよびそれらをコントロールしデータを蓄積するコンピュータからなる(図5)。発信と受信を同じコイルで行い、また発生しているキャリア周波数が数十～数百MHzであり、そのキャリア周波数によって運ばれる情報がちょうど数10kHzまでのオーディオ信号と同程度の周波数帯であることを考えると、NMR装置に最も原理的に似ているものはFMトランシーバであると言える。こう考えると、高価な超伝導NMR装置が少しは身近になったであろうか？

3.2 超伝導磁石

10Tを超える強力な外部磁場を供給するために、超伝導磁石を用いる。NiTiやNi₃Snなどの超伝導線材を用いたコイルを液体ヘリウム温度に冷却し、そこに永久電流を流すことで超伝導磁石とする。磁石は外槽に液体窒素、内槽に液体ヘリウム、を入れたタンクの内側に設置して冷却される。更に超高磁場(800MHz～)を発生させるためには液体ヘリウムをニードルバルブを通じてポンピングして減圧し、4.4Kよりも更に低温にすることで安定した超伝導状態を維持する工夫もなされている。この磁石の中央の空洞(ボア)に、パルスが発生させ、また信号を観測するコイル(プローブコイル)が置かれる。これらの磁石は、主磁場を発生させるための磁石のほかに、磁場を均一にするための超伝導の磁石および常温の電磁石(シムコイル)が装備されている。シムコイルに流す電流を外部から調整することで試料をとりまく磁場の均一性を上げると、試料全域での共鳴信号の周波数も均一となり、スペクトル線幅が狭く高分解能の測定が可能となる。

3.3 プローブ

NMRの装置では電磁波(RF: radio frequency)パルスの照射と、信号観測の双方を同一のプローブコイルで行う(MRI装置では異なるコイルを使うことも可能である)。コイルは一般的にソレノイド型またはサドル型の形状のコイルが用いられる。実験の目的により、多重共鳴の実験など複数の周波数を照射励起する必要があるが、装置のスペースの関係上、プローブ中に設置できるコイルの数は限られている。そのため通常プローブ内に設置できるRFコ

イルは2個までであり、そのためそれぞれのコイルが二種類の共鳴周波数にダブルチューニングされる。例えば三重共鳴実験に用いられるプローブは、試料に近い側の内側のコイルが¹Hと²Hにダブルチューニングされており、外側のコイルが¹³Cと¹⁵Nにダブルチューニングされている。それぞれのコイルには共鳴周波数チューニング用の可変コンデンサとインピーダンスマッチング用の可変コンデンサが付いていることが多く、試料ごとに設定する。また、幅広い周波数帯域に共鳴条件を可変な多核測定用のプローブも存在している。試料に近い側のコイルのほうがパルス励起による損失も少なく観測感度も高い。従って¹³C用の“dual-probe”や多核プローブでは¹H観測用コイルが外側に巻いてある。一方、三重共鳴用のプローブでは、¹³C/¹⁵Nの磁荷を磁荷移動により¹Hに移して観測を行うので、¹H観測用コイルが内側に巻いてある。こうしたプローブのことをインバースプローブ、測定法のことをインバース測定とよぶ。

¹H観測用のコイルがしばしば²Hにダブルチューニングされていることが多いのは、実験中の装置の変動を検出して共鳴周波数を補正するために、²Hの信号を常に観測しながらそれを基準とする方式(溶媒ロック)が取られていることに由来する。従って、溶液NMR試料をサンプリングする際に、重水素化溶媒を用いたり、水系試料の場合には5～10%のD₂Oを溶媒に添加するのが一般的である。

更に最近のプローブでは、これらのRF照射用コイルの外側に、試料に磁場勾配をかけるためのグラジエントコイルが巻いてある。磁場勾配には、主磁場z軸方向のみに勾配を発生させるものと、更に実験室系でのx軸・y軸に勾配を発生させることのできるものがある。

NMRの観測感度を向上させる方法の一つとして、コイルの抵抗を小さくすることが考えられる。コイル線材を超伝導体になると同時にプローブの内側のコイルとプリアンプ部分を極低温に冷却することにより、プローブ感度を一桁程度向上させる技術が実用化された(cryogenic probe)。

3.4 分光器

NMR装置の分光器は、大きく分けて装置制御系、パルス系、磁場勾配系、観測系のユニット群により構成される。装置制御系は、分解能調整、ロック信号の検出、試料の回転制御、温度コントロールなどを行う。パルス系ユニットにはRFパルスを発生させるための発振器、周波数シンセサイザー、波形ジェネレータ、位相コントローラ、パワーアンプなどが、発生させる周波数帯域のチャンネルの数だけ必要である。重水素デカップリングを行う際には、4チャンネルのユニットが必要となる。それとは別に磁場勾配を制御するための発振器とパワーアンプが必要である。観測系にはレシーバ、信号増幅用のプリアンプ、周波数変換機、中間周波数増幅用のアンプ、最終周波数用のアンプとAD

コンバータが含まれる。

3.5 FID の観測およびデータ処理方法^{4,6)}

パルス FT-NMR 法において、NMR データはすべて AD コンバータを通じてデジタルデータとしてコンピュータに記録される。パルスにより誘起された xy 平面上の磁荷は、プローブコイルに電流を誘導し、Larmor 周波数 ω にスペクトルの情報 ($\Delta\omega$) を上積みした周波数で ($\omega + \Delta\omega$)、一定の時間 (通常 1 秒以内) で自由減衰する微弱な振動電流となる。この減衰していく信号のことを FID (Free Induction Decay) とよぶ。数百 MHz の周波数の信号は、一度数十 MHz 程度の間周波数の信号 ($\omega_{IF} + \Delta\omega$) に変換されて更に増幅され、最終的にスペクトル情報の周波数成分 ($\Delta\omega$) のみを取り出される。スペクトル情報の周波数帯域は核種にもよるが、せいぜい数十 KHz 程度、オーディオ信号程度の信号である。高感度に信号を検出する目的で、中間周波数をオーディオ波に変換する過程において位相敏感検波 (PSD; Phase Sensitive Detection) が行われる。これは、一般的な double-balanced mixer 回路に観測信号と、中間周波数の基準となる信号を入れ、両者の積に相当する信号をとりだし、中間周波数を中心とするバンドパスフィルターを通すことでノイズ成分をカットする方式であり、高い S/N で信号を検出する方式として一般的なものである。更に、位相を 90° だけずらせた基準信号についても同じことを行って取得したデータも取り込む。この二つのデータのことを FID データの実部 (real) と虚部 (imaginary) と呼び、線幅の狭い純吸収型のスペクトルを得るためには両方が必要である。最終的に中間周波数成分を取り除かれたスペクトルデータは更に増幅され、適当な時間間隔をあけてデジタルサンプリングされ、AD コンバータを介してデジタルデータに変換される。この FID データから横軸が周波数 (化学シフト)、縦軸が強度のスペクトルデータを得るために、高速 Fourier 変換 (Fast Fourier Transformation; FFT) が行われる (図 6)。

数値データ化された FID 信号から、更に解析がしやすく分解能が高いスペクトルを得るために、いくつかのデジタル信号解析技術が用いられている。まずサンプリング時にオーバーサンプリング (すなわち目的とする周波数帯域よりも遥かに幅広い帯域をカバーするような間隔でのデジタルサンプリング) を行って、デジタルフィルターによって目的帯域のみを切出すことが一般的に行われている。この方法により、単なる S/N の改善のみならず、不要な溶媒由来の信号の除去なども行えるようになってきた。

また、FID から適当なベースライン関数を差し引くことでも、溶媒由来信号を低減させることが可能である。さらに FID に適当なウィンドウ関数を掛けることで、FFT 後のスペクトルの線形を見かけ上変化させ、線幅をシャープにして解析を容易にすることができる。また FID データの時間軸の後ろの部分は信号が減衰しきっていてノイズ

図 6 FT-NMR のデータ処理の流れ。FID に window 関数を掛け合わせ、0 データを後半に補った後 Fourier 変換することでスペクトルが得られる。

成分のみが含まれていることも多い。その場合、その部分のデータをウィンドウ関数によって切捨てて、空の 0 データを付加する (zero filling) することで、FFT 後のスペクトルの S/N とデジタル分解能の両方を改善させることも可能である (図 6)。更に、後述する多次元 NMR における間接的な次元のデータについては、各 FID に含まれる信号が少ない場合には、線形予測法 (LP; Linear Prediction) によってデータを補うことで S/N とデジタル分解能を向上させることも可能になってきた。更に近年では、FFT 以外のアルゴリズムによってスペクトルを得

る方法も多く提案され、実用化されつつある。一例として最大エントロピー法 (MEM; **Maximum Entropy Method**) や最尤法 (MLM; **Maximum Likelihood Method**) をあげておく。

4. NMR から得られる情報⁶⁻⁹⁾

現在最も一般的な高分解能パルス FT-NMR の測定で得られる情報のうち、最もよく解析に用いられる主なパラメータは、①共鳴周波数 (化学シフト)、②カップリング、③緩和時間、④核オーバーハウザー効果などである。

4.1 化学シフト

核スピンの共鳴周波数は、核に働いている (核スピンの感じている) 磁場の強さに比例していることは既に述べた。実際の化学物質中の ^1H や ^{13}C などの原子核は、原子核をとりまく電子雲に覆われているが、その電子が軌道上で運動することにより生じる局所的な磁場が外部磁場を打ち消すように作用したり (遮蔽)、場合によっては強めたり (反遮蔽) するため、実際に原子核が感じている磁場と外部磁場との間にずれが生じる。そのためそれぞれの原子核の共鳴周波数は、核のおかれた化学的環境、たとえばその原子核がどのような化学結合をしているかを反映する。共鳴周波数と基準となる周波数とのずれを基準周波数で割った値を化学シフト δ と呼び、単位を ppm で表す (符号は基準周波数より共鳴周波数が低い場合を+にとる)。基準物質としては ^1H , ^{13}C ではテトラメチルシラン (TMS) のメチル基の信号を 0 ppm とするのが一般的である。このようにして定められた化学シフトの値は、測定する他の条件が同じであるならば、個々の化合物の原子団についてはほぼ一定の値を示し、その値は外部磁場の強度によらない。そのためそれぞれの原子核の化学シフトの情報に基づき、その共鳴線が化合物のどの原子団に属するのかを帰属 (assignment) することができ、化合物の化学構造の決定に用いることができる。なお、通常のスペクトルでは、CW-NMR の名残から、共鳴周波数が小さい側をグラフの右側に描き、「高磁場側」とよぶ。図7に1D-NMR スペクトルの一例を示した。

化合物の種類によって化学シフトの拡がり幅広い核種ほど、情報量が豊富であり、研究が盛んに行われている。最も汎用される ^1H では化学シフトはおおよそ-2~15 ppm までの拡がりを持つ。 ^{13}C では同様に-10~200 ppm 程度、 ^{15}N では0~500 ppm である。 ^1H は軌道電子を一つしか持たないため、それに直接結合した原子団の電子密度や電気陰性度の影響をもっともよく受ける。具体的には電子の豊富な一級炭素に結合している ^1H 、とりわけメチル基が最も高磁場側に観測され、飽和炭素においてはメチル→メチレン→メチンの順に低磁場へ移動する。また飽和炭素→不飽和炭素→芳香族炭素の順に低磁場へ移動する。酸素、窒素、硫黄、リンなどに結合した ^1H は、それぞれ結合した

図7 ^1H NMR の例 (ペプチド)。4.7 ppm 付近の大きな peak は溶媒 D_2O 中に混入している H_2O 由来の信号である。

原子の電気陰性度により、電子が少なければ少ないほど低磁場へ移動する。直近の炭素や窒素に置換基がある場合にも、その影響を受ける。 ^{13}C , ^{15}N の場合にはそれぞれの核が持つ電子の混成軌道の状態により $\text{sp}^3 \rightarrow \text{sp}^2 \rightarrow \text{sp}$ の順に低磁場側へと推移していき、更に結合核の歪みなどの影響も受ける。その他にも化学シフトに影響を及ぼす効果はいくつかある。そのうち最も効果が大きく劇的なものは、化合物または測定試料中に含まれる不対電子の影響であろう。不対電子、特に常磁性の遷移金属イオンが持つ不対電子は、常磁性シフトと呼ばれる化学シフトの大きな移動を生み出す。常磁性シフトには、①核磁気モーメントと結合を通じて不対電子が核の中心に電子密度を持つことにより核を直接遮蔽するコンタクトシフトと、②核スピンと電子スピンの双極子-双極子相互作用や核スピンと電子の軌道角運動量をもつ磁気モーメントの相互作用により、空間を通じて遮蔽する擬コンタクトシフトの二種類がある。

化合物の結合に含まれる非局在性の電子もまた、磁場と相互作用してその運動を変え、環電流を発生し外部磁場を打ち消すような局所磁場が生じる。そのため芳香環や長い共役結合に対し立体的に近い位置にある核スピンは、遮蔽を受けたり、位置によっては反遮蔽を受けて化学シフトが大きく変化する。この効果を環電流効果と呼ぶ。

また、化合物に含まれる原子の同位体の種類によっても化学シフトが変わることがあり、同位体シフトと呼ばれる。例えば重水素を含むメチル基の ^{13}C の化学シフトは $\text{CH}_3 > \text{CH}_2\text{D} > \text{CHD}_2 > \text{CD}_3$ と重水素が増えるごとに低磁場へシフトする。

4.2 結合定数とスピン結合 (スカラーカップリング)

孤立した核スピンが与える NMR 信号は1重線であるが、1~3 結合距離以内に別の核スピンが存在する場合、核間の磁氣的相互作用によって共鳴線が分裂する。これは、いま着目している核スピンの α , β の状態のエネルギー順位と、それに影響を与える核スピンの α , β の状態がそれぞれ相互作用することで新しいエネルギー順位が生

図8 スピン結合によるエネルギー順位の変化。スピンIとスピンSがスピン結合することで、それぞれのエネルギー順位が変化し、それに伴い占有率も変化する。

じるからである（図8）。この二つの核スピンの相互作用であるスピン結合（spin coupling）は前述の化学シフトとはことなり、主磁場 B_0 には依存しない一定の値であり、しかも化学的（磁氣的）非等価の核スピンの間でのみ観測される。その結果、スピンIの核とスピン結合した信号は $2I+1$ 本に分裂する。また磁氣的に等価な n 個のスピン $1/2$ の核とカップリングした信号は、 $n+1$ 本に分裂する。分裂した信号の間隔をカップリング定数（ J ）とよび、単位は Hz で表す。2 個の核スピンの相互作用する経路としては、

- 1) 核スピン→電子の軌道核運動量→核スピン
- 2) 核スピン→電子スピン→核スピン

の二つがある。スピン結合の相互作用が強ければ強いほど、エネルギー差が大きくなり、カップリング定数も大きくなる。また、 ^{13}C や ^{15}N と ^1H のカップリング定数の大きさは、結合に関与している原子の混成軌道の s 性に直線的に依存している。例えば sp^3 軌道をもつ ^{13}C と ^1H の単結合におけるカップリング定数 $^1J_{\text{HC}}$ は $100\sim 120$ Hz に対し、 sp^2 軌道におけるそれは $210\sim 250$ Hz である。 sp^2 軌道を持つ ^{15}N と ^1H の間の単結合を介したカップリング定数 $^1J_{\text{HN}}$ は $80\sim 100$ Hz であり、それぞれ比較的大きな値を持っている。複数の結合で隔てられるにつれカップリング定数は小さくなっていく。3 つの単結合で隔てられた核スピン間で観測されるカップリング定数はその単結合の二面角 ϕ と関係づけることができる。このことを最初に定式化した Karplus の名前をとって、二面角依存性を表す関係式

$$^3J_{\text{HH}'} = A + B \cos \phi + C \cos^2 \phi \quad (17)$$

のことを Karplus 式とよぶ。

スピン結合が見られる核スピンの間では、後述する化学相関スペクトルなどで見られるように、分極移動によってある核スピンの磁荷を結合相手の核スピンの磁荷に「移す」ことができる。カップリング定数が大きいのことは、エネルギー準位の差が大きく、従って平衡状態における占有率の差も大きいということにつながる。従って分極移動の効率もよい。

図9 交差緩和とNOE。スピンIが感じる磁場はスピンSが作る磁場の影響を受ける。

水素結合した核スピン間の非常に小さいカップリング定数（ $0.3\sim 5$ Hz）も、装置と測定法の進歩により観測可能となった。この観測により、水素結合が単なる静電的な相互作用ではなく、実際に電子の軌道の摂動を伴う「結合」であることが確定的となった。

4.3 緩和時間

パルスによって誘起された磁荷が熱平衡状態に戻るまでの時定数を緩和時間とよび、核スピン周囲の化学的環境や運動性などの情報を得るのに有用な指標となる。緩和現象の詳細については本誌の次号以降の「講座」欄で詳説する。

4.4 交差緩和とNOE

また近接した核スピンどうしは、そのスピン状態により互いの緩和時間に影響を及ぼす（図9）。この交差緩和現象のことを核オーバーハウザー効果（nuclear Overhauser effect: NOE）とよぶ。NOEの強度は理想的な条件下では核間の距離の6乗に反比例するため、NOEを正確に測定することで $5\text{ \AA}$ 以下の ^1H 間の距離情報を得ることができる。

5. 多重共鳴 NMR と多次元 NMR

パルス FT-NMR の原理の発明は、複数のスピン（同種核・異種核）を選択的に励起して、スピン間相互作用を検出するための新しい実験法への開発へとつながっていった。たとえば ^1H , ^{13}C , ^{15}N の三種類の核を順番に励起して磁荷移動を起こし相関を測定する3重共鳴（triple resonance）実験は、複雑な生体分子の解析に威力を発揮し、大きなインパクトをもたらした。

5.1 核スピンの量子力学的モデルと密度行列^[2,4,5,9,10]

多重共鳴 NMR の原理を理解するために、これまで説明してきた古典的モデルの背景に、核スピンを記述する波動関数の摂動現象があることを思い出してほしい。つまり、1 個のスピンや、化学結合している1組のスピン対にお

る核スピンの振る舞いを考察するときには、それぞれの核スピンの状態に対応する波動関数と、それに摂動を与えるハミルトニアンを用いて、状態の時間変化を解析することになる。状態の時間変化は、

$$d|\phi\rangle/dt = -iH/|\phi\rangle \quad (18)$$

で表すことができる。

一方 NMR 現象で観測の対象になる巨視的な磁荷を理論的に解析したい場合、例えばあるパルスの後の時間展開を計算するといった場合には、全体のスピンの平均的状态として密度行列 σ

$$\sigma = \sum_i p_i |\phi_i\rangle \langle \phi_i| = \overline{|\phi\rangle \langle \phi|} \quad (19)$$

(ただし $|\phi_i\rangle$ は出現確率 p_i の i 番目の状態の状態ベクトル) について取り扱っていくことになる。従って

$$\begin{aligned} \frac{d\sigma}{dt} &= \sum_i p_i (-iH) |\phi_i\rangle \langle \phi_i| + \sum_i p_i i |\phi_i\rangle \langle \phi_i| H \\ &= -i[H\sigma - \sigma H] \end{aligned} \quad (20)$$

核スピンはそのエネルギー順位差が小さく、他の現象と相互作用が起きて遷移が起きる確率が低い。そのためパルスをかけた後の核スピンも、その量子状態が比較的に一定に揃った状態に保たれやすい。この波動が揃っている状態のことをコヒーレンス (可干渉性) という。 $(\pi/2)_x$ パルスを与えて生じた y 磁荷 $-M_y$ は、 α/β 状態の分布は等しく (そのため z 方向に巨視的磁荷を生じない)、 y 軸方向にコヒーレントな核スピンの集団の持つ巨視的な磁荷である。

5.2 プロダクトオペレーター^{2,4,5,10)}

さて、いろいろな状態の密度行列に対して、いくつかの適当な直交する基底行列の組を定めれば、すべての状態がこれら基底行列の和として表現可能である。詳細は省くが、主に 2 スピン系での磁荷の時間展開とコヒーレンス移動を直感的に記述理解する目的で、直積演算子 (プロダクトオペレーター) の記法が発明された。1 スピン系においてスピン I を表現する密度行列の基底は、 I_x, I_y, I_z および $1/2E$ であり、 S についても同様 (S_x, S_y, S_z および $1/2E$) である。ところが更に 2 スピン系 (I, S) について密度行列について様々な状態の基底を求めてやると、例えばスピン I と S がそれぞれ x 軸上にあるときに生じる 2 量子コヒーレンスに対応する密度行列は、

$$\sigma(I_x, S_x) = \sigma(I_x) \times \sigma(S_x) \quad (21)$$

のように、各々の 1 スピン系の密度行列の直積 (product) で記述できる。そこでこれを単純に $I_x S_x$ と記述する。これらの密度行列の理論的取扱いは成書に譲るとして、注目すべきはこの記法を導入すると、スピンの状態に対応する直積演算子と、化学シフトによる時間展開や、パルス、ス

表 3 2 スピン系における基底となる直積演算子とその変化

ユニット演算子	$1/2E$
単一のスピン演算子	$I_x, I_y, I_z, S_x, S_y, S_z$
2 スピン演算子	$2I_x S_x, 2I_x S_y, 2I_x S_z$ $2I_y S_x, 2I_y S_y, 2I_y S_z$ $2I_z S_x, 2I_z S_y, 2I_z S_z$
パルスによる直積演算子の変化	$\Omega_{B1} t I_{x,y} \rightarrow I_z \cos \Omega_{B1} t \pm I_{y,x} \sin \Omega_{B1} t$ $\Omega_{B1} t I_x \rightarrow I_x \quad \Omega_{B1} t I_y \rightarrow I_y$ $\Omega_{B1} t I_y \rightarrow I_x \cos \Omega_{B1} t - I_z \sin \Omega_{B1} t$ $\Omega_{B1} t I_x \rightarrow I_y \cos \Omega_{B1} t + I_z \sin \Omega_{B1} t$
化学シフト	$\Omega_{B0} t I_z \rightarrow I_z$ $\Omega_{B0} t I_{x,y} \rightarrow I_{x,y} \cos \Omega_{B0} t \pm I_{y,x} \sin \Omega_{B0} t$
スピン結合	$\pi J_{IS} t I_z S_z \rightarrow I_z, S_z \rightarrow S_z$ $\pi J_{IS} t I_x S_z \rightarrow 2I_x S_x, 2I_z S_z \rightarrow 2I_z S_z$ $\pi J_{IS} t I_y S_z \rightarrow I_{x,y} \cos \pi J_{IS} t \pm 2I_{y,x} S_z \sin \pi J_{IS} t$ $\pi J_{IS} t I_z S_z \rightarrow 2I_{x,y} S_z \cos \pi J_{IS} t \pm I_{y,x} \sin \pi J_{IS} t$

ピン結合を表すハミルトニアンに対応する直積演算子が、数学的に同じ形式で書き下せることである。たとえば $(p/2)_x$ に対応するハミルトニアンは、

$$H = \frac{\pi}{2} I_x \quad (22)$$

であり、スピン I とスピン S の間のスピン結合のハミルトニアンは、結合定数を J_{IS} として

$$H_{IS} = \pi J_{IS} t I_z S_z \quad (23)$$

と記述できる。表 3 に 2 スピン系の全ての基底行列と、主要なハミルトニアンによるそれらの展開についての表をまとめておく。直積演算子の取扱いに慣れると、複雑なパルス・シーケンスにおいて各時点で生じているコヒーレンスやその移動が追跡できる。

5.3 磁荷移動とコヒーレンス

いま核スピン I と S がスピン結合により相互作用しているとすると、それぞれの波動関数 $|I\rangle$ 及び $|S\rangle$ は外部磁場やパルスによるハミルトニアンの他に、スピン-スピン相互作用由来のハミルトニアンの影響を受ける。スピン I にパルスを与えてコヒーレントな状態を作り出したとすると、ハミルトニアン H_{IS} を通じてその状態はスピン S の状態にも影響を与える。二つ核のスピン相互作用のハミルトニアンを解析して、適切なパルスを組合わせて与えてや

図10 分極移動の古典的モデルによる説明の例 (INEPT).

ることで、スピン I のコヒーレンスをスピン S のコヒーレンスに反映させることが可能である。このことをコヒーレンス移動 (coherence transfer) と呼ぶ。巨視的な磁荷に着目して NMR におけるシグナル観測の現象論として捉えると、あたかもスピン I の磁荷がスピン S に移ったように見えるので、磁荷移動 (magnetization transfer) や分極移動 (polarization transfer) と呼ぶこともある (図10)。

5.4 NMR のパルス・シーケンス

前述のような、スピン結合を介した二つの核スピンの間で、磁荷 (またはコヒーレンス) 移動や、NOE のように空間を介した交差緩和現象を用いて、二つの核スピンの信号強度に変調を加えることが可能である。これを実現するためには、適切なタイミングで適切なフリップ角を持つパルスを各核種に順番に系統的に与えていく操作が必要である。このパルスを与えるタイミングをすべて記述したもの (または概念図) がパルス・シーケンスである。パルス・シーケンスには、各 RF パルスのフリップ角、それを照射するチャンネル、パルスの位相、パルスとパルスの間隔 (delay) が記述されている。さらに磁場勾配パルスの相対強度、レシーバーで信号を観測する際の位相情報なども重要な情報である。特別な場合を除いて、パルス・シーケンスに現れる殆どのパルスは π パルスと $\pi/2$ パルスであり、図中ではそれぞれ細い矩形と太い矩形で示される。また、分極移動を行わせるためのパルス間の delay は、その分極移動のカップリング定数 J の整数倍の逆数 (例えば $1/2J$ または $1/4J$) を用いられていることが圧倒的に多い。図11に感度の悪い核スピン (例えば ^{13}C) の磁荷を感度よく観測するためのパルス・シーケンス INEPT の例を示す。

実際に測定を行う際には、これらのパルス・シーケンスの各パルスならびに delay に適当な値を設定してやらなければならない。こうしたパラメータは、測定対象の試料や

図11 INEPT のパルス・シーケンス。図10に示したパルスに、更に磁化をリフォーカスさせるためのパルス・ブロックが付加されている。

溶媒条件、個々の装置によって異なるので、それらは実験ごとに設定しなければならない。

5.5 分極移動の例 (INEPT)

再び前述の直接結合している ^1H と ^{13}C のスピン結合を通じた分極移動の例を説明する。図10及び図11のパルス・シーケンスは、いずれもおおよそ4倍の感度向上につながるので INEPT (Insensitive Nuclei Enhancement Polarization Transfer) と呼ばれる。図10のパルスでは観測される磁荷は反位相なので、それをリフォーカスさせたものが図11である。

図11の①～⑥の各時点での密度行列 $\sigma_1 \sim \sigma_6$ (ただし時点⑥では scan ごとに pulse の位相を $y/-y$ と変化したときの差をとることとして σ_6' について) を直積演算子を用いて計算すると、

$$\sigma_1 = I_z \quad (24)$$

$$\sigma_2 = -I_y \quad (25)$$

$$\sigma_3 = -I_y \cos \pi J t + 2I_x S_z \sin \pi J t \quad (26)$$

$$\sigma_4 = -I_y \cos \pi J t + 2I_z S_x \sin \pi J t \quad (27)$$

$$\sigma_5 = -I_y \cos \pi J t \pm 2I_z S_y \sin \pi J t \quad (28)$$

$$\sigma_6' = 2S_x \sin \pi J t \sin \pi J \Delta \quad (29)$$

(CH グループについて)

$$\sigma_6' = 2S_x \quad (30)$$

(ただし $t = \Delta = 1/(2J)$ の時)。

ここで得られた S_x は I_z 由来の分極の占有率の差から派生しているので、結果として磁気回転比が小さく、占有率の差が小さいため感度が悪い ^{13}C 核に対して、占有率の差の大きい ^1H の分極が移動することで、 ^{13}C 核由来の S_z をそのまま観測する時に比べて $\gamma_{\text{H}}/\gamma_{\text{C}}$ だけ大きい。更に、INEPT は設定した delay (Δ) の長さで ^{13}C に直接結合している ^1H の数によって、その ^{13}C のシグナル強度が異なる。これを利用して、有機化合物の構造決定に用いられる。また、異種核間での磁荷 (1 量子コヒーレンス) を別の核に移動するためのパルスユニットとして、3D-NMR

実験のパルス・シーケンス内に多く用いられている。

5.6 2次元 NMR の原理¹¹⁾

前述の INEPT などの方法を用いれば、スピン結合または双極子による相互作用があるスピン I と S について、複数の適当なパルスを組合わせて、スピン I の磁荷の分極の変化をもう一つのスピン S の磁荷の分極に移動することができる。そこで、スピン I に与えるパルスを系統的に変化させることで、スピン I の励起状態をスピン I の共鳴周波数を反映するようにしておき（周波数でラベルしておく）、スピン S の NMR 信号に対してスピン I の周波数に応じた強度または位相の変調を加えることが可能である。こうして得たスペクトルを相関スペクトルとよぶ。このことを利用してある原子と別の原子の間の相関を調べるのが 2 次元（3 次元・4 次元）NMR である。実際に FID を観測する核（この場合はスピン S ）のことを直接次元、間接的に周波数の変調をかける次元（スピン I ）を間接次元とよぶことがある。多次元 NMR のほとんどのパルス・シーケンスは、特定のスピン結合や NOE などを通じたコヒーレンス移動の観測を目的とした 1 次元 NMR のパルス・シーケンスの一部を、「展開期」と呼ばれるスピン I に周波数ラベルを与えるパルスのユニットに置換えたものであると考えると理解しやすい。最も簡単なパルス・シーケンスの例として、多核のスピンエコー実験のパルスと、それを 2 次元に展開したものに相当する HMQC (Heteronuclear Multiquantum Coherence spectroscopy) のパルスの比較を掲げておく (図 12)。直感的に、 ^{13}C 核に対する π パルスを展開時間 t_1 (実験中に可変な delay) を間に挟んだ 2 つの $\pi/2$ パルスに置換えたことで、特定の ^{13}C 核が周波数により標識されることが見て取れると思う。このようにして整理すると、複雑なパルス・シーケンスは全て準備期—展開期—混合期—検出期の 4 つの部分からなっており、しかも準備期や混合期の大部分は磁荷移動の効率を最適化するための delay であったり、delay 中に展開してしまった化学シフトを π パルスを与えることでリフォーカスするためのものであることが多い。図 12 を参考に 2D-NMR のパルスプログラムの成り立ちを見ると、

1. 準備期：相関を測定したい第 1 の核を励起するための準備を行い、不要な磁荷を消去したりする時期
2. 展開期：第 1 の核が励起された状態で、実験ごとになる可変の delay (t_1) を含み、この間に第 1 の核の共鳴周波数で標識が行われる。
3. 混合期：第 1 の核と相互作用のある第 2 の核へエネルギーを移動させる期間で、ほとんどの測定は以下の 3 タイプで分類可能である。すなわち、交差緩和 (NOESY, ROESY), 交差分極移動 (cross polarization: CP または Hartmann-Hahn 遷移), 分極移動 (INEPT, DEPT, TROSY または CRINEPT) である。
4. 検出期：第 2 の核（直接観測核）からの FID を測

図 12 スピンエコーと HMQC のパルス・シーケンス。スピン結合しているスピン I とスピン S の間のスピンエコーを観測するパルス（上図）をわずかに改変するだけで、スピン I とスピン S の化学シフト相関を測定する HMQC のパルス・シーケンスができる（下図）。

定する期間であり、1D-NMR と同じように観測し、 t_1 を変化させるごとに別々の記憶領域にデータを蓄える。

の 4 つに別れている。

展開期に含まれる可変の delay の長さを変えていくと、第 1 の核に照射された $\pi/2$ パルスによって生じた横磁荷は一定時間後に再び $\pi/2$ パルスが与えられるため、その周波数によりあるときには完全に励起され、またある時は全く励起されないといった具合に、その磁荷の位相または磁荷の Z 成分に変調をうける。そうして変調を受けた磁荷が展開期を通じて観測核（第 2 の核）に移動された後、今度はその観測核の FID の強度（または位相）に第 1 の核の変調が乗っている状態のデータが取得可能である (図 13)。つまり直接観測核の FID をまず Fourier 変換した後のデータを t_1 の時系列に沿って並べてみると、 t_1 軸に対して第 2 の核のシグナル強度（または位相）が第 1 の核の周波数で振動していることがわかる。このデータを t_1 軸に沿ったデータとして並べなおして更に Fourier 変換することで、相互作用しているもう一つの核の共鳴周波数を得ることができる。具体的には 2 次元 Fourier 変換をした後に、両方の核の周波数（＝化学シフト）に対応する交点に交差ピークが現れる。以上のように、個々の信号の化学シフトや微細構造、スピン結合などの「一次元」の情報に加えて、2 次元化学シフト相関スペクトルから得られる情報は、その信号の帰属の正確さを増すとともに化合物の構造決定に役立つ。

図13 2次元 NMR の原理

5.7 3次元・4次元 NMR

前述の2次元 NMR におけるパルスプログラムにおいては可変時間は t_1 の一種類だけであった。しかし、三重共鳴実験、例えばタンパク質解析に汎用される HNCA 測定のパルスプログラムのように、 ^{13}C の化学シフトをまず展開し、それを ^{15}N に分極移動して化学シフトを展開し、最後に ^1H で観測するといったように、パルスプログラム中にいくつでも可変時間を設定することができる。これが3D-NMRである。このようにして得られた ^1H 核のシグナルは、最終的に観測される ^1H 核のほか、それとスピン相互作用している ^{15}N と、それに更に相互作用している ^{13}C それぞれの周波数により強度（または位相）変調を受けているため、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ それぞれの軸で Fourier 変換してやることで、 $^1\text{H}-^{15}\text{N}-^{13}\text{C}_\alpha$ の結合に対応する原子団に対してそれぞれの化学シフトに対応する場所に交差ピークを与える。準備期間に N 個の可変展開時間を設定することで、任意の N 次元 NMR の実験をデザインすることが可能であるが、磁荷移動の効率の問題と、次元が増えるとデータポイントが増えて測定時間が延びるため、5次元以上の測定はあまり一般的ではない。

6. 終わりに～今後の展望

最後に、この次の10年間に NMR がどのような発展を見せることとなるのか、筆者の私見を述べつつ本稿の結びとしたい。

まず NMR 装置の発展の方向性については、生体分子の解析などの複雑なアプリケーションに対応すべく、高分解能化・高感度化を目指す技術開発の流れは、今後も続くであろう。超伝導技術の開発が進み、1.1~1.5 GHz 級のマグネットやスプリットペア型マグネットが数年後には実用

化するのではないかと。その一方で、高分解能の溶液 NMR 装置の主磁場強度が (^1H 換算で) 100 MHz 上がるごとに装置価格がおよそ倍になる、という現状を考えると、むしろ700~900 MHz 装置のコストダウンが進むことも併せて期待したい。また、cryogenic probe 設計技術の進歩も感度向上に寄与すると思われる。その他の感度上昇の手段として、最近開発された溶液中での ^{13}C 核に対する DNP (dynamic nuclear polarization; 電子スピンの分極を核スピンの分極に移行して励起する手法) による著しい感度向上技術の発展が期待される。また、NMR そのものの利用法としては、分析化学の一方法としてのみならず、量子コンピュータの演算装置・読みだし装置としての応用にも注目したい。例えば半導体デバイスを利用した新しい NMR 測定装置も期待の技術である¹²⁾。

今回、筆者は、限られた紙面で NMR の概要について中途半端な説明を試みたために、却って読者の混乱を招いてしまったことをお詫び申し上げる。本稿が、次号より連載される NMR のそれぞれの話題や、今なお発展し続ける最新の磁気共鳴技術の理解の助けになれば幸いである。

参考文献

- 1) 阿久津秀雄, 嶋田一夫, 鈴木榮一郎, 西村善文: NMR 分光法・原理から応用まで (日本分光学会測定シリーズ41) (学会出版センター, 東京, 2003)。
- 2) 荒田洋治: NMR の書 (丸善, 東京, 2000)。
- 3) 北丸竜三: 核磁気共鳴の基礎と原理 (共立出版, 東京, 1987)。
- 4) R. Freeman 著, 坂口 潮・嶋田一夫・荒田洋治訳: NMR ハンドブック (共立出版, 東京, 1992)。
- 5) J. Keeler: *Understanding NMR Spectroscopy* (Wiley-VCH, Weinheim, 2005)。
- 6) 荒田洋治: タンパク質の NMR・構造データの解釈と評価 (共立出版, 東京, 1996)。
- 7) R. M. Silverstein, F. X. Webster 著, 荒木 峻, 山本 修, 益子洋一郎, 鎌田利紘訳: 有機化合物のスペクトルによる同定法—MS, IR, NMR の併用 (東京化学同人, 東京, 1999)。
- 8) D. W. Timothy 著, 竹内敬人, 西川実希訳: 有機化学のための高分解能 NMR テクニック (KS 化学専門書) (講談社, 東京, 2004)。
- 9) H. Kessler, M. Gehrke, and C. Griesinger: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **27**, 490 (1988)。
- 10) 黒田義弘: NMR 実験法・基礎と応用—化学と生物実験ライン16 (廣川書店, 東京, 1992)。
- 11) R. R. Ernst, G. Bodenhausen, A. Wokaun 著, 永山国昭, 藤原敏道, 内藤 晶, 赤坂一之訳: エルンスト2次元 NMR・原理と測定法 [POD版], (吉岡書店, 東京, 2000)。
- 12) G. Yusa, K. Muraki, K. Takashina, K. Hashimoto, and Y. Hirayama: *Nature* **434**, 1001 (2005)。

PROFILE

廣明秀一 横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 準教授，薬学博士

〔略歴〕 1987年大阪大学薬学部製薬化学科卒業，1992年大阪大学大学院薬学研究科薬品化学専攻博士課程修了，同年日本ロシュ株式会社研究員，1994年 F Hoffmann-La Roche 研究所（スイス・バーゼル）勤務，1995年日本ロシュ株式会社研究所医薬品化学部勤務，1996年株式会社生物分

子工学研究所主任研究員，2001年横浜市立大学大学院総合理学研究科助教授，2005年改組により国際総合科学研究科準教授（現職）。〔専門〕 溶液 NMR を用いた生体分子，特にタンパク質の研究（構造生物学と方法論開発）