

doi: 10.7690/bgzdh.2013.04.024

# 核磁共振技术在生命科学领域的应用

戴曰梅

(山东信息职业技术学院, 山东 潍坊 261061)

**摘要:** 为进一步推动核磁共振技术(nuclear magnetic resonance, NMR)在更多领域与更多学科中的应用, 对其在生命科学领域的应用进行研究。介绍核磁共振的原理, 分别详细综述核磁共振技术在生物学、药理学和医学诊断等方面的应用, 为相关研究应用提供参考借鉴。

**关键词:** 原子核; 核磁共振; 蛋白质; 生物膜; 代谢组学; 药物发现; 药物分析; 医学诊断

**中图分类号:** TP391 **文献标志码:** A

## Applications of NMR in Life Sciences

Dai Yuemei

(Shandong College of Information Technology, Weifang 261061, China)

**Abstract:** Aimed at the further applications of nuclear magnetic resonance (NMR) technology in more fields and disciplines, the NMR's applications in life sciences were researched. This paper introduced the principles of NMR, describe the applications of NMR in biology, pharmacology and medical diagnosis in detail. All the above would provide references in the related researches and applications.

**Key words:** nuclei; NMR; protein; bio-membrane; metabonomics; drug development; drug analysis; medical diagnosis

### 0 引言

核磁共振技术(nuclear magnetic resonance, NMR)是一种利用外加恒定磁场, 激发磁矩不为零的原子核, 使其发生能量跃迁的技术手段。最早的研究始于20世纪二三十年代的分子束实验, 之后核磁共振实验技术一直处于基础实验阶段。直至二战结束, 美国斯坦福大学的布洛赫(Felix Bloch)和哈佛大学的普舍尔(Edward Mills Purcell)几乎同时分别用不同的新方法, 在核磁属性的精确测定方面取得了里程碑式的进展, 二人也因此共同获得了1952年的诺贝尔物理奖<sup>[1]</sup>。而在这一年, 瓦里安公司也成功地研制出了世界上第1台商用核磁共振谱仪, 并将其首先应用到了石油化工领域。之后, 随着对弛豫现象的解释和超导, 计算机、傅里叶变换技术的应用以及生物大分子的核磁测量技术等一系列理论和技术手段的突破, 核磁共振技术越来越多的应用于其他多领域和多学科<sup>[2-5]</sup>, 尤其是生命科学领域; 因此, 笔者对其在生命科学领域的应用进行研究, 文中的生命科学是一个广义范畴, 涉及生物学、药学以及临床医学等多学科。

### 1 核磁共振的原理

核磁共振是磁共振的一种, 磁共振是指在稳恒磁场作用下, 磁矩不为零的原子或原子核对电磁辐射能的共振吸收现象。如果此共振由原子核磁矩引

起, 则为核磁共振(NMR); 如果由电子自旋磁矩引起, 则为电子自旋共振(electron spin resonance, ESR), 也称顺磁共振(electron paramagnetic resonance, EPR)。另外还有一种比较特殊的磁共振现象, 即铁磁共振(ferromagnetic resonance, FMR), 这是由磁铁物质中的磁畴磁矩引起的。

原子核磁矩最早由泡利(Pauli)提出, 他认为原子核具有磁矩, 且核磁矩与其本身的自旋运动相关。核磁矩( $\mu$ )一般用来表示原子核的磁性大小, 计算公式为 $\mu = \nu h I$ ,  $h$ 为普朗克常数,  $I$ 为自旋, 即自旋量子数的简称,  $I$ 具有方向性, 因此 $\mu$ 也具有方向性。 $\nu$ 为旋磁比, 实际上是原子核磁性大小的度量,  $\nu$ 值越大, 原子核磁性越强,  $\nu$ 值越小, 原子核磁性越弱。在天然同位素中, 氢核(质子)的 $\nu$ 值最大, 可达42.6 MHz/T, 因此质子的 $\mu$ 值最大, 其核磁检测灵敏度也相应地达到最高, 而这也是质子成为核磁共振研究的首选对象的原因之一。

将磁矩不为零的原子核置于磁场中, 核磁矩将绕磁场做拉莫尔运动, 若在垂直于外磁场的方向上再加上一个交变磁场, 当外加交变磁场的频率与原子核的拉莫尔频率相等时, 处于低能态的原子核便能吸收射频能, 从而从低能态跃迁到高能态, 即发生所谓的核磁共振现象。没有自旋的原子核( $I=0$ , 如 $^{14}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{32}\text{S}$ 等)磁矩为零, 不能在外加交变磁场的作用下产生能态跃迁, 因此也观察不到核磁共

收稿日期: 2012-10-25; 修回日期: 2012-11-17

作者简介: 戴曰梅(1973—), 女, 山东人, 硕士, 讲师, 从事应用电子技术、计算机应用技术研究。

振信号。而在核磁共振中研究最多的是  $I=1/2$  的原子核,如  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$  等。

虽然具有核磁矩的原子核在外加磁场的作用下能产生能量跃迁,但是在大量的同类原子核的集合中,当处于高能级和低能级上的核数目一致时,由于上下能级上的核跃迁几率相等,吸收能等于辐射能,观察不到任何核磁共振现象,因此必须使得低能级上的核数目多于高能级上的核数目,从而使得吸收能大于辐射能,这样才能获得核磁共振信号。

## 2 核磁共振技术在生物学上的应用

### 2.1 蛋白质动力学

蛋白质是生物体必不可少的组成成分,几乎与生物体的所有生命运动相关<sup>[6-8]</sup>。蛋白质具有可变性,其构象可随所处环境温度以及周围小分子的变化而发生变化,这些变化在很大程度上影响着与之相关的生物功能的实现,因此确定蛋白的动力学性质是解析蛋白结构相关功能的基础和前提<sup>[9]</sup>。目前用于研究蛋白动力学的技术越来越多,常见的有 X-射线晶体衍射、核磁共振技术和质谱等,而核磁共振技术由于其不破坏蛋白结构并且是在接近生理条件的环境中进行研究,因此近几年来逐渐成为研究蛋白动力学的主要技术手段<sup>[10]</sup>。

#### 2.1.1 实时核磁共振技术

实时核磁共振技术(real-time NMR, RT-NMR)是一种简单有效的方法,是通过启动相关物理进程并快速有效地捕捉一系列核磁信号,来确定目标蛋白的动态过程。

M. Zeeb 等通过实时核磁共振技术,捕捉到了蛋白折叠、功能区的移位以及相关结构如脯氨酸二聚体顺反式结构的缓慢变化等信息,从而直接客观地解释了催化反应的速率问题<sup>[11]</sup>。

C.B. Arrington 等将部分氢原子替换为氘原子,并通过监测蛋白和溶剂之间的氢(氘)交换,以研究目标蛋白的动力学行为<sup>[12]</sup>。在氢-氘核磁共振中,氢信号可见,氘信号不可见,因此当含有氢原子的蛋白暴露于含有氘原子的溶液中时,蛋白与溶液之间的氢转换就可以通过氢信号的变化而推定。

#### 2.1.2 交换光谱

交换光谱(exchange spectroscopy, EXSY)从 20 世纪七八十年代开始被应用于 10~5 000 ms 时间窗内的蛋白动力学研究,是一种通过比对原始信号和后期信号的不同从而确定某隐含的动力学变化的核磁共振技术,此法还可同时从数据上界定以上变化。

D. Sohu 等通过交换光谱技术研究蛋白-配体间的相互作用,确定了不同 DNA 分子上特殊靶点的分子间蛋白转运,并且计算出了相关运动势能<sup>[13]</sup>。

交换光谱技术还被广泛的用来研究二级结构的拓扑学转换,如 Y. Nikolaev 等利用核磁旋转状态的交换光谱揭示了亮氨酸拉链 gcn4 的 2 种不同结构在溶液中的动态平衡,为进一步研究亮氨酸拉链在生物体活动中的功能提供了数据支持。

#### 2.1.3 CPMG 弛豫色散

CPMG 弛豫色散(carr-purcell meiboom-gill relaxation dispersion, CPMG RD)是一种获得 0.3~10 ms 时间窗内变换过程的动力学、热力学和结构信息的高效手段,最早报道于 20 世纪 50 年代,而直到 30 年前才被广泛地应用于蛋白动力学研究,而这些也依赖于核磁硬件设备的改良、实验设计以及同位素标记的突破性进展。此时间窗内的蛋白动力学变化包括侧链重排、loop 环移动、次生结构改变和铰链功能区移位等<sup>[14]</sup>。而这些变化均有可能影响配体的结合和解离、折叠与打开、变构及催化效率等生物行为<sup>[15]</sup>。

D.D. Boehr 等通过 CPMG RD 实验证明了四氢叶酸还原酶催化循环中的动态“记忆”,二氢叶酸催还循环包括 5 种基底结构,催化二氢叶酸至四氢叶酸的转化,而他们均可以通过 CPMG RD 实验中获得的不同催化状态下的动力学参数  $\Delta\omega$  值以及结构化学位移  $\Delta\delta$  值的变化及计算而加以确认<sup>[16]</sup>。

#### 2.1.4 核自旋弛豫

核自旋弛豫(nuclear spin relaxation, NSR)可通过点特异性的 R1、R2 异核 NOE 效应来推定皮秒至纳秒时间窗内的蛋白动力学模型。此时间窗内的物理学进程包括结合振动、侧链消旋体的内部转化、自由螺旋及骨架的旋转等<sup>[17]</sup>。

S. Tzeng 等在研究 cAMP 位点时,通过核自旋弛豫和自由模型分析技术证明了 DNA 结合能够降低受体结合的 WTCAP 的皮秒至纳秒级的柔韧性,增加受体结合的 S62FCAP 的柔韧性,并且提供了一种高分辨率的 cAMP 和 DNA 结合位点间动力学线性相关的机制。cAMP 位点包括 60~85 之间的约半数残基,而 DNA 位点包括 165~200 间的约半数残基<sup>[18]</sup>。

用于蛋白动力学研究的核磁技术还有残留偶极耦合(residual dipolar coupling)、线性分析(lineshape analysis)等。大量有效的以核磁技术为基础的实验方法被用来确定蛋白的动力行为,以研究其与蛋白

的生物学活性之间的关系,为进一步调控、改造蛋白的生物学活性奠定基础。

## 2.2 生物膜动力学

随着大量实验技术的出现及完善,着眼于生物膜中大量的原子核“探针”,核磁共振技术已经成为研究膜结构和膜动力学的重要手段。众所周知,双层膜结构模型成功地解释了膜的结构和功能,但是双层膜结构的模拟验证却遇到了很大的困难,而核磁技术的纯熟应用,为这一难题的解决提供了一种行之有效的方法。

### 2.2.1 顺磁共振技术

膜组装过程中,以 NO 自旋标记来标定分子的旋转,而 EPR 光谱技术可以非常灵敏地捕捉这种分子运动及时间范围<sup>[19]</sup>。

以卡迪尔坐标系统  $x, y, z$  来定义 NO 标记的 N-O 的方向, $x$  轴为 NO 键的延伸, $z$  轴代表 NO  $2p\pi$  轨道的延伸, $y$  轴则为  $xz$  平面的垂直方向。对于脂肪酸的 NO 自旋标记,NO 的  $2p\pi$  轨道会与反式构型的长链分子轴平行,如果分子变动增强,烃链的柔韧性会逐步减少此方向效应,以 S 来描述其平均变动幅度和双层模型的典型方向。N.A. Nusair 等人通过此方法测定了一种组成磷脂双层膜结构的十八烷酸的参数,并推定出其结构和可能的动力学特征<sup>[20]</sup>。

### 2.2.2 固相核磁技术

固相核磁技术(solid-state NMR)采用位点导向的  $^2\text{H}$ -标记,直接研究膜蛋白和脂质双层膜的结构。B. Mertz 等应用此技术研究了 G 蛋白结合受体(GPCRs)视紫红质的结构,并通过获得的光谱信息,准确推测了视紫红质变化过程中视网膜配体的局部动力学过程<sup>[21]</sup>。结合分子机制模拟探针脂质膜时,可以推出一种新的视紫红质变化模式,当视紫红质受光冲击时,能产生多种活性物质,这些活性物质通过组装成某种构型集体发挥活性作用。

生物膜通常通过与膜蛋白相互作用产生其动力学变化,并行使相应的功能,因此生物膜的动力学与膜蛋白的动力学还存在一定关系。

## 2.3 生物代谢组学

代谢组学是通过考察生物体系受刺激或扰动后,其代谢产物的变化或其随时间的变化,来研究生物体系的代谢途径的一种技术,这种刺激或扰动可以是特定的基因变化,也可以是环境变化。由于其特有的代谢时效性研究,代谢组学已经成为一种病理研究的重要手段。常用技术有核磁共振技术、质谱技术、高效液相技术以及各种连用技术等,而

核磁技术也因其高效便捷、无破坏而成为代谢组学最普遍的研究手段<sup>[22]</sup>。

代谢组学研究包括组织或生物流体中小分子的提取和测定,这些小分子往往产生特定的代谢模式,比较不同表型中的这些模式,可确定特殊的代谢变化。此方法已经被广泛用于疾病诊断、毒理学研究、植物科学、营养<sup>[23]</sup>以及代谢产物的分析评估。H.F. Wu 等通过对代谢产物的核磁共振技术及质谱技术的应用,建立了一种高通量的组织提取方法,并高效地获得了目标产物,用于后期的代谢研究<sup>[24]</sup>。

## 3 核磁共振技术在药物学上的应用

### 3.1 核磁共振技术在药物发现中的应用

现代工业化药物研究中,核磁共振技术已经成为一种公认的有效手段。而这种认知基于 2 方面:一是核磁共振技术是一种有效的、广泛的、快速扫描式的技术有段,可以相当灵敏地检测分子间作用力;二是基于其原子级别的高分辨力,可以用来进行结构导向的药物设计<sup>[25]</sup>。

利用核磁共振技术所建立的生物活性物质的筛选可分为:基于配体的筛选和基于药靶的筛选<sup>[26]</sup>。基于配体的筛选方法主要有分子扩散、弛豫及分子间转移 NOE、分子内转移等,基于药靶的筛选主要是通过分子间结合前后化学位移的变化来实现的。

#### 3.1.1 分子扩散

通过降低的扩散系数来探测瞬间结合的配体是主要的技术手段。2D DOSY 可基于分子的不同扩散系数将消旋混合体有效分离。另外,1D 扩散滤除可以和 2D 相关实验结合,如扩散控制的梯度相关波谱(COSY)和扩散编码的总相关波谱(TOCSY),确定旋转体系和加快混合体分析<sup>[27]</sup>。在组合化学中,扩散滤除还被应用于固相磁旋核磁共振技术,以确定和区分大孔树脂结合分子与杂质<sup>[28]</sup>。

#### 3.1.2 弛豫

筛选基于结合诱导分子运动减缓,从而导致核磁共振弛豫时间降低的理论,与以扩散为基础扫描相似。横向弛豫时间(T)和自扩散系数(D)与分子大小相关,当小分子结合到大分子上之后,T 值减小,谱线变宽,而且谱线变宽的程度与其结合强度线性相关。对小分子和蛋白质结合前后的谱图进行比对,差谱即是结合到蛋白质上的小分子的核磁信号<sup>[29]</sup>。

#### 3.1.3 分子内磁化转移

分子内磁化转移如转移 NOE 实验可以快速扫描配体复合物,建立“生物类缘 NMR”的基础<sup>[30]</sup>。当小分子配体和大分子受体结合并处于快速交换状

态时,转移 NOE 可以检测到已结合的小分子的构象。当配体和受体结合之后,其 NOE 信号发生变化,因此将小分子与蛋白质大分子混合孵育,检测其 NOE 信号。结合的小分子的 NOE 交叉峰与对角峰同向,自由小分子则相反,通过此信号即可将结合的和未结合的小分子分离开,从小分子混合物中确定活性化合物。

#### 3.1.4 分子间磁化转移

分子间磁化转移永远存在且不能被终止,鉴于该种性质,首先要建立一种不平衡的磁化强度,如仅对应于一种成分,这种成分通常为药物靶标。在混合过程中,转移至其结合的相关分子,分子间磁化转移可以同时改变配体和受体的信号强度,从而可以检测起始分子或者获得分子(通常为配体)。

#### 3.1.5 化学位移变化

大多数基于药靶扫描的方法都依赖于化学位移的变化,此变化相当于分子间结合的指示器。通过归属,这些变化可以映射蛋白的结构,推测其结合位点,从而知道基于结构的配体优化<sup>[31]</sup>。利用化学位移变化来进行药物筛选的最著名的实验方法就是核磁共振技术下的构效相关,即 SAR-by-NMR。SAR-by-NMR 利用 <sup>15</sup>N 标记蛋白,通过 <sup>15</sup>N-<sup>1</sup>H 相关(HSQC)来实现。小分子和蛋白结合后,蛋白质结合位点的化学环境会随之发生变化,其 <sup>15</sup>N、<sup>1</sup>H 的化学位移也会相应地发生变化,通过这些变化来推测蛋白质和小分子的结合。

### 3.2 核磁共振技术在药物分析中的应用

随着核磁技术的发展,其在药物检验分析中的应用已经趋于成熟。核磁共振技术在药物分析中的应用,可以分为对天然药物和体内药物分析的应用,前者在技术手段上与药物发现中的活性化合物筛选相似,这里着重介绍后者即在体内药物分析的应用。

体内药物分析包括生物体内药物及其代谢产物的分析,核磁共振技术能较好地解决体内样品浓度低、难取样以及内源性干扰和无法重复的限制,已达到精确分析体内药物的目的<sup>[32]</sup>。核磁共振技术能检测到含磁矩不为零的原子如 <sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P, <sup>13</sup>C, <sup>9</sup>F 等的物质的药代动力学变化,如脂肪、氨基酸、磷脂等生物物质及注射药物等。核磁共振技术可以无损地检测生物体活体内的药物,为药代动力学提供了一种动态研究的方法。

## 4 核磁共振技术在医学诊断中的应用

### 4.1 核磁共振技术在肿瘤确诊中的应用

肿瘤的发生通常伴随着某些特定蛋白的表达或

者过表达,现代临床医学诊断中,已经将部分蛋白作为确诊肿瘤的标志物,如卵巢癌、结肠癌病人血浆中的一种异常脂蛋白。Mountford 等人进行 <sup>1</sup>H NMR 检测时,发现此异常脂蛋白能产生明显不同于正常蛋白的弛豫时间,而当肿瘤切除后,此特殊弛豫时间消失<sup>[33]</sup>。

赵桂生等对 67 例患有不同脑内疾病的病患进行 <sup>1</sup>H NMR 检测,采用点分辨波谱序列定位技术,以对侧相应部位正常的脑组织作为阳性对照,发现脑内肿瘤的 Cho/Cr 比值升高, NAA/Cr 和 NAA/Cho 比值下降,数值的差异也存在于不同类型、不同程度的肿瘤之间<sup>[34]</sup>。

### 4.2 核磁共振技术在关节损伤方面的应用

杨淑琴分析了 120 例膝关节损伤患者的超导核磁共振成像,结果显示骨挫伤患者的 T<sub>1</sub>WI 为低信号, T<sub>2</sub>WI 为高信号或者高低混杂信号。半月板损伤的核磁共振表现为线状或者不规则高信号灶在低信号区域出现,而关节腔积液则表现为 T<sub>1</sub>WI 为低信号, T<sub>2</sub>WI 为高信号,并且部分病例可见液体分层现象<sup>[35]</sup>。

类风湿性关节炎是一种自身免疫性疾病,病理表现主要为慢性破坏性关节病变,多年反复迁延后,可导致关节的畸形及功能丧失。曹小燕等对 49 例收治的确诊类风湿性关节炎和疑似类风湿性关节炎患者进行了双手和腕关节的核磁共振检查,结果显示核磁共振扫描敏感性明显优于 X 线检查,并且可有有力的提示类风湿性关节炎的早期病变<sup>[36]</sup>。

### 4.3 核磁共振技术在情感障碍诊断方面的应用

情感障碍可分为原发型和继发型,原发型为功能性障碍,继发型则通常认为是由大脑或躯体疾病引起的。原发型情感障碍的主要临床表现是间歇性抑郁、躁狂(双向情感障碍)或者重度抑郁障碍(单项情感障碍)。情感障碍无论是对个人还是社会都会造成很大的负担,以前情感障碍的诊断和评估主要依靠临床,而近 30 年来,核磁共振技术已经越来越多的应用于心理疾病领域。

I.K. Lyoo 等发现双向情感障碍患者的核磁共振高信号多在皮质和皮质下区,而不是脑室周围白质区。白质区的高信号是非特异的,并且不是多有双向情感障碍的患者都在白质区出现高信号<sup>[37]</sup>。核磁共振技术能够无创的观察到代谢产物的变化,通过检测代谢产物以推断可能发生的情感障碍, Y.A. Yildiz 等通过多次核磁共振研究,发现重度抑郁症患者存在 Glx 浓度异常、 $\gamma$ -氨基丁酸峰值升高以及

谷氨酸水平降低等现象<sup>[38]</sup>。

## 5 结束语

生物学、药学和医学作为生命科学领域的三大学科,对生命规律的揭示和延续起着至关重要的作用,内容涉及科学研究和临床应用的多个方面,因此需要运用新技术、新方法。而核磁共振技术作为一项不断发展和完善的先进技术,在生命科学领域的应用也越来越广泛;并且,随着核磁共振波谱仪在灵敏度、准确度等性能方面的突破,应用核磁共振技术已经在生命科学领域取得了多项突破性进展。相信随着这些理论和技术的不断完善和发展,核磁共振技术将在生命科学甚至是其他多领域多学科取得长效持久的应用与发展。

## 参考文献:

- [1] Bloch F, Hansen W W, M. Packard. Nuclear Induction[J]. Physical Review, 1948, 69: 127.
- [2] Pedersen H T, Ablett S, Martin D R, et al. Application of the NMR-MOUSE to food emulsions[J]. Journal of Magnetic Resonance, 2003, 165(1): 49-58.
- [3] Roberts G C K. Applications of NMR in drug discovery[J]. Research Focus, 2000, 5(6): 230-240.
- [4] Orłowski J. Measuring the layer thicknesses of concrete coatings by mobile NMR-A study on the influence of steel reinforcements[J]. Construction and Building Materials, 2012, 27(1): 341-349.
- [5] 陈泳, 朱黎明, 李正全, 等. 核磁共振法鉴定表面活性剂[J]. 分析测试学报, 2011, 30(7): 769-775.
- [6] Kamerzell T J, Middaugh C R. The complex inter-relationships between protein flexibility and stability[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008, 97(9): 3494-3517.
- [7] Boehr D D, Nussinov R, Wright P E. The role of dynamic conformational ensembles in biomolecular recognition[J]. Natural Chemical Biology, 2009, 5(11): 789-796.
- [8] Boehr D D, Wright P E. Biochemistry. how to proteins interact[J]. Science, 2008, 320(5882): 1429-1430.
- [9] Henzler-Wildman K, Ken D. Dynamic personalities of proteins[J]. Nature, 2007, 450(7172): 964-972.
- [10] 朴东海, 洪晶. 用 NMR 技术研究蛋白质-配体相互作用[J]. 波谱学杂志, 2005, 22 (3): 321-341.
- [11] Zeeb M, Balbach J. Protein folding studied by real-time NMR spectroscopy. Methods[J]. 2004, 34(1): 65-74.
- [12] Arriangton C B, Robertson A D. Kinetics and thermodynamics of conformational equilibria in native proteins by hydrogen measurements[J]. Methods in enzymol, 2000, 323: 104-124.
- [13] Sahu D, Clore G M, Iwahara J. Trosy-based z-exchange spectroscopy: application to the determination of the activation energy for intermolecular protein translocation between specific sites on different DNA molecules[J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, 129(43): 13232-13237.
- [14] Fraser J S, Clarkson M W, Degnan S C, et al. Hidden alternative structures of proline isomerase essential for catalysis[J]. Nature, 2009, 462(7264): 669-673.
- [15] Wolf-Watz M, Thai V, Henzler-Wildman K, et al. Linkage between dynamics and catalysis in a thermophilic-mesophilic enzyme pair[J]. Nature structural & molecular biology, 2004, 11(10): 945-949.
- [16] Boehr D D, Eiheny D M, Dyson H J, et al. The dynamic energy landscape of dihydrofolate reductase catalysis[J]. Science, 2006, 313: 1638-1642.
- [17] Kempf J G, Loria J P. Protein dynamics from solution NMR: theory and applications[J]. Cell Biochem, Biophys, 2003, 37(3): 187-211.
- [18] Tzeng S, Kalodimos C G. Dynamic activation of an allosteric regulatory protein[J]. Nature, 2009, 462(7271): 368-372.
- [19] Borbat P P, Costa-Filho A J, Earle J K, et al. Electron spin resonance in studies of membranes and proteins[J]. Science, 2001, 291(5502): 266-269.
- [20] Nusair N A, Tiburu E K, Dave P C, et al. Investigating fatty acids inserted into magnetically aligned phospholipid bilayers using EPR and solid-state NMR spectroscopy[J]. Journal of Magnetic Resonance, 2004, 168(2): 228-237.
- [21] Mertz B, Struts A V, Feller S E, et al. Molecular simulations and solid-state NMR investigate dynamical structure in rhodopsin activation[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2012, 1818(2): 241-251.
- [22] 焦宏. 核磁共振技术在代谢组学中的应用[J]. 山西医药杂志, 2011, 40(4): 25-26.
- [23] Anthony M L, Gartland K P R, Beddell C R, et al. Studies of the biochemical toxicology of uranyl-nitrate in the rats[J]. Toxicol. Appl. Pharmacol, 2002, 183(2): 108-116.
- [24] Wu H F, Sotham A D, Hines A, et al. High-throughput tissue extraction protocol for NMR-and Ms-based metabolomics[J]. Analytical Biochemistry, 2008, 372(2): 204-212.
- [25] Moore J M. NMR screening in drug discovery[J]. Current Opinion in Biotechnol, 1999, 10(1): 54-58.
- [26] 周秋菊, 向俊锋, 唐亚林. 核磁共振波谱在药物发现中的应用[J]. 波谱学杂志, 2010, 27(1): 68-79.
- [27] Bleicher K, Lin M, Shapiro M J, et al. Diffusion edited NMR: screening compound mixtures by affinity NMR to detect binding ligands to vancomycin[J]. Journal of Organic Chemistry, 1998, 63: 8486-8490.
- [28] Shapiro M J, Chin J, Chen A, et al. Covalent or trapped PFG diffusion MAS NMR for combinatorial chemistry[J]. Tetrahedron Letter, 1999, 40(34): 6141-6143.
- [29] Meiboom S, Gill D. Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times[J]. Review of Scientific Instruments, 1958, 29(8): 688-691.
- [30] Meyer B, Meyer T. Mapping the active site of angiotensin-converting enzyme by transferred NOE spectroscopy[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2000, 43(11): 2093-2099.
- [31] Sun C, Cai M, Gunasekera A H, et al. NMR structure and mutagenesis of the inhibitor-of-apoptosis protein XIAP[J]. Nature, 1999, 401 (6755): 818-822.