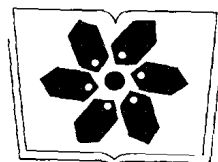


生物医学中的 磁共振

张建中 杜泽涵 编著



科学出版社
www.sciencep.com



中国科学院科学出版基金资助出版

生物医学中的 磁共振

张建中 杜泽涵 编著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书系统地介绍了生物医学中磁共振技术的原理、方法和实际应用。重点阐述了如何应用 NMR 和 ESR 方法研究各类生物大分子的静态结构和动态性质及细胞、组织、器官乃至整个活体的磁共振波谱和弛豫特征与有关生命现象的关系。

本书可供生物和医学专业的各级研究人员、高年级大学生和研究生阅读,也可供从事磁共振工作的其他专业的科学工作者和教师参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物医学中的磁共振/张建中,杜泽涵编著. —北京:科学出版社,2003.9
ISBN 7-03-011118-4

I. 生… II. ①张… ②杜… III. 生物工程;医学工程-磁共振-技术
IV. R318

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 006494 号

策划编辑:马学海 韩学哲/文案编辑:邱 璐 贾学文/责任校对:宋玲玲
责任印制:刘士平/封面设计:王 浩

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2003年9月第一版 开本:B5(720×1000)

2003年9月第一次印刷 印张:28 插页:1

印数:1—2 000 字数:544 000

定价:48.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

作者简介

张建中,男,中国科学院研究生院教授,山东鱼台人。1960年毕业于山东大学。历年在中国科学院研究生院、贵州大学、山东大学讲授“分子光谱与分子结构”、“磁共振导论”、“自由基生物学”等课程。在中国科学院生物物理研究所、美国 National Biomedical ESR Center、中国科学院研究生院从事磁共振生物医学应用及自由基和抗氧化剂的研究,在国内外核心学术刊物发表研究论文 120 余篇,评论 20 余篇。代表性专、译著有《分子光谱学》,《自旋标记 ESR 波谱的基本理论和应用》,《磁共振教程》和《自由基生物学导论》。

杜泽涵,男,军事医学科学院研究员,博士生导师,浙江温岭人。1962年毕业于北京大学。历任军事医学科学院基础医学研究所所长,国家生物医学分析中心副主任,国家自然科学基金委评委,《现代科学仪器》编委。先后在军事医学科学院、美国斯坦福大学从事磁共振生物医学应用研究和研究生的教学工作,讲授“超导核磁共振及常用技术”和“NMR 在生物医学中的应用”等课程,指导并参加了 400MHz 及 600MHz 超导核磁仪的安装、调试和验收。在国内外学术刊物发表研究论文 60 余篇。曾获中国测试协会 CAIA 一等奖。编著有《生物核磁共振》。

前 言

磁共振波谱的两个主要分支——核磁共振(NMR)和电子自旋共振(ESR)同时在 20 世纪 40 年代中期发现。在最初十余年里,它们在物理和化学领域中得到了较广泛的应用,50 年代后期又扩展到生物学领域。60 年代中期,脉冲 Fourier 变换(PFT)和超导 NMR 的兴起,使 NMR 应用范围发生了巨大变化。伴随着计算机技术的迅速发展,出现了二维、三维和多维 NMR 波谱技术,更使得 NMR 在生物医学中的应用突飞猛进。在同一时期,自旋标记、自旋捕集及脉冲和时间分辨的 ESR 技术的发展也使 ESR 的应用范围得到扩大。现在,磁共振作为一类生物物理高新技术已深入到生命科学中的许多重要研究领域,越来越受到国内外科学家的重视。各类磁共振研究中心或实验室相继成立,性能更优异的磁共振谱仪也不断涌现。自 1985 年,我国先后引进了近百台 400~500MHz 的超导 NMR 仪器和先进的 ESR 设备,近年又相继引进了 600MHz 和更高频率的核磁谱仪。磁共振技术已深入到生物分子、细胞、组织、器官、整体动物和人体成像所有层次的生命体系,已成为研究生物大分子结构、运动及其与功能的关系,乃至医学诊断的重要工具。目前国内还没有系统介绍磁共振在生物医学领域中应用的论著。有关磁共振的书籍国外确有不少,但多不适于国内生物医学工作者阅读,因此迫切需要一本既能反映现代科学水平,又比较易读的系统描述生命科学中磁共振技术和方法的书籍。

NMR 和 ESR 属于同一个学科的分支,有着共同的理论体系,在仪器的主体结构上也有许多相似之处,但作为生物物理方法,它们是两个完全独立的实验技术,本书采用有合有分的方式来编写。全书共十二章,前两章系统介绍磁共振理论基础,第三、四章分别介绍 NMR 和 ESR 有关的实验技术,第五章~第十一章叙述 NMR 和 ESR 应用于各种生物医学体系的实验方法、研究结果和学术成就,最后一章讨论磁共振成像的基本原理、方法及其在生物医学中的应用。

本书取材于 4 个方面:① 作者为研究生讲授的“磁共振导论”、“超导核磁共振技术”、“核磁共振在生物医学中的应用”、“自由基生物学”等教材;② 国内外有关学术专著;③ 近期国内外有关研究论文;④ 作者自己的研究成果和经验总结。上述材料经过认真地综合归纳形成一个完整的体系。本书可供生物医学领域中有关的研究人员阅读,也可作为相关专业大学生和研究生的教学用书。

中国科学院研究生院与国家生物医学分析中心的同仁及有关研究生,二十几年来用磁共振技术研究了生物大分子、氧自由基和抗氧化剂,从生物分子、细胞、离体器官和整体动物等多个层次进行了 NMR 和 ESR 的生物医学应用研究,取得了大量的研究成果,丰富了本书的内容。谨向颜贤忠、马耀、程增江、刘利、田建广、赵

洪涛博士和冯锐、姜厚理、黄荣清、丛建波、李妍副研究员等表示衷心的感谢！并对热情支持和帮助本书出版的吴祖泽院士，赵保路、孙存普、吴可、刘凡镇和黄明宝诸位教授致以诚挚的谢意！

由于我们的水平所限，本书难免有错误和不当之处，恳请读者批评和指正。

张建中 杜泽涵

2002年6月

略 语 表

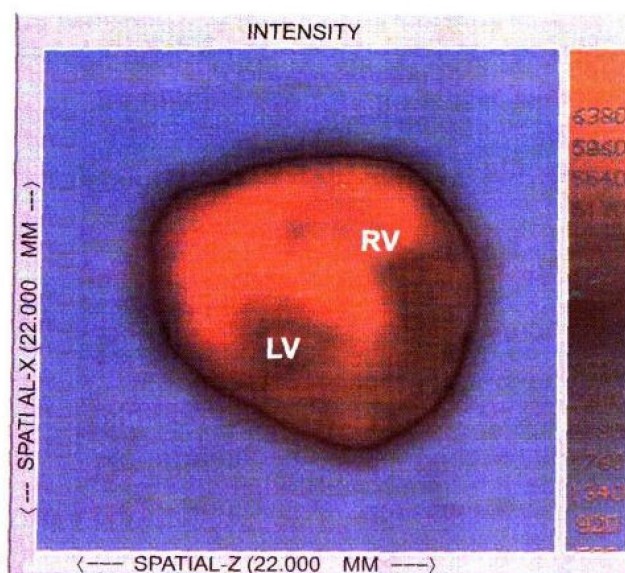
$A_{m \rightarrow n}$	爱因斯坦自发发射系数
Ach	乙酰胆碱
AK	腺苷酸激酶
AM	乙酸基甲酯
AMP	腺苷一磷酸;腺苷酸
ATP	三磷酸腺苷
BAPTA	1,2-双(<i>o</i> -氨基苯氧)乙烷- <i>N,N,N,N</i> -四乙酸
BG	没食子酸丁酯
BMPO	5-叔丁氧羰基-5-甲基-1-吡咯啉氮氧化物
BMS	体积磁化率
BPTI	碱性胰蛋白酶抑制剂
cAMP	环腺苷一磷酸
CAT	过氧化氢酶
CD	圆二色性
CIDEP	化学诱导动态电子极化
CIDNP	化学诱导动态核极化
CNS	晶体学和核磁共振体系软件
COSY	相关谱
COSYPH	相敏 COSY
CP	交叉极化
CPMG	Carr-Purcell-Meiboom-Gill
CSA	化学位移各向异性
CSI	化学位移指数
CTPO	3-氨基甲酰基-2,2,5,5-四甲基-吡咯啉-1-氧
CTX	环磷酸胺
CW	连续波
DDCP	去相位延迟交叉极化
DETAPAC	二乙撑三胺五乙酸(即 DTPA)
DEPMPO	5-(二乙氧磷酰)-5-甲基-1-吡咯啉氮氧化物
DEPT	无失真极化转移增敏谱
DETC(DDC)	<i>N,N</i> -二乙基二硫代氨基甲酸盐
DFMA	α -二氟甲基丙氨酸
DFP	二异丙基氟磷酸盐
DG	距离几何

DHA	二十二碳六烯酸
DHPC	二己酰磷脂酰胆碱
DMMP	甲基膦酸二甲酯
DMPC	二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱
DMPO	5,5-二甲基吡咯啉氮氧化物
DMSO	二甲亚砜
DNA	脱氧核糖核酸
2D NMR	二维 NMR
3D NMR	三维 NMR
4D NMR	四维 NMR
DNP	动态核极化
DO3A	1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三醋酸
DOXYL	4,4'-二甲基-3-噁唑啉氮氧基
DPDE	双磷酸双酯
DPPC	二棕榈酰磷脂酰胆碱
DQF-COSY	双量子滤波相关谱
DSPC	二硬脂酰磷脂酰胆碱
DTCS	<i>N</i> -(二硫代羧基)肌氨酸
E-COSY	排他性 COSY
EDRF	内皮细胞松弛因子
ECG	表儿茶素没食子酸
EG	没食子酸乙酯
EGCG	表儿茶素没食子酸
EGF	表皮生长因子
ELDOR	电子-电子双共振
EM	红细胞膜
EMR	电子磁共振
ENDOR	电子-核双共振
EPR	电子顺磁共振
ESE	电子自旋回波
ESR	电子自旋共振
ESRI	ESR 成像
EXAFS	广延 X 射线吸收精细结构
FAD	黄素腺嘌呤二核苷酸(氧化型)
FADH ₂	黄素腺嘌呤二核苷酸(还原型)
FBAL	α -氟- β -丙氨酸
FFT	快速 Fourier 变换
FID	自由感应衰减
FMN	黄素单核苷酸(氧化型)

FMNH ₂	黄素单核苷酸(还原型)
Fnuc	氟代核苷酸
FOV	成像野
FS-ED ESR	场扫描-回波检测 ESR
5-FU	5-氟尿嘧啶
FUPA	氟代脲基丙酸
GABA	γ -氨基丁酸
G-CSF	粒细胞集落刺激因子
GM-CSF	粒巨噬细胞集落刺激因子
GPC	甘油磷酸胆碱
GSE	葡萄籽提取物
GSH	谷胱甘肽
GSSG	氧化型谷胱甘肽
Hb	血红蛋白
HIV	艾滋病病毒
HMBC	异核多键相干
HMQC	异核多量子相干
HOHAHA	Homo-nuclear Hartmann-Hahn
HPD	血卟啉衍生物
HR	心率
HRP	辣根过氧化物酶
HSQC	异核单量子相干
IFN	干扰素
IL	白介素
INADEQUATE	¹³ C- ¹³ C 双量子传递二维谱
INEPT	不灵敏核的极化转移增敏谱
IPG	没食子酸异丙酯
IR	反转恢复法
ISC	系间窜越
K _D	二聚体解离常数
K _T	四聚体解离常数
L•(R•)	脂质(烷基)自由基
LDH	D-乳酸脱氢酶
LDL	低密度脂蛋白
LIF	白血病抑制因子
LO•(RO•)	脂(烷)氧自由基
LOO•(ROO•)	脂(烷)过氧自由基
LR-COSY	远程 COSY
LVDP	左心室发展压

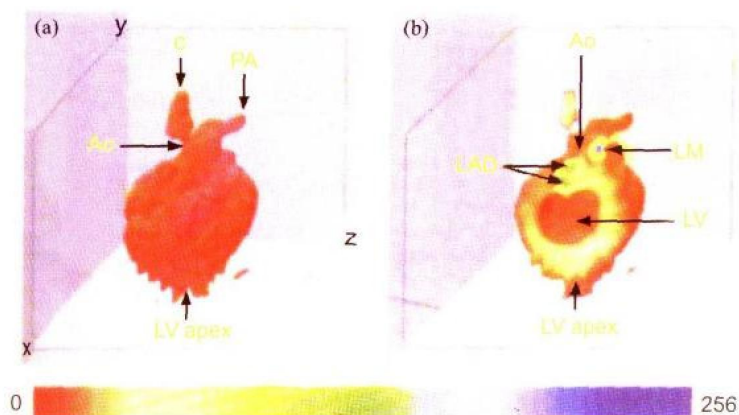
LVEDP	左心室舒张末期压
MAS	魔角旋转
MCD	磁性圆二色性
MDPA	亚甲基二磷酸
MG	没食子酸甲酯
MGD	<i>N</i> -甲基-D-葡糖胺二硫代氨基甲酸盐
MRI	(核)磁共振成像
MTSL	甲硫代磺酸自旋标记
NAC	<i>N</i> -乙酰-L-半胱氨酸
NAD ⁺	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(氧化型)
NADH	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(还原型)
NADP ⁺	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(氧化型)
NADPH	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(还原型)
NAME	N ^G -硝基精氨酸甲酯
NBT	氮蓝四唑
ND	1-亚硝基-2,3,5,6-四甲基苯
NEX	激发次数
NMMA	N ^G -甲基-L-精氨酸
NMR	核磁共振
NOE	核 Overhauser 效应
NOESY	NOE 二维谱
NOS	一氧化氮合酶
NSA	信号平均数
PBN	α -苯基-叔丁基硝酮
PCr	磷酸肌酸
PDB	蛋白数据库
PDE	磷酸双酯
PF4	血小板因子 4
PFT	脉冲 Fourier 变换
PG	没食子酸丙酯
P _i	无机磷
PME	磷酸单酯
PISEMA	魔角自旋交换极化翻转实验
PMA	佛波醇肉豆蔻醋酸酯
PMN	多形核白细胞
POPC	1-棕榈酰-2-油酰-3-sn-磷脂酰胆碱
4-POBN	α -(4-吡啶-1-氧)- <i>N</i> -叔丁基硝酮
PUFA	多不饱和脂肪酸
RA	维生素 A 酸

RCSB	结构生物信息学研究协作体
REDOR	旋转-回波双共振
rf	射频
RMSD	均方根标准偏差
RNA	核糖核酸
ROESY	旋转坐标的 NOESY
RPM	自由基对机制
RPP	心率心压乘积
RR	旋转共振
RTPM	自由基-三重态对机制
SA	模拟退火
SAR	特殊吸收率
SCRPM	自旋相关-自由基对机制
SDSL	位置定向的自旋标记
SE	自旋回波
SMS	骨骼肌纤维膜
SOD	超氧化物歧化酶
SR	饱和恢复法
SSFP	稳态自由进动
STEAM	激励回波采样模式
ST-ESR	饱和转移 ESR
T	特斯拉
T_1	自旋-晶格弛豫时间
T_2	自旋-自旋弛豫时间
TBG	没食子酸叔丁酯
TE	回波时间
TEMPO	2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧
TEMPOL	4-羟基 TEMPO
TFE	三氟乙醇
TM	三重态机制
tNB	亚硝基叔丁烷
TNB	三叔丁基亚硝基苯
TNF	肿瘤坏死因子
TOCSY	全相关谱
TR	脉冲重复时间
TR ESR	时间分辨的 ESR
X-CT	X 射线计算机断层成像



彩图 1 由三维波谱-空间数据得到大鼠心脏横截面的二维空间 ESR 成像^[19]

LV 和 RV 分别为左心室和右心室。数据获得参数：获得时间，16min；波谱窗口，8.0G；空间窗口，22mm；最大梯度场，27.4G/cm



彩图 2 用葡萄糖炭悬浮液灌注的缺血大鼠心脏的三维成像
(25mm × 25mm × 25mm)^[33]

C 为套管，Ao 为主动脉根，PA 为肺动脉，LM 为左冠状动脉，
LAD 为左前降动脉，LV 为左心室

(a) 心脏全视图；(b) 表示心脏内部结构的纵剖面。数据获得参数：投影数，1024；梯度场，50.0G/cm；获得时间，78min

目 录

前言

略语表

第一章 绪论	(1)
第一节 分子光谱与磁共振	(1)
第二节 核磁共振与电子磁共振	(3)
第三节 核磁共振	(4)
第四节 电子磁共振	(4)
参考文献	(5)
第二章 磁共振原理	(7)
第一节 电子和核的磁矩	(7)
第二节 磁共振现象	(9)
第三节 NMR 和 ESR 实验	(16)
第四节 化学位移和 g 因子	(22)
第五节 磁共振谱的自旋-自旋偶合	(35)
第六节 自旋弛豫	(44)
参考文献	(50)
第三章 NMR 实验方法	(52)
第一节 超导核磁共振仪	(52)
第二节 1D NMR 常用技术	(54)
第三节 2D NMR 波谱	(57)
第四节 3D NMR 和 4D NMR	(68)
第五节 弛豫时间的测量	(78)
参考文献	(81)
第四章 ESR 实验方法	(83)
第一节 普通 ESR 测量	(83)
第二节 电子-核双共振方法	(97)
第三节 电子-电子双共振方法	(108)
第四节 时间分辨的 ESR 方法	(115)
参考文献	(121)
第五章 NMR 测定蛋白质的三维结构	(124)
第一节 引言	(124)

第二节	氨基酸残基顺序的指定	(126)
第三节	二级结构单元的确认	(130)
第四节	NMR 测定蛋白质三级结构	(134)
第五节	NMR 法测定蛋白质结构的实例	(138)
参考文献		(142)
第六章	生物膜的 NMR 研究	(144)
第一节	生物膜	(144)
第二节	固体 NMR 与生物膜	(146)
第三节	膜成分的研究	(151)
第四节	膜双层的研究	(160)
第五节	膜结构的 NMR 研究	(164)
第六节	跨膜运输的研究	(167)
第七节	蛋白与膜的相互作用	(169)
参考文献		(172)
第七章	NMR 在细胞生物学中的应用	(175)
第一节	细胞内 pH 的测量	(175)
第二节	NMR 研究肿瘤细胞	(181)
第三节	研究细胞因子	(185)
第四节	NMR 测定细胞内的金属离子	(198)
参考文献		(206)
第八章	各种生物样品的 NMR 研究	(212)
第一节	生物组织	(212)
第二节	离体心脏	(217)
第三节	整体动物	(228)
第四节	酶的研究	(236)
参考文献		(242)
第九章	生物体系中的自由基	(245)
第一节	早期的 ESR 研究	(245)
第二节	超氧阴离子自由基和一氧化氮自由基	(248)
第三节	抗氧化剂作用机制的研究	(251)
第四节	自旋捕集技术	(261)
第五节	一氧化氮的自旋捕集方法	(276)
参考文献		(282)
第十章	生物体系中的过渡金属离子	(289)
第一节	过渡金属离子的 ESR 谱	(289)
第二节	血红素蛋白	(299)

第三节	非血红素铁蛋白——铁-硫蛋白	(308)
第四节	铁超氧化物歧化酶(Fe-SOD)	(311)
第五节	铜蛋白	(314)
第六节	其他金属离子的生物复合物	(319)
参考文献		(325)
第十一章	自旋标记方法	(329)
第一节	引言	(329)
第二节	氮氧自由基的 ESR 波谱	(330)
第三节	各向同性运动的 ESR 波谱	(334)
第四节	各向异性运动的 ESR 波谱	(345)
第五节	ESR 波谱的极性相关性	(355)
第六节	自旋标记的蛋白和酶	(359)
第七节	氧自旋探针	(366)
第八节	pH 自旋探针	(372)
参考文献		(376)
第十二章	磁共振成像	(383)
第一节	NMR 成像	(383)
第二节	ESR 成像	(401)
参考文献		(408)
附录		(411)
I	物理常数	(411)
II	某些磁性核的 NMR 和 ESR 性质	(412)
III	几种自旋标记化合物的 ESR 参数	(413)
IV	20 种氨基酸残基不活泼氢原子的自旋体系	(415)
V	分子运动的频率	(416)
VI	生物 NMR 中常用的参考物	(416)
VII	常用的 NMR 溶剂	(417)
VIII	常见氨基酸的 ¹³ C 化学位移	(417)
IX	常见氨基酸的 ¹⁵ N 化学位移	(418)
X	常见官能团的 ¹ H 和 ¹³ C 化学位移	(419)
XI	常见磷酸盐水溶液的 ³¹ P NMR 化学位移	(420)
XII	NMR 用的活组织 T ₁ 和 T ₂ 值	(420)
中文索引		(421)
彩图		

第一章 绪 论

第一节 分子光谱与磁共振

20 世纪中叶,分子光谱家族增加了一个新的成员——磁共振光谱(magnetic resonance spectroscopy),我国称之为磁共振波谱,通常简称磁共振。磁共振和其他光谱分支一样,是研究电磁辐射与分子相互作用的科学,研究分子各能级状态间的跃迁频率、跃迁强度及其所遵守的规律,借以了解分子的电子结构、组成、分子间的相互作用及与之有关的化学与生物体系的物理、化学性质和生物功能。图 1-1 列出了电磁光谱的范围和分子能量的关系。

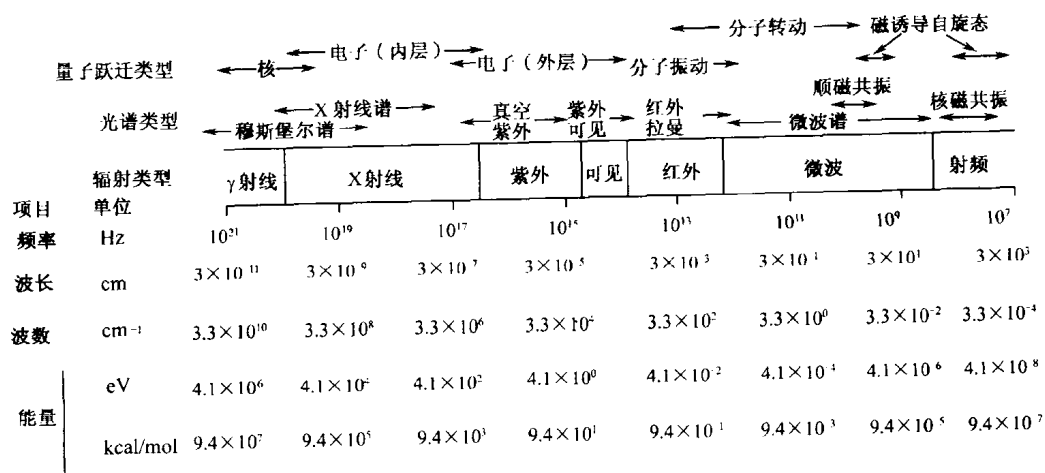


图 1-1 电磁光谱的范围和分子能量的关系

$$1\text{kcal} = 4186.8\text{J}$$

磁共振作为分子光谱的一个分支,与分子光谱有着共同的理论体系,仪器的主要结构也有许多共同之处。处理和分析磁共振波谱同样采用半经典的方法,即对原子和分子作量子力学处理,而把辐射视为一经典的电磁波,这是化学和生物医学工作者常用的方法。不过本书一般不涉及磁共振谱的量子力学处理,只列出其计算结果及对结果的诠释和在生物医学体系中的应用。

与通常分子的电子光谱、振动光谱和转动光谱相比,磁共振也有自己的特点。首先磁共振的适用对象必须是构成分子的电子或核,具有与非零自旋角动量相联

系的磁偶极矩 μ , 在静磁场 H 的作用下产生一系列的分立能级, 这些能级与量子力学所允许的电子和核自旋及其有关磁矩的不同取向相对应。当具有一定方位的交变磁场的频率与某些能级间的距离相当时, 则可观察到选择规则所允许的量子跃迁, 产生所谓磁共振现象, 并从交变磁场中吸收能量, 得到磁共振波谱。

图 1-2 所示为具有一定能量的分子的一系列分立能级, $\psi_0, \psi_1, \psi_2 \cdots$ 表示体系所处的状态, 它们分别对应不同的能量 $E_0, E_1, E_2 \cdots$ 分子光谱包括磁共振波谱的跃迁频率和跃迁强度, 遵守由半经典理论导出的方程式

$$|c_m|^2 = (2\pi t_1 / 3\hbar^2) |\langle \psi_m | \hat{d} | \psi_n \rangle|^2 u(\nu_{mn}) \quad (1-1)$$

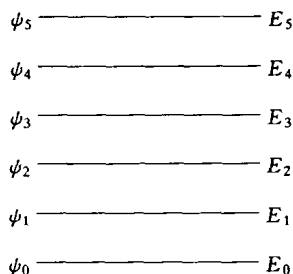


图 1-2 一分子体系的不同状态 $\psi_0, \psi_1, \psi_2 \cdots$ 及所对应的能级 $E_0, E_1, E_2 \cdots$

式中, $|c_m|^2$ 为状态 ψ_n 与 ψ_m 之间的跃迁概率, 代表谱线的强度; $u(\nu_{mn})$ 为频率 ν_{mn} 辐射电磁波的能量密度, $h\nu_{mn}$ 为跃迁两能级间的能量差; t_1 为电磁波的作用时间; $\hbar$ 为普朗克常量 h 除以 2π ($\hbar = h/2\pi$); $\hat{d}$ 为分子、电子或核的电偶极矩或磁偶极矩; $\langle \psi_m | \hat{d} | \psi_n \rangle$ 为积分 $\int \psi_m^* \hat{d} \psi_n d\tau$, 称为跃迁偶极矩。谱线的位置决定于 ν_{mn} , 谱线的强度与 $u(\nu_{mn})$ 和 $|\langle \psi_m | \hat{d} | \psi_n \rangle|^2$ 有关, 两状态 ψ_m 和 ψ_n 间能否发生跃迁取决于积分 $\langle \psi_m | \hat{d} | \psi_n \rangle$, $\langle \psi_m | \hat{d} | \psi_n \rangle = 0$ 为禁戒跃迁, 由 $\langle \psi_m | \hat{d} | \psi_n \rangle$ 还可导出光谱的选择规则。

磁共振主要有两点有别于其他分子光谱: 第一, 对其他分子光谱而言, 分立能级对应着分子内部运动的能量, 而磁共振的分立能级则决定于电子或核磁矩 μ 与外磁场 H 作用的塞曼 (Zeeman) 能 $E = -\mu H$; 第二, 对其他分子光谱, 积分 $\langle \psi_m | \hat{d} | \psi_n \rangle$ 中的 $\hat{d}$ 通常为分子的电偶极矩, 所涉及的跃迁为电偶极跃迁, 而在磁共振中, 跃迁矩阵元中的 $\hat{d}$ 为磁偶极矩 (μ), 导致磁偶极跃迁。

另外, 与其他分子光谱相比, 自旋弛豫对磁共振具有特别重要的意义。我们知道, 磁共振和任何一种吸收光谱所观测的是低能级粒子跃迁至较高能级时对电磁波能量的净吸收, 要实现光谱测量, 各能级上的粒子集居数必须保持玻尔兹曼 (Boltzmann) 平衡分布, 也就是说, 净跃迁到较高能级的粒子必须及时地返回低能级。自发发射是一个重要途径, 由 m 态到 n 态的自发发射概率由爱因斯坦自发发射系数 A_m 描述, 为