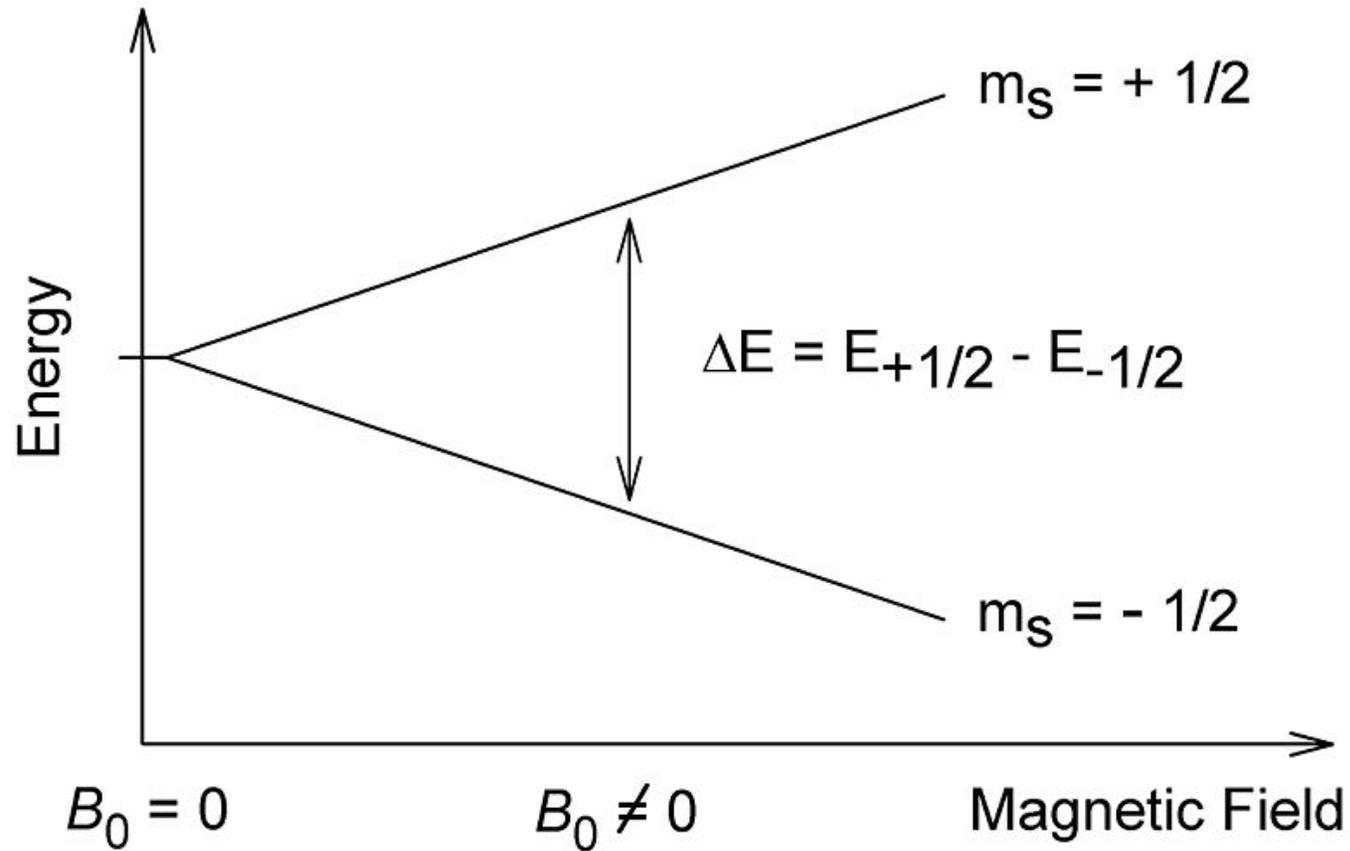


Ressonância Magnética Nuclear (NMR)

- Certos núcleos atômicos, tais como o ^1H , ^{13}C , ^{15}N e ^{31}P , tem um momento magnético (ou spin) nuclear não nulo
- Um campo magnético intenso provoca um desdobramento dos níveis de energia do spin nuclear, que pode ser analisado por **espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR)**
- A espectroscopia de NMR pode ser usada para calcular as distâncias entre os átomos de uma molécula e daí inferir a sua estrutura tridimensional
- A análise da estrutura das proteínas baseia-se em NMR de ^1H , já que o hidrogénio é muito abundante nas proteínas.
- Para proteínas pequenas é suficiente a análise por ^1H NMR, mas para proteínas maiores torna-se necessário enriquecer as moléculas com ^{13}C e ^{15}N

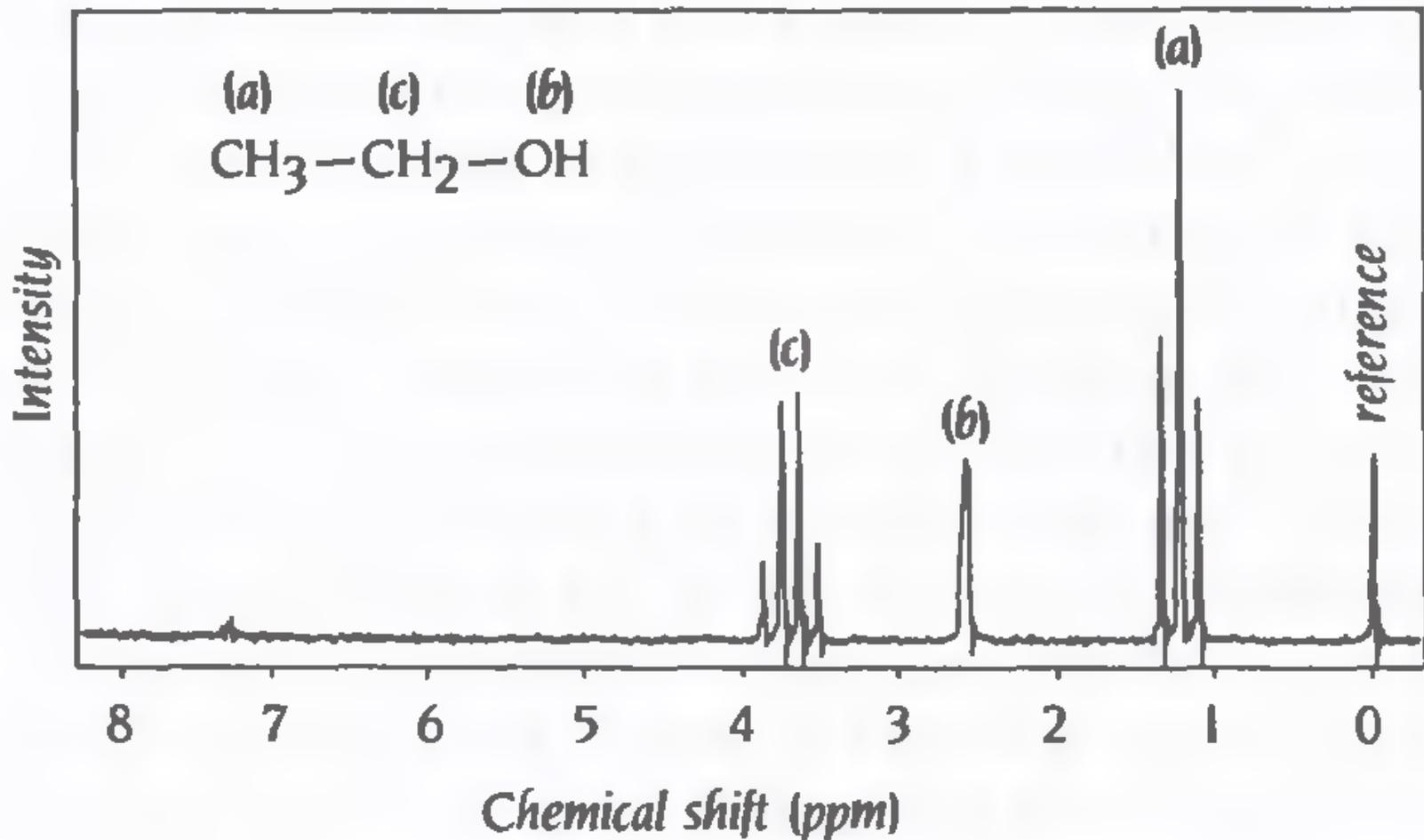
Ressonância Magnética Nuclear (NMR)



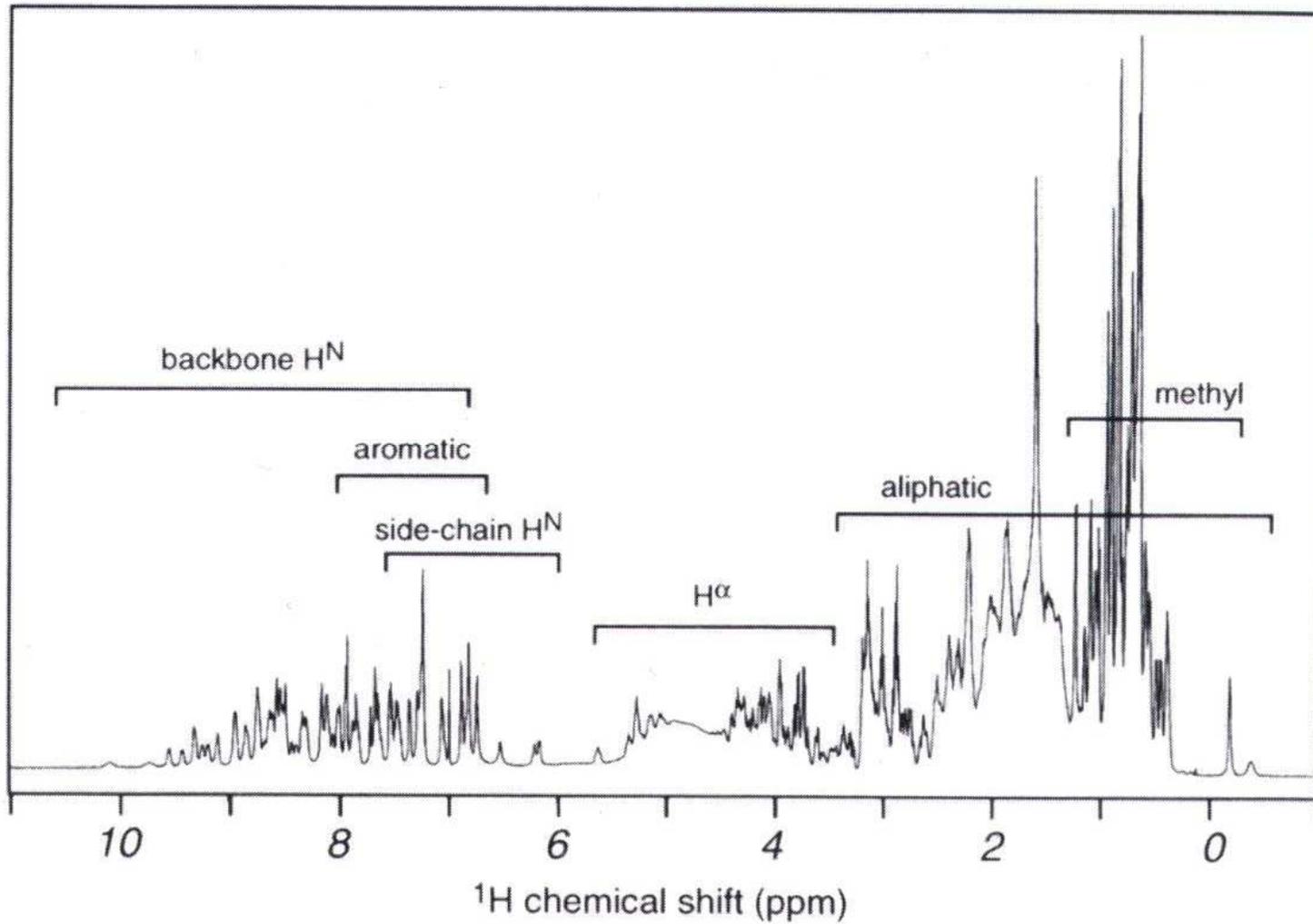
Ressonância Magnética Nuclear (NMR)

- Quando o spin nuclear está desdobrado em dois níveis por acção de um campo magnético, é possível fazer passar os spins para o estado excitado com um pulso de radio frequência (RF)
- Os núcleos retornam ao estado fundamental emitindo um pulso de energia
- A frequência do pulso de energia emitido depende do tipo de núcleo (^1H , ^{13}C , ^{15}N , etc..), mas também do **ambiente químico** desse núcleo
- A diferença entre a frequência característica de emissão de um núcleo isolado e aquela que é observada numa determinada vizinhança química toma o nome de **deslocamento químico**.
- Os deslocamentos químicos permitem a análise do ambiente químico de cada protão.

Espectro de H^1 -NMR do Etanol



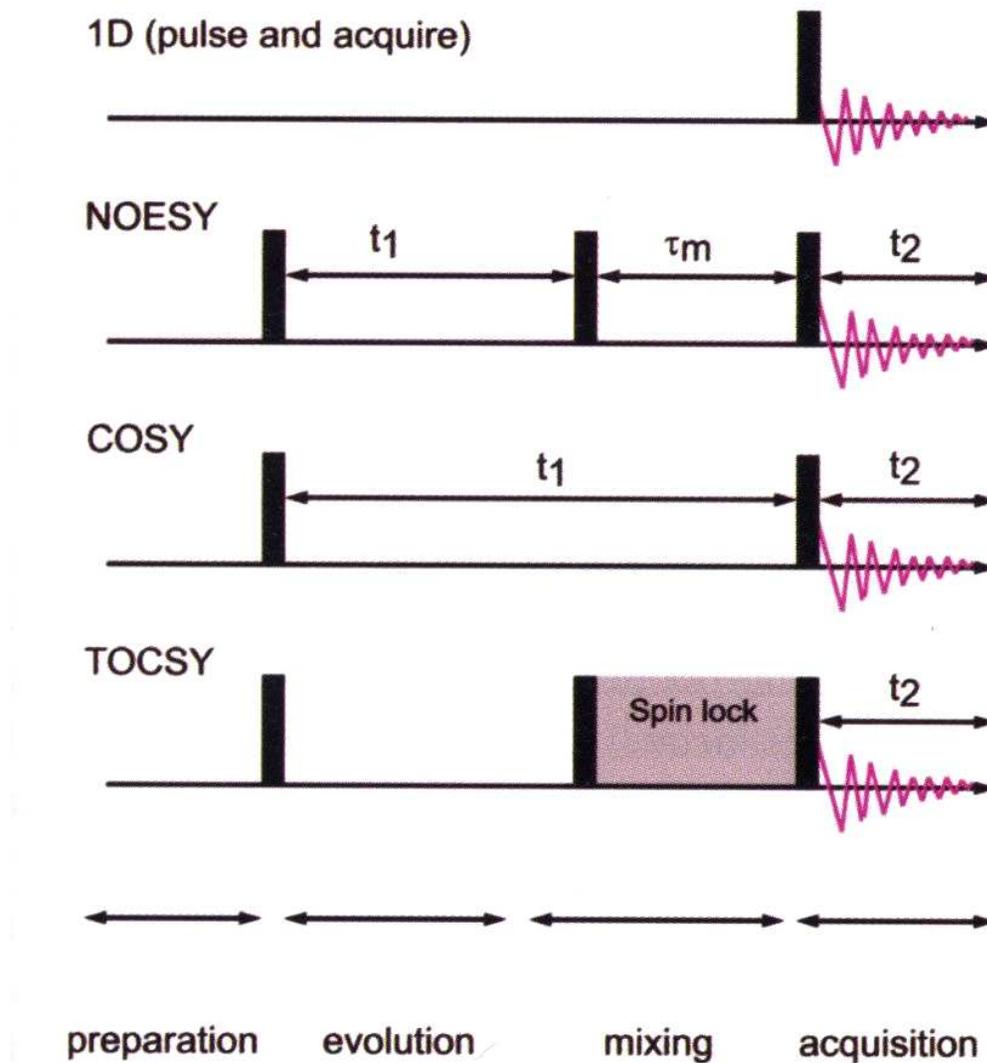
Espectro de H^1 -NMR da Ubiquitina (70 aa)



Espectrómetro de NMR

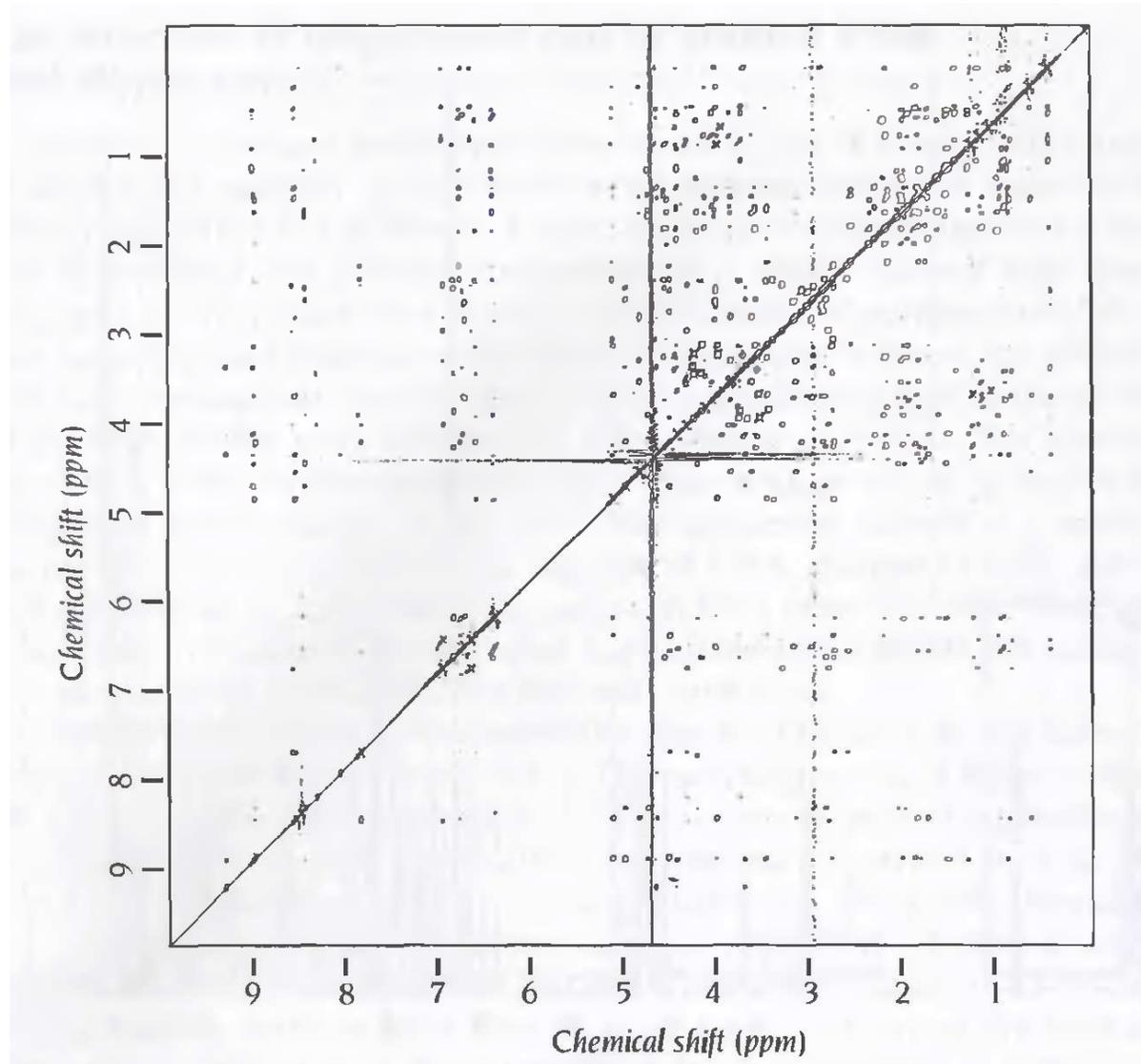


Tipos de experiências de NMR 1D e 2D

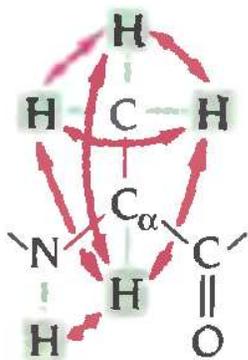


- **COSY**: picos entre hidrogénios covalentemente ligados por um ou dois átomos
- **NOESY**: Picos entre hidrogénios espacialmente separados por menos de 5 Å

Espectro NOESY H¹-NMR do C-terminal da celulase



(a)

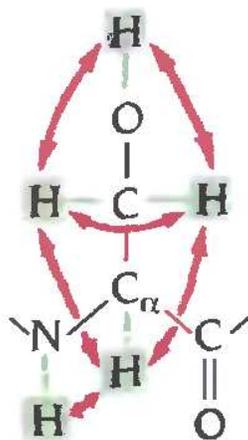


Ala

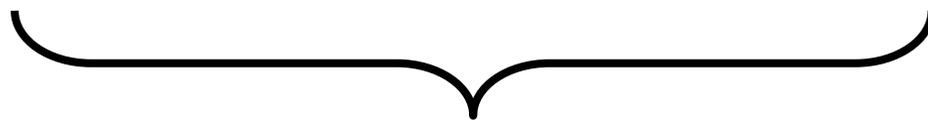


COSY

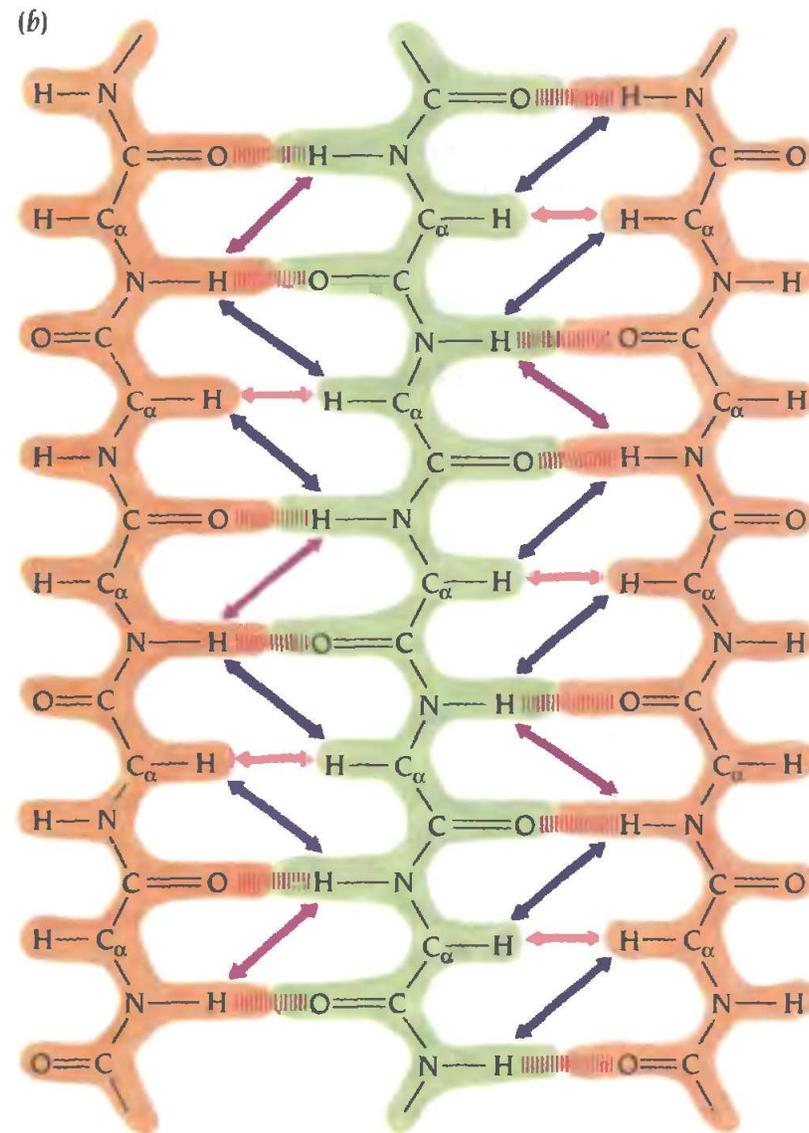
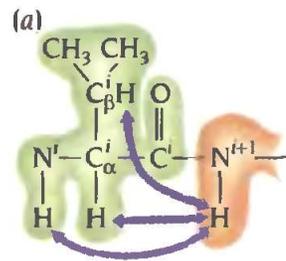
(b)



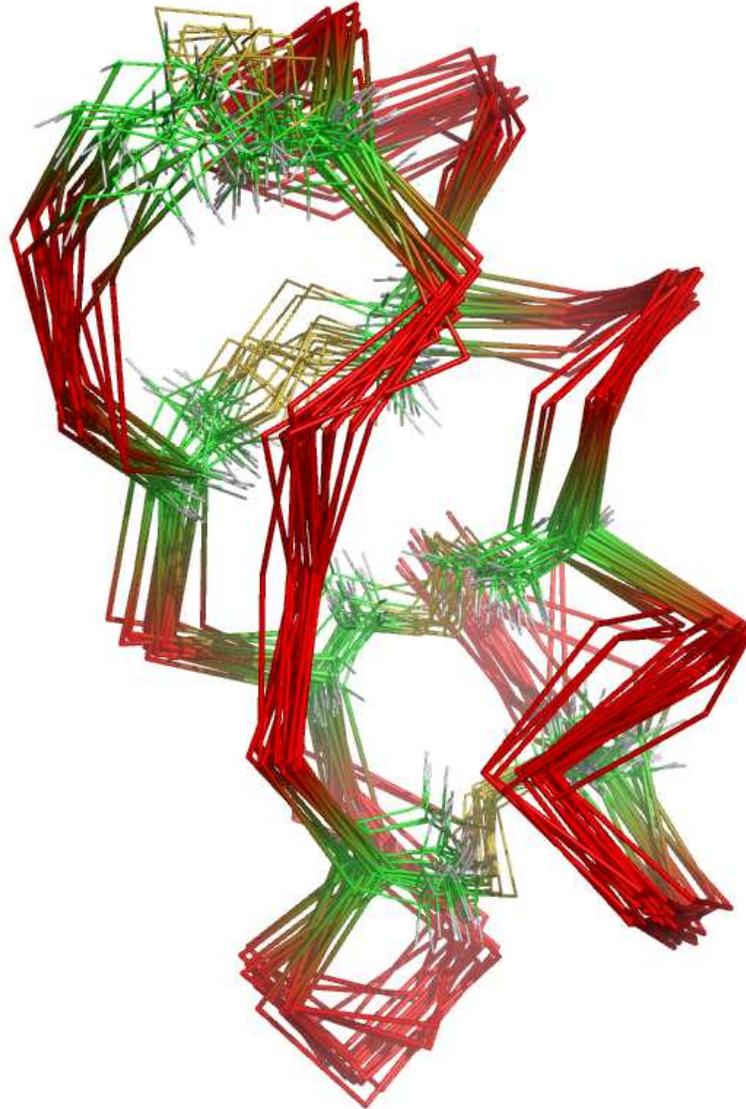
Ser



NOESY



Estrutura resolvida por NMR (conjunto de soluções)



Vantagens do NMR de proteínas

- Permite determinar a estrutura das macromoléculas em solução aquosa
- Não necessita da presença de grupos químicos especiais ou corantes
- Não é necessário cristalizar as macromoléculas
- Permite a detecção de uma variedade de propriedades dinâmicas das macromoléculas em solução aquosa

Desvantagens do NMR de proteínas

- Espectros com elevada densidade de picos
- Limitação do espaço disponível num espectro de NMR
- Alargamento das linhas de ressonância nas proteínas diminui a altura dos picos
- Limitado a proteínas de tamanho pequeno/médio (< 250 a.a.)
- Necessita de soluções bastante concentradas de proteína

NMR versus X-ray

