



Vademecum RMN

(glycannes et glycoconjugués)

Solvants disponibles : D₂O, DMSO-d₆, CD₃OD, CD₃COOD, CDCl₃, C₅D₅N, C₆D₆...



Température de -10 à 130 degrés celsius

Sonde inverse 5mm, volume échantillon de 250µL (tube Shigemi) ou 500µL (tube standard)

Expériences à une dimension proton (¹H) : Quantité minimale requise : 0.3mM Informations possibles : Nombre et anoméries des résidus monosaccharidiques, pureté relative de l'échantillon, nombre et nature des acides sialiques courants (NeuAc, NeuGc, Kdn), présence de résidus fucosyls, estimation du nombre d'osamines, déplacements chimiques des anomères. Indices SOACS and SOACS-ol¹

Expériences à une dimension proton (¹H) d'excitation nucléaire sélective: Quantité minimale requise : 0.3mM. Informations possibles : Système de spin individualisé des protons anomères excités.

Expériences à une dimension d'hétéro-atome X² : Quantité minimale requise : entre 1mM (³¹P) et 10mM et plus (¹³C, ¹⁵N) Informations possibles : Nombre de résidus (carbones anomères), nombre de groupement phosphate, information partielle sur les substitutions (dept experiment), nombre et nature des carboxyls. Indice SACCs...

Expériences à deux dimensions homonucléaires (¹H-¹H) : Quantité minimale requise : ~ 1mM

COSYs (COrrelation Spectroscopy), **TOCSY** (TOtal Correlation Spectroscopy) : nature des monosaccharides (constantes de couplage), déplacements chimiques des protons de l'hétérocycle, informations partielles sur les substitutions...

ROESY (Rotating Overhauser Effect Spectroscopy) : séquence et déplacements chimiques particuliers. Effet nOe pour molécule de petite masse moléculaire (max 2000Da)

NOESY (Nuclear Overhauser effect Spectroscopy) : Id. Pour molécule de masse moléculaire élevée

Expériences à deux dimensions hétéronucléaires (¹H-X) : Quantité minimale requise : ~ 3mM

HMQC (Heteronuclear MultiQuantum Coherence), **HMQC-TOCSY** : Position des substitutions, déplacements chimiques des carbones

HMBC (Heteronuclear Multiple Bound Coherence) : attention quantité minimale requise **20 à 25 mM** ! Déplacements chimiques des hétéroatomes non identifiés autrement, substitution et séquence.

Notes importantes

Les échantillons doivent être les plus purs possibles, d'une solubilité compatible avec les concentrations minimales requises, exempts d'éléments ferromagnétiques et fournis en lyophilisats.

La durée des analyses dépend essentiellement de la concentration des échantillons.

Dans tous les cas, la réussite d'une expérience RMN ne peut être envisagée que si les informations collectées en amont sont connues de l'expérimentateur. L'origine de l'échantillon, le protocole et les propriétés physico-chimiques de la (ou des) molécule(s) doivent être communiqués et sont bien sûr protégés par le secret professionnel.

Dans les autres cas l'analyse RMN se cantonnera à la réalisation de l'expérience RMN non interprétée si toutefois les conditions d'analyse le permettent. Les spectres RMN peuvent être récupérés en format informatique de type image (.tif, .jpg...), en *post-script* type .ps ou .eps ou encore en dessin type .cdr (préciser alors la version souhaitée)

Maes Emmanuel, bureau 215,
Unité de Glycobiologie Structurale et fonctionnelle UMR 8576 du CNRS
59655 Villeneuve d'Ascq
03 20 33 63 47

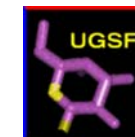
¹ : Maes *et al* (2008) *Carbohydr. Res*

² : ¹³C (1%), ³¹P (100%) et ¹⁵N(enrichir)



Vademecum RMN

(peptides et protéines)



Contrairement à la RMN des sucres, la séquence peptidique doit être connue ³

Echantillons :

pH : neutre ou acides ⁴

Concentration en protéine : 0,1 mM minimum

Solvant : sans protons non labiles (tampons phosphate) ou deutérés (acétate, Tris...)⁴

Impuretés : à éviter au maximum, surtout les espèces paramagnétiques (avec électrons non appariés) comme certains sels métalliques⁴

L'échantillon doit être stable durant une période supérieure à la durée d'enregistrement des expériences RMN.

Solvants disponibles : H₂O et/ou D₂O

Températures : selon la molécule

Les méthodes RMN ne sont pas destructives. L'échantillon peut donc être récupéré et réutilisé après l'enregistrement des expériences RMN.

Noyaux observés par RMN	¹ H	¹³ C	¹⁵ N	¹⁹ F	³¹ P
Abondance naturelle (%)	99,98	1,1	0,36	100	100
Sensibilité relative à l'abondance naturelle	1 000 000	170	4	833050	66 610

Les RMN de ¹H, ¹⁹F et de ³¹P ne nécessitent pas de marquage isotopique. Les RMN de ¹³C et ¹⁵N nécessitent un marquage isotopique ³.

Expériences 1D ¹H :

Informations : état de repliement (structurée ou dénaturée), pureté relative de l'échantillon...

Expériences 1D X :

Peu ou pas utilisées

Expériences 2D ¹H-¹H :

TOCSY : type de résidus

NOESY : type de résidus et informations de distances entre ¹H

Expériences 2D ¹H-X :

HSQC, HMQC, HMBC : corrélations à travers 1, 2, 3... liaisons chimiques entre ¹H et X

¹⁵N-HSQC : empreintes de la protéine dans les conditions d'enregistrement (température, pH, interaction ou pas avec ligand(s), dénaturation...)

Expériences 3D :

Utilisées quand les spectres sont trop complexes (protéines>10kDa)

Utilisées pour l'attribution de protéines par la méthode triple-résonance avec marquage ¹³C/¹⁵N

Même en RMN, chaque protéine est un cas particulier

Maes Emmanuel, Xavier Trivelli bureau 215,
Unité de Glycobiologie Structurale et fonctionnelle UMR 8576 du CNRS
59655 Villeneuve d'Ascq
03 20 33 63 47

³ : dépend de l'information souhaitée par RMN

⁴ : Attention à l'agrégation des protéines