1. **什么样的蛋白质分子可以用核磁共振检测？**

答：通常来说，用于核磁共振检测的蛋白质分子的分子量需要小于30kDa，浓度要大于0.5mM，体积450uL～500uL。具体来说，也跟蛋白质分子本身的结构特定和用户需要获得的信息相关，如果仅需要做一维核磁共振实验，分子量可以扩展到～100kDa，浓度最低可以到0.01mM；如果需要做二维实验的话，分子量可以到～50kDa，浓度最低可以到0.1mM；如果需要做三维实验，分子量必须小于30kDa，最好小于25kDa，浓度至少0.5mM。二维和三维实验需要在同位素标记的样品中完成。另外，无结构区较多的蛋白质信号强度会很强，谱图分辨率会差，beta折叠的蛋白分辨率要好于全alpha螺旋的蛋白，建议在考虑使用核磁共振研究蛋白质时先进行一下二级结构预测。

1. **不同核磁共振实验需要使用什么样品的蛋白质分子样品？**

答：一维H谱，二维同核H谱，不需要对蛋白质分子进行同位素标记，天然态就可以完成。异核H-C和H-N的二维实验、三维实验都需要对C和N进行同位素标记。

1. **核磁共振样品制备时缓冲体系有什么要求？**

答：缓冲体系可以使用磷酸盐等溶剂分子不含H的体系，也可以使用Tris、MES等溶剂分子含氢的体系，对于有同位素标记的样品的二维和三维异核实验，含氢的体系影响不大。总体来说，PBS缓冲体系更适合做核磁共振分析。缓冲体系中总的盐离子浓度要低于300mM，如果要获得氨基氢的信息，pH值需要小于7.5，需要加入5%的重水用于锁场、匀场，加入内标物质用于化学位移校准。另外，根据样品的实际情况，蛋白酶抑制剂等其他添加剂都可以加。

1. **一维、二维和三维实验能够得到哪些信息？**

答：一维氢谱配合二维同核氢谱可以在不进行蛋白质标记的情况下，了解蛋白质整体折叠情况，样品是否聚集等。二维异核实验可以用于研究蛋白质和配体的相互作用，对于已有主链归属的情况下可以直接测得蛋白质分子的作用位点，对于没有主链归属的蛋白质分子，可以了解蛋白质分子是否与配体发生相互作用。三维的三共振实验主要用于主侧链化学位移归属，三维NOE实验主要用于获取空间结构信息，结合主侧链化学位移归属，可以进行三维结构计算。

1. **超低温探头能够做到多低的温度？**

答：有不少不太了解核磁共振的用户会问这个问题，这个问题是完全不成立的，超低温探头和实验温度没有任何关系，超低温探头是用冷的He对探头检测线圈降温，提高检测线圈检测的灵敏度，因此超低温探头的仪器灵敏度是相应常温探头的～4倍，超低温探头和实验温度无关，实验温度是由其他硬件控制。目前所有液体核磁共振的实验温度范围是4度～40度，需要注意的是低温时核磁共振的灵敏度也会降低，建议在样品温度的情况下尽量在较高的实验温度下进行。