

先導的若手NMRスペシャリスト育成プログラム 第3回研修会
2011年6月3日 琵琶湖リゾートクラブ

パルス実践2

古板 恭子
(阪大・蛋白研 PD)

Contents



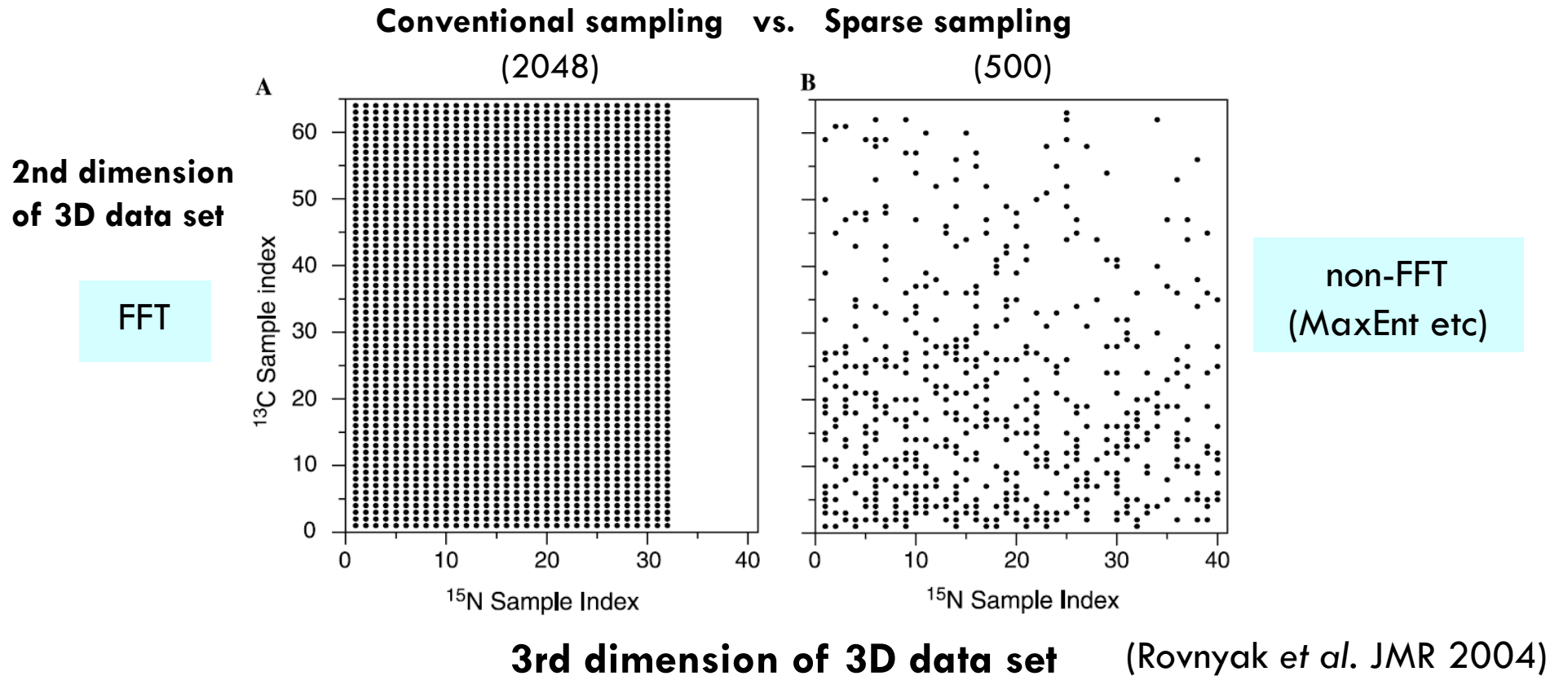
1. 非線形サンプリング

2. POMA

非線形サンプリング

How to use

非線形サンプリングとは



まだらに取って時間短縮！
FFTはできない。(代わりにMaxEnt, MDD, MFT等で解析)

非線形サンプリング実験に必要なもの

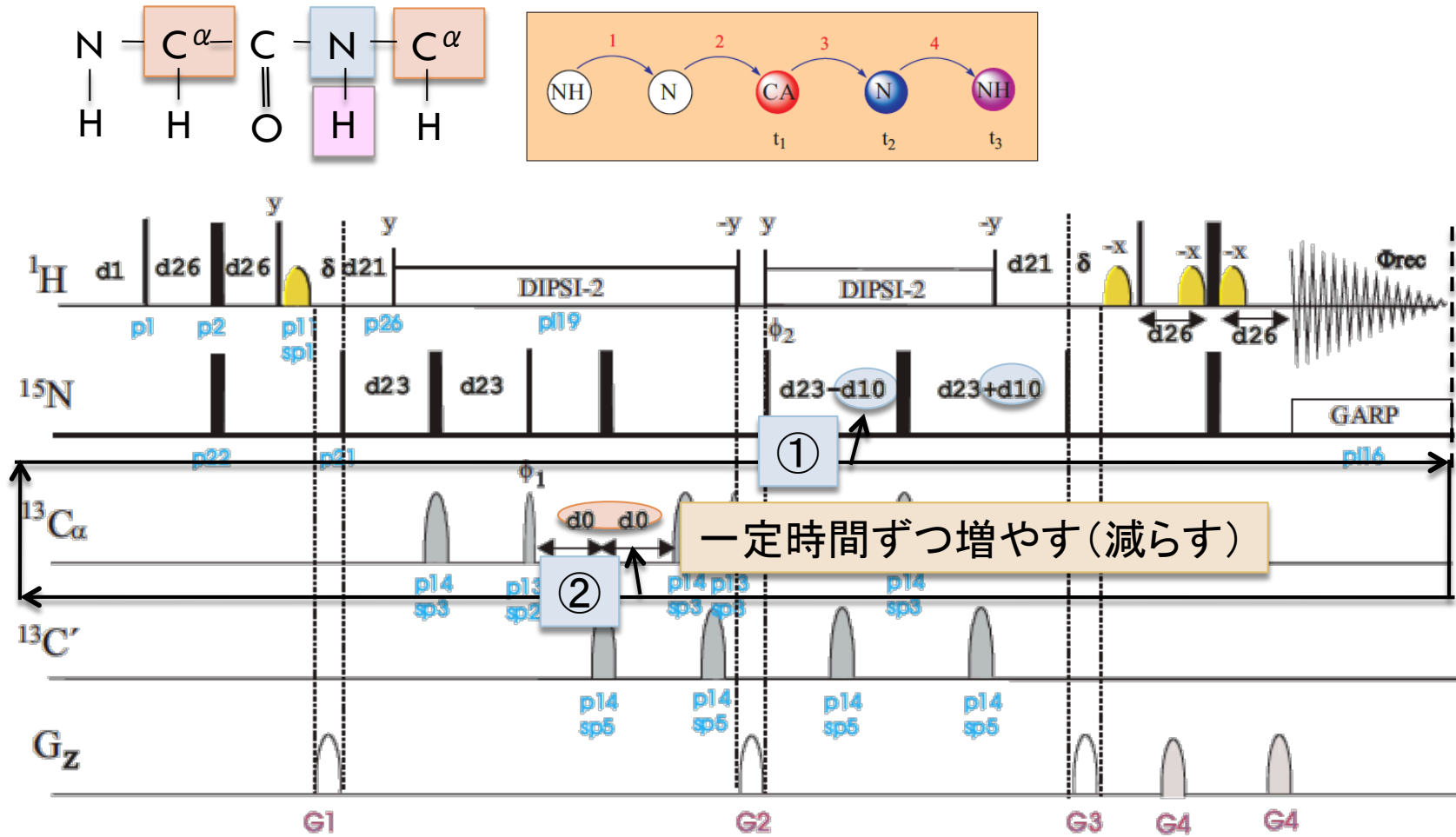


パルスプログラム
サンプリングスケジュール

解析ソフトウェア(MaxEnt, MDD, MFT)

パルスプログラム

Uniform Sampling HNCA



(Bruker ppcatalogueより)

パルスプログラム

Uniform Sampling HNCA

(前略)

```
1 d11 ze
  d11 pl16:f3
2 d11 do:f3
3 d1 pl1:f1
  p1 ph1
  d26 pl3:f3
(center (p2 ph1) (p22 ph1):f3 )
d26 UNBLKGRAD
(p1 ph2):f1

4u pl0:f1
(p11:sp1 ph1:r):f1
4u
p16:gp1
d16

(p21 ph3):f3
d21 pl19:f1
(p26 ph2):f1
DELTA1 cpds1:f1 ph1
(center (p14:sp3 ph1):f2 (p22 ph1):f3 )
d23
(p21 ph1):f3

(p13:sp2 ph4):f2
d0
(center (p14:sp5 ph1):f2 (p22 ph8):f3 )
d0
```

```
4u
(p14:sp3 ph1):f2
DELTA
(p14:sp5 ph1):f2
4u
(p13:sp8 ph1):f2

4u do:f1
(p26 ph7):f1
4u
p16:gp2
d16
(p26 ph2):f1
20u cpds1:f1 ph1

(p21 ph5):f3
d30
(p14:sp5 ph1):f2
d30
(center (p14:sp3 ph1):f2 (p22 ph8):f3 )
d10
(p14:sp5 ph1):f2
d29
4u do:f1
(p26 ph7):f1
d21
(p21 ph1):f3

p16:gp3
d16 pl0:f1
```

```
(p11:sp1 ph6):f1
4u
4u pl1:f1

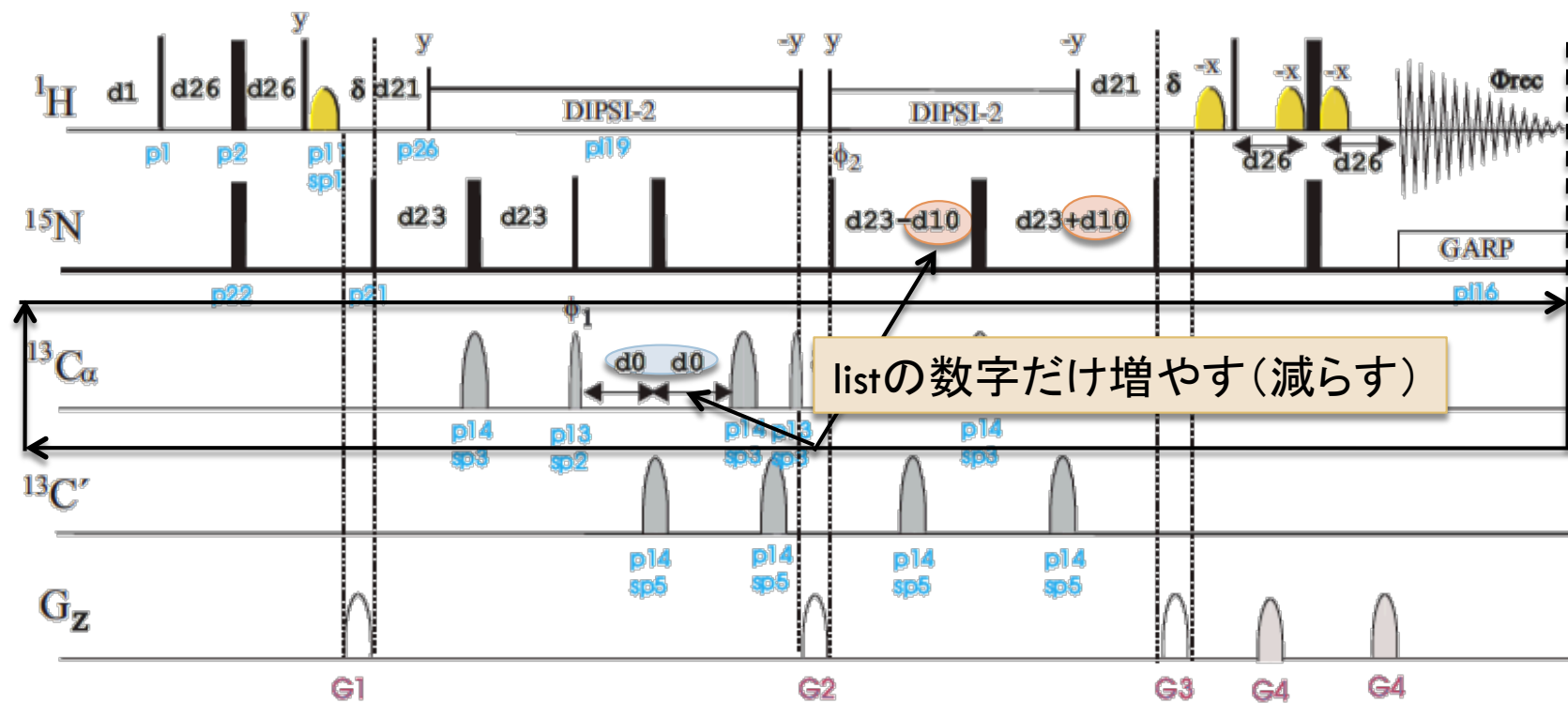
(p1 ph1)
4u
p16:gp4
d16
DELTA2 pl0:f1
(p11:sp1 ph6):f1
4u
4u pl1:f1
(center (p2 ph1) (p22 ph1):f3 )
4u pl0:f1
(p11:sp1 ph6):f1
4u
DELTA2
p16:gp4
d16 pl16:f3
4u BLKGRAD
go=2 ph31 cpd3:f3
d11 do:f3 mc #0 to 2
  F1PH(rd10 & rd29 & rd30 & rp5 & ip4, id0)
  F2PH(ip5, id10 & id29 & dd30)
exit

(後略)
```

(Bruker標準、hncagpwg3d)

パルスプログラム

Non Uniform Sampling HNCA



(Bruker ppcatalogueより)

パルスプログラム

※NUSパルスプログラムはWagner Lab
のweb siteからダウンロードできる。
(<http://gwagner.med.harvard.edu/>)

Uniform Sampling

```
go=2 ph31 cpd3:f3
d11 do:f3 mc #0 to 2
  F1PH(rd10 & rd29 & rd30 & rp5 & ip4, id0)
  F2PH(ip5, id10 & id29 & dd30)
exit
```

ひとつずつdelayを増やす(減らす)

非線形Sampling

```
go=2 ph31 cpd3:f3

d11 do:f3 wr #0 if #0 zd

;----- non-linear sampling starts -----
d12 ip5
lo to 3 times 2
d12 ip5*2

d12 ip4
lo to 4 times 2
d12 ip4*2
```

```
; ----- resetting everything -----
d12 rd0
d12 rd10
d12 rd30
d12 rp31
d12 rp5
d12 rp4
```

```
; ----- State-TPPI for slow dimension -----
95 d12 ip31*2
d12 ip5*2
d12 id10
d12 dd30
```

lo to 95 times c 95へ c 回ループ
d12 ivc vclist 次の行へ

```
; ----- State-TPPI for fast dimension -----
99 d12 ip31*2
d12 ip4*2
d12 id0
```

lo to 99 times c 99へ c 回ループ

d12 ivc
lo to 5 times 10 パルスの始めに戻る×
exit サンプルング回数(10)

vclistの数字(c)だけdelayを増やす(減らす)

サンプリングスケジュール

非線形サンプリングのためのvclistの例 (※Bruker)

maximum points 36/80

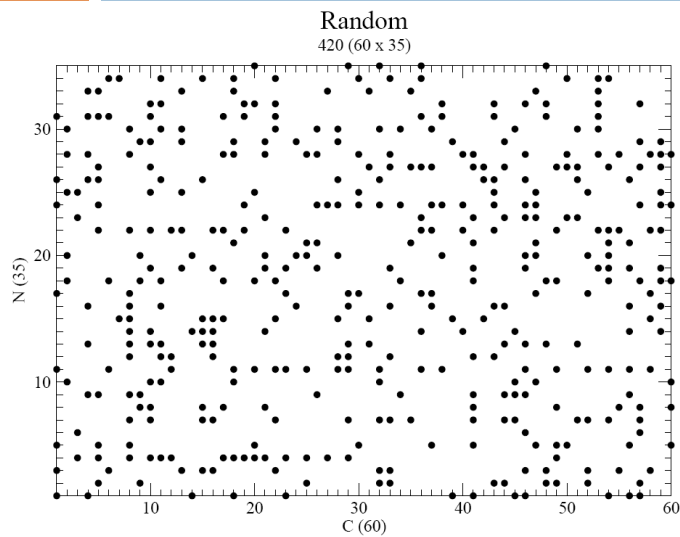
10
0
23
4
20
4
15
1
24
1
18
11
29
8
0
6
14
11
33
10
17
0
....

縦1列の数字の羅列

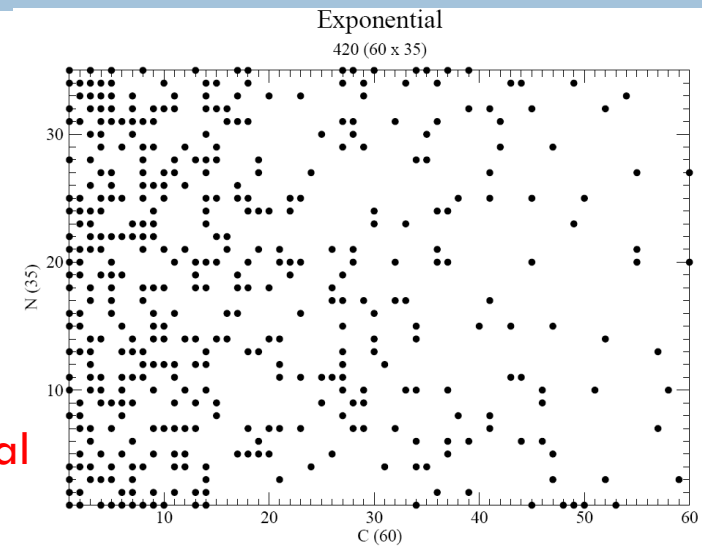
※アジレントでは2列

1 1
11 1
24 5
21 5
16 2
25 2
19 12
30 9
1 7
15 12
34 11
18 1
32 6
16 12
31 6
....

サンプリングスケジュール



Random

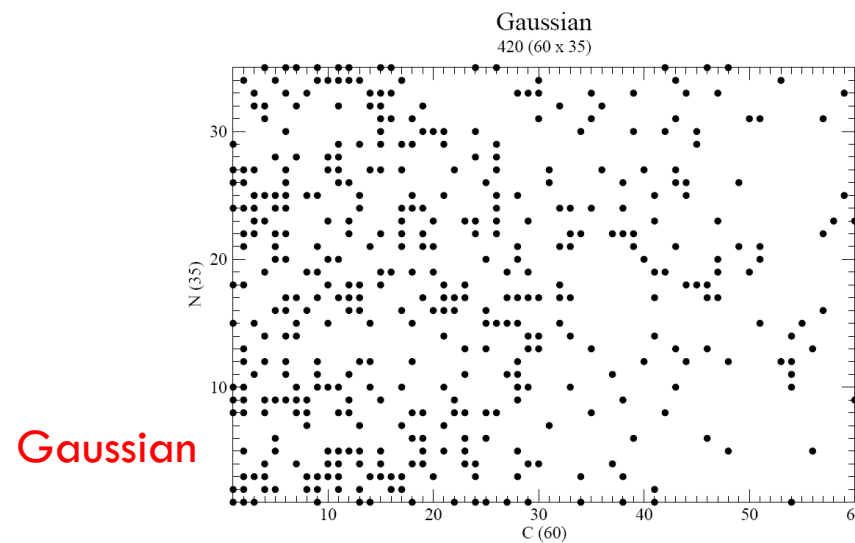


Exponential

resolution



sensitivity

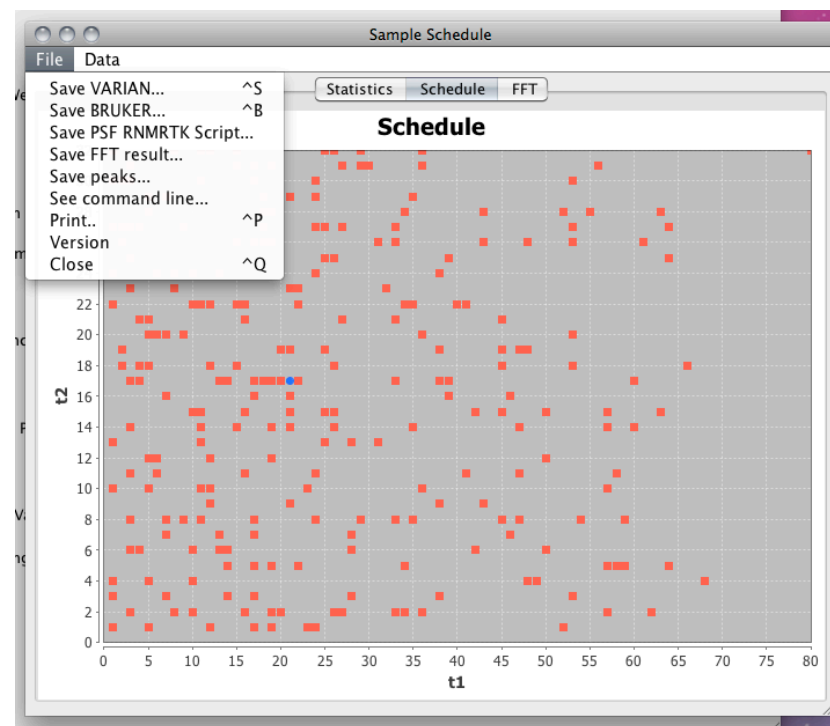
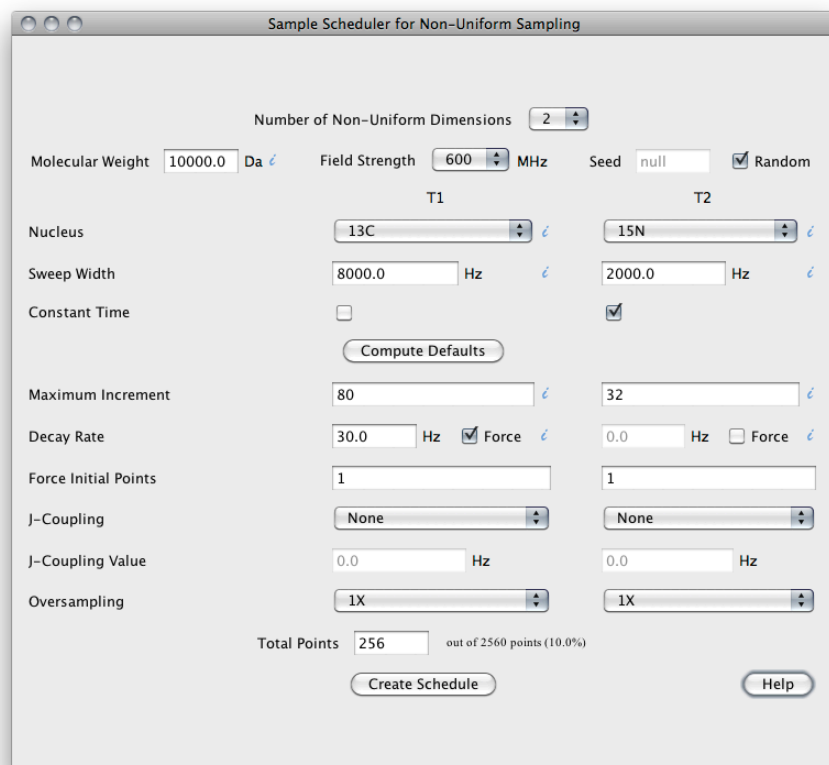


Gaussian

Kazmierczuk *et al.* (JBNMR 2006)
(MFT)

サンプリングスケジュールの簡単な作り方

Schedule tool (<http://sbtools.uchc.edu/nmr/>)



解析ソフトウェア

MaxEnt

- ◆ Rowland NMR toolkit (rnmrtk)
[<http://rnmrtk.uchc.edu/rnmrtk/RNMRTK>]
- ◆ Azara [<http://www.ccpn.ac.uk/azara>]
- ◆ NMRPipe

MDD

- ◆ mddNMR [<http://www.e-nmr.eu/mdd-portal>]
- ◆ Topspin 3.0

MFT

(Home-made)

rnmrtkのMaxEnt用スクリプトの例

```
#!/bin/sh
```

```
section -d
```

```
section -c 2048 128 256
```

```
cat << EOF > fid.par
```

```
Format little-endian int-32
```

```
DOM t1 t2 t3
```

```
N 240 C 1 C 1536 C
```

```
SW 3636.364 7692.308 15243.902
```

```
SF 96.3074659 238.9735729 950.3344648
```

```
PPM 118.024 56.667 4.698
```

```
QUAD STATES STATES STATES
```

```
EOF
```

```
cat << EOF > msa2d.par
```

```
DEBUG 1
```

```
NLOOPS 40
```

```
DEF 10.0
```

```
LAMBDA 1.0
```

```
SCALEFIRST 0.5
```

```
SCHED 2d.sched
```

```
NOUT 64 128
```

```
PHASE 0.0 0.0 0.0 0.0
```

```
LW 0.0 0.0
```

```
JVALUE 0.0 0.0
```

```
EOF
```

```
rnmrtk << EOF
```

```
load fid.dat
```

```
dim t3
```

```
sstdc
```

```
fidpbc 5
```

```
sinebell shift 2
```

```
zerofill 2048
```

```
fft 0.5
```

```
phase 29.0 24474.3
```

```
reverse
```

```
realpart
```

```
shrink 638 284
```

```
shell "msa2d t1 t2 msa2d.par"
```

```
dim f2
```

```
phase abs 0.0 0.0
```

```
realpart
```

```
dim f1
```

```
phase abs 0.0 0.0
```

```
realpart
```

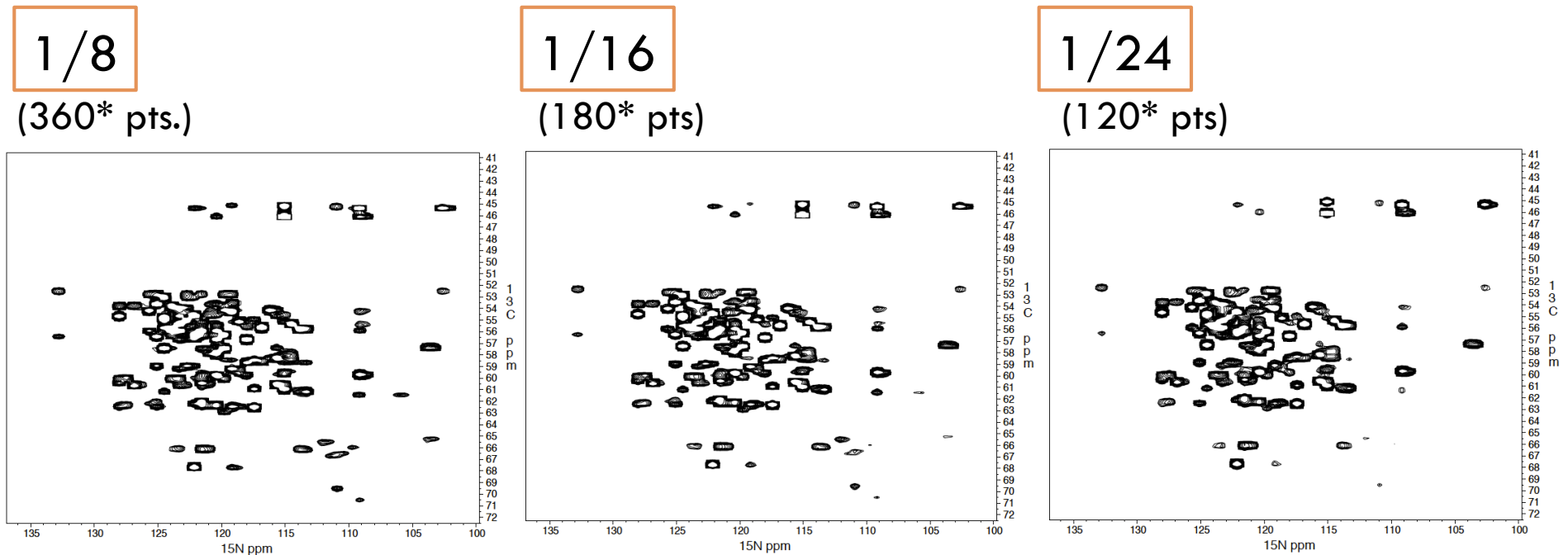
```
putnmrpipe test.ft3
```

```
EOF
```

```
section -d
```

測定例

- Full data points in the indirect sampling space: $80 * (^{13}\text{C}) \times 36 * (^{15}\text{N}) = 2880$ complex pts.



$^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 2D projections of 3D HNCA spectra of 1 mM $[^{13}\text{C},^{15}\text{N}]$ -labeled ubiquitin measured by using sparse sampling method, and processed by Rowland NMR Toolkit (MaxEnt).

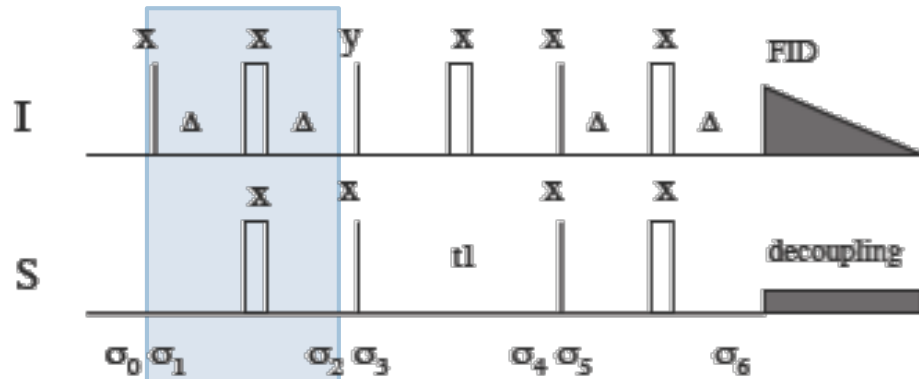


POMA

パルスをくむときに便利なソフトウェア

プロダクトオペレータの計算

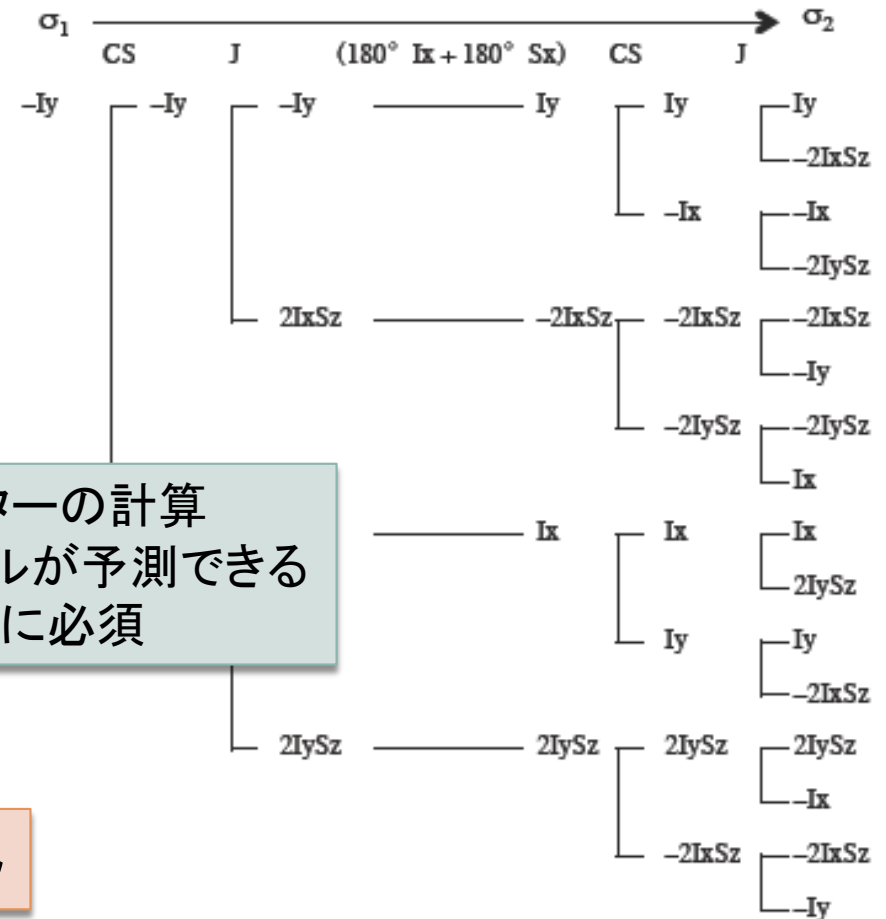
HSQC



- $I_y \cos\omega\Delta \cos\pi J\Delta \cos\omega\Delta \cos\pi J\Delta$
- $-2I_x S_z \cos\omega\Delta \cos\pi J\Delta \cos\omega\Delta \sin\pi J\Delta$
- $-I_x \cos\omega\Delta \cos\pi J\Delta \sin\omega\Delta \cos\pi J\Delta$
- $-2I_y S_z \cos\omega\Delta \cos\pi J\Delta \sin\omega\Delta \sin\pi J\Delta$
- $-2I_x S_z \cos\omega\Delta \sin\pi J\Delta \cos\omega\Delta \cos\pi J\Delta$
- $-I_y \cos\omega\Delta \sin\pi J\Delta \cos\omega\Delta \sin\pi J\Delta$
- $-2I_y S_z \cos\omega\Delta \sin\pi J\Delta \sin\omega\Delta \cos\pi J\Delta$
- $I_x \cos\omega\Delta \sin\pi J\Delta \sin\omega\Delta \sin\pi J\Delta$
- $I_x \sin\omega\Delta \cos\pi J\Delta \cos\omega\Delta \cos\pi J\Delta$
- $2I_y S_z \sin\omega\Delta \cos\pi J\Delta \cos\omega\Delta \sin\pi J\Delta$
- $I_y \sin\omega\Delta \cos\pi J\Delta \sin\omega\Delta \cos\pi J\Delta$
- $-2I_x S_z \sin\omega\Delta \cos\pi J\Delta \sin\omega\Delta \sin\pi J\Delta$
- $2I_y S_z \sin\omega\Delta \sin\pi J\Delta \cos\omega\Delta \cos\pi J\Delta$
- $-I_x \sin\omega\Delta \sin\pi J\Delta \cos\omega\Delta \sin\pi J\Delta$
- $-2I_x S_z \sin\omega\Delta \sin\pi J\Delta \sin\omega\Delta \cos\pi J\Delta$
- $-I_y \sin\omega\Delta \sin\pi J\Delta \sin\omega\Delta \sin\pi J\Delta$

プロダクトオペレーターの計算
 →得られるスペクトルが予測できる
 →パルスを組むときに必須

とてもたいへん



POMA

POMA - Product Operator formalism in Mathematica

★パルスプログラムを入力すると、プロダクトオペレーターを計算してくれるソフトウェア

★無料だけど、Mathematicaが必要

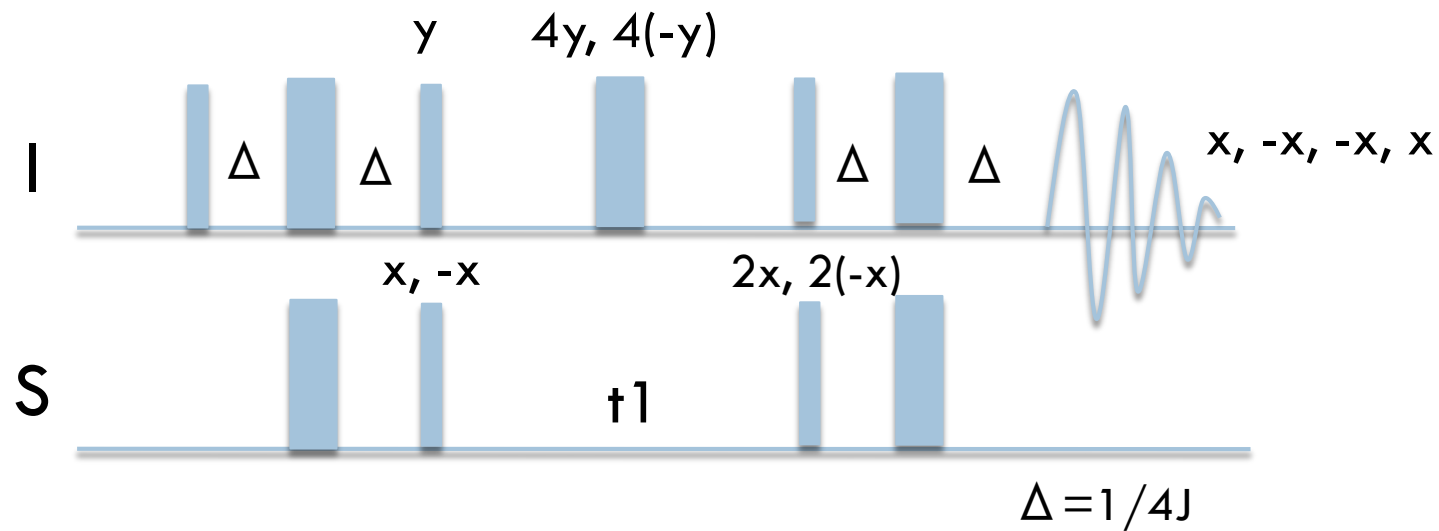
References

Güntert, P. Symbolic NMR product operator calculations. *Int. J. Quant. Chem.* 106, 344–350 (2006)

Güntert, P., Schaefer, N., Otting, G. & Wüthrich K. POMA, a complete Mathematica implementation of the NMR product operator formalism. *J. Magn. Reson. A* 101, 103–105 (1993)

POMAによる計算例 1

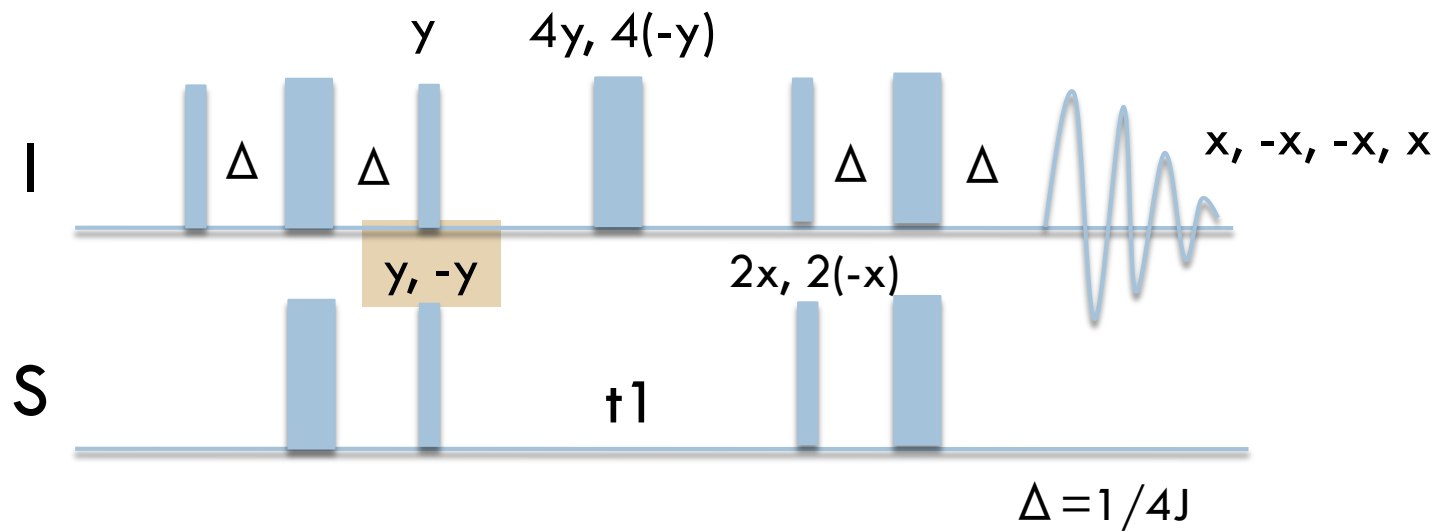
HSQC(位相サイクルつき)



POMAによる計算例 2

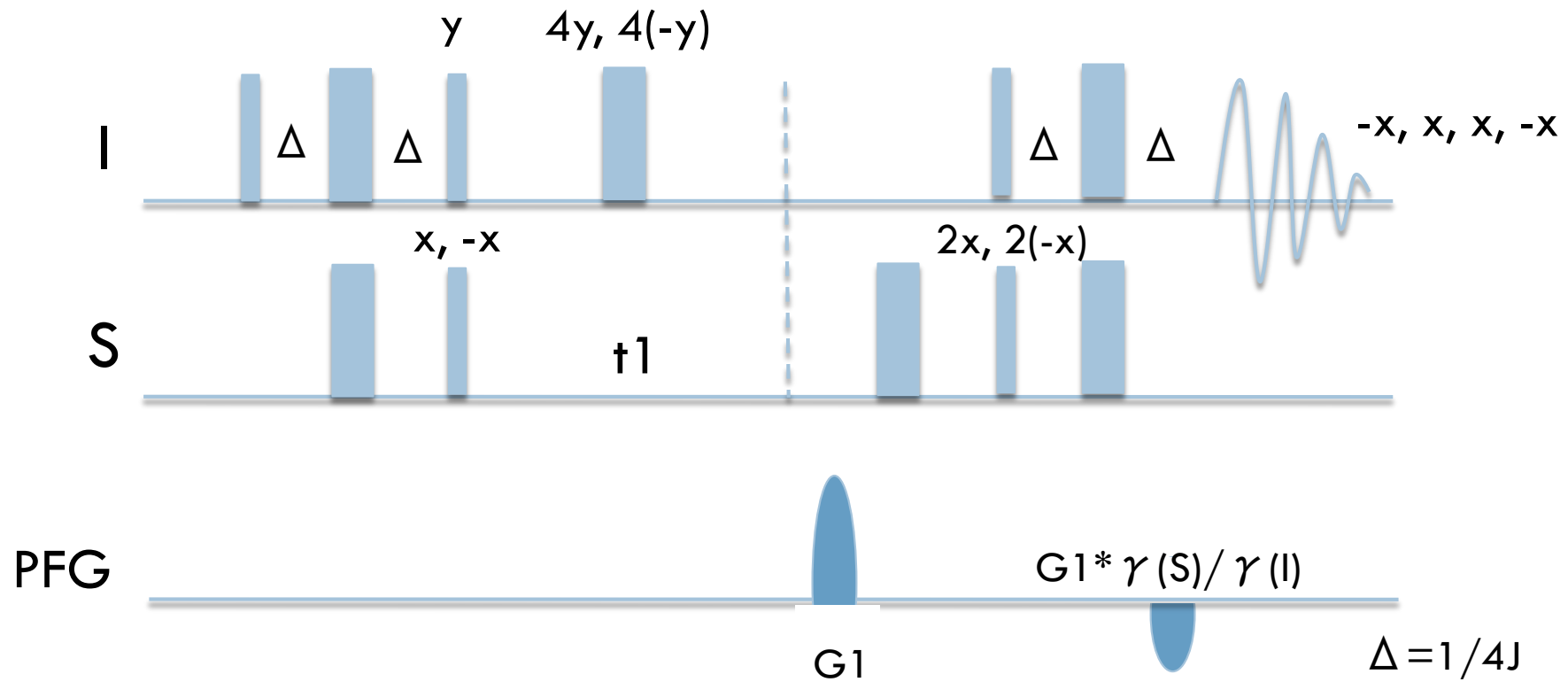
HSQC(位相サイクルつき)

States-TPPIだと?



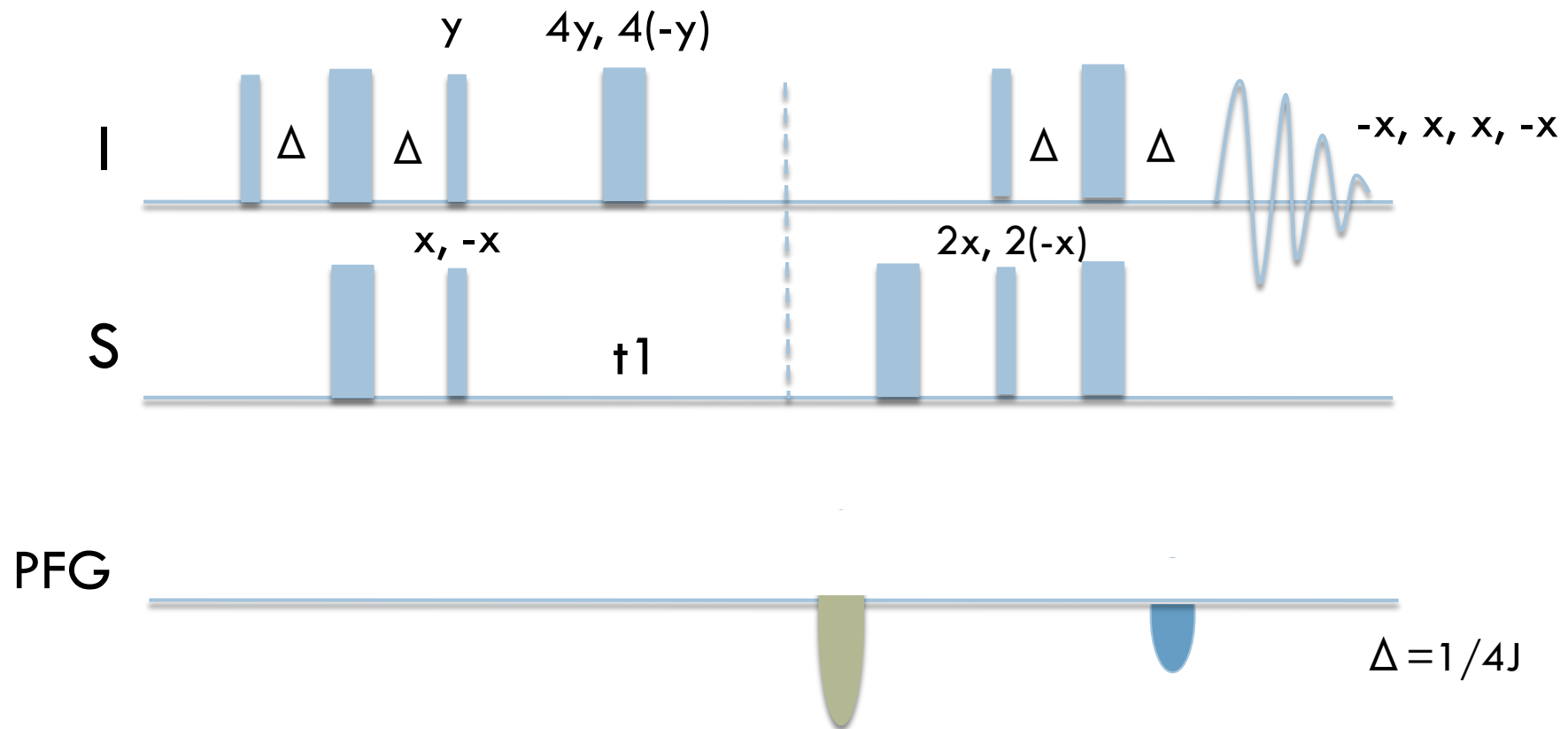
POMAによる計算例 3

HSQC (gradient coherence selection, echo-antiecho)



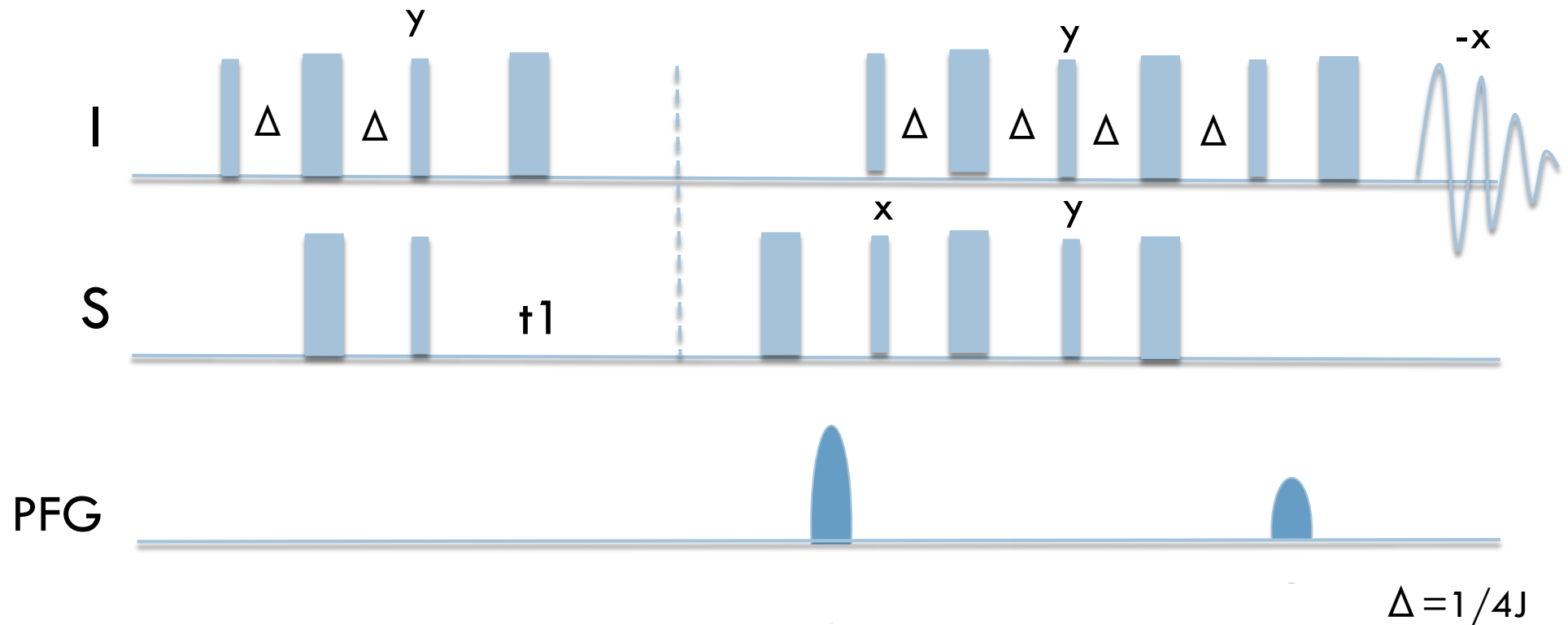
POMAによる計算例 3

HSQC (gradient coherence selection, echo-antiecho)



POMAによる計算例 4

Gradient sensitivity enhanced HSQC



POMAによる計算例 4

Gradient sensitivity enhanced HSQC

