



**不均一サンプリング法を利用した
NMR 分解能の向上**

**日本生物物理学会 北海道支部 講演会
2014年1月20日(月)
北海道大学理学研究科**

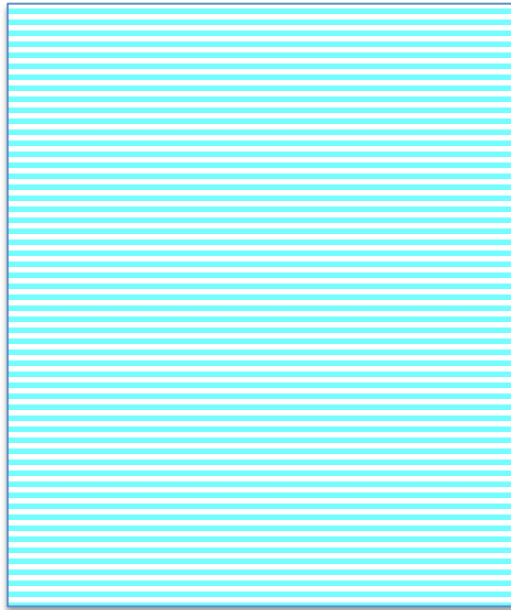
**大阪大学蛋白質研究所
構造プロテオミクス研究系
池上貴久**

NMR のスペクトルは次元数を 3次元 4次元と増やす程にシンプルになりますが、**それだけ測定時間が長くなるので、各次元の分解能は落とさざるを得ません。**

しかし、間接測定を飛び飛びにサンプリングし、**フーリエ変換ではなく最大エントロピー法**を使ってプロセスすることにより、この分解能の問題点をかなり克服することができます。

今回はこの **non-uniform sampling (NUS)** について、どのような場合に使うと得をするのか（あるいは損をするのか）について考えてみたいと思います。

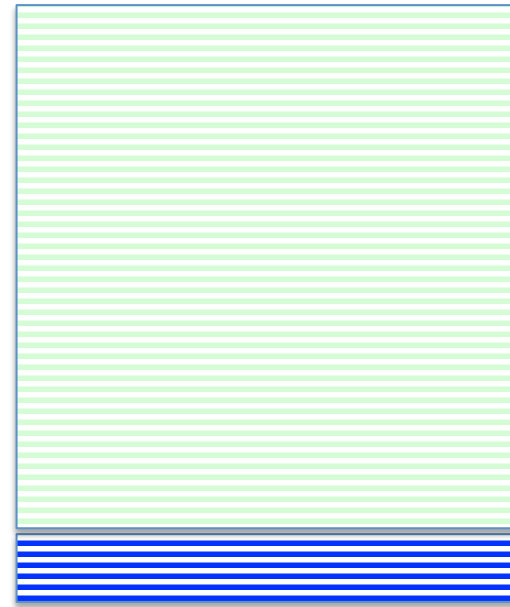
測定時間が同じになるように、間接測定軸のサンプリング数 TD を減らし、その代わりに積算回数 NS を増やした。
得？ それとも 損？



^{15}N 軸の interferogram

^1H 軸の FID

NS = 1
TD = 2,560

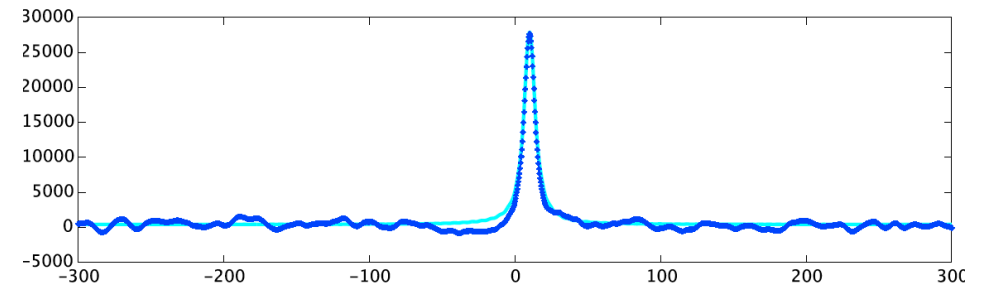
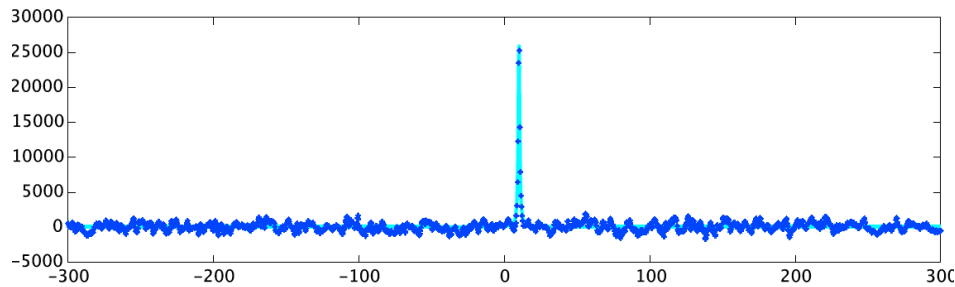
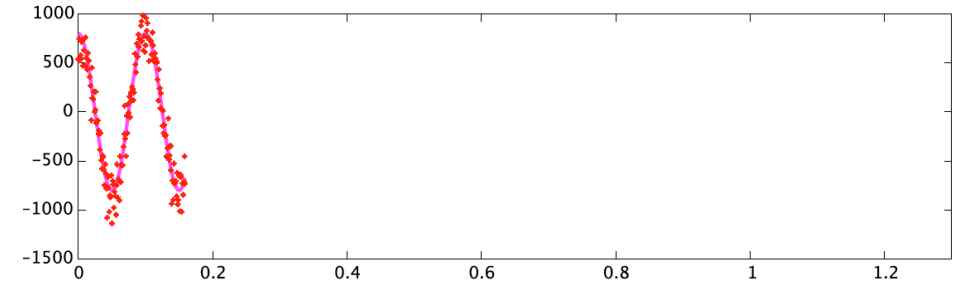
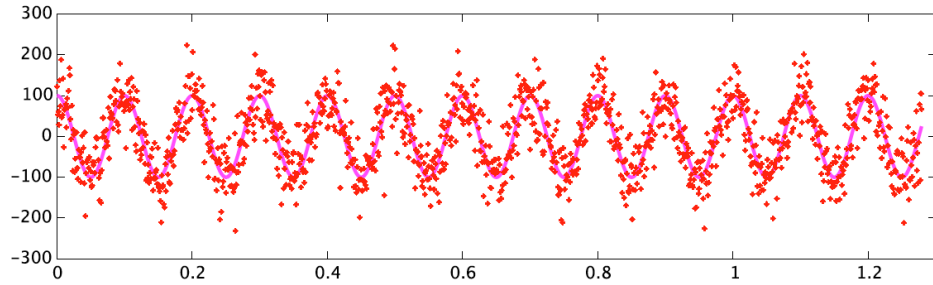


^{15}N 軸の interferogram

^1H 軸の FID

NS = 8
TD = 320

Interferogram は constant-time (横緩和は無し) とする。



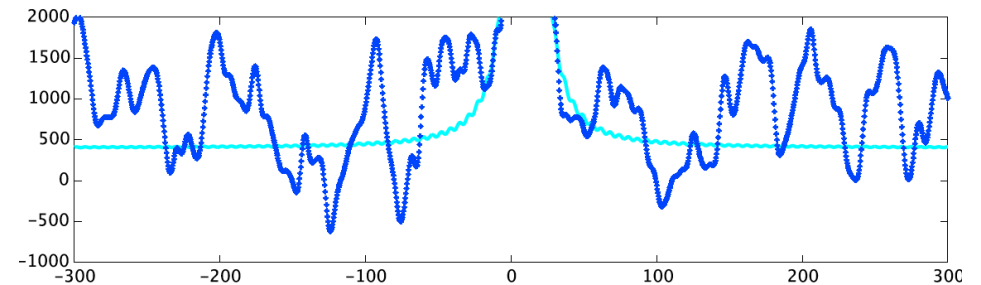
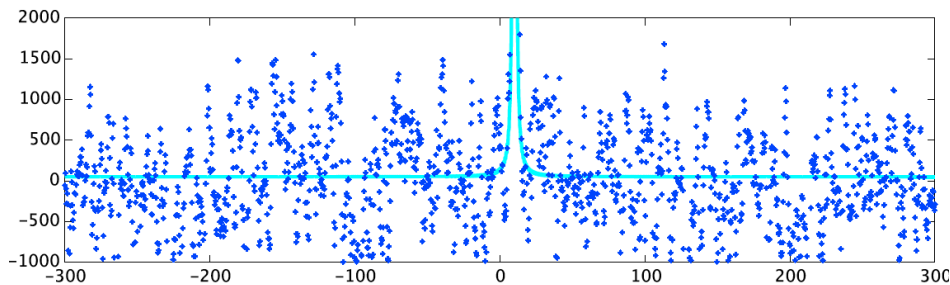
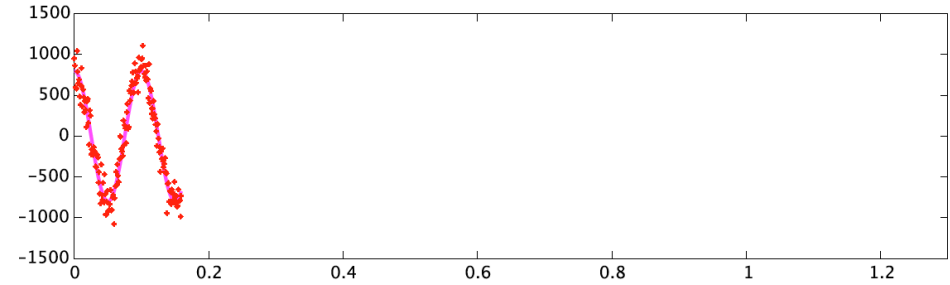
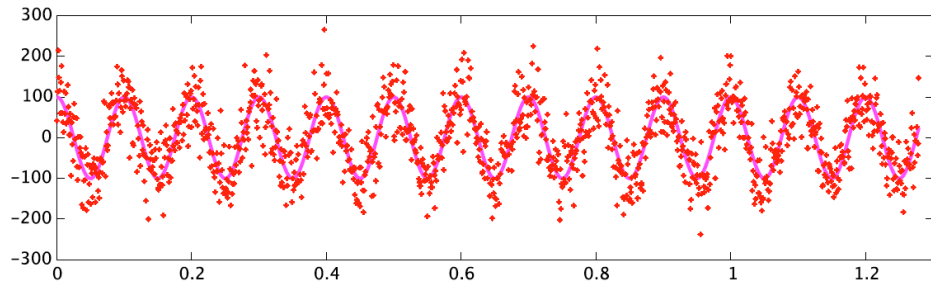
NS = 1
TD = 2,560

NS = 8
TD = 320

interferogram が短いので
ピークは幅広になるが

interferogram のノイズ (NS=8) は $1/\text{root}(8)=35\%$ に減っているはず。では、スペクトルのノイズは？

ノイズの部分を拡大してみると、その大きさは同じ程度のように。



NS = 1
TD = 2,560

interferogram のノイズ : 53
スペクトルのノイズ : 578

NS = 8
TD = 320

ピークもノイズもともに広
幅になっているが、S/N
は同じ。

interferogram のノイズ : 146
スペクトルのノイズ : 584
($146/\sqrt{8} = 52$)

感度 sensitivity とは？

信号強度 (S) = Window 関数を使った後の FID, interferogram の体積

$$\text{感度 (S/N)} \propto \sqrt{N_s} \sqrt{T_d}$$

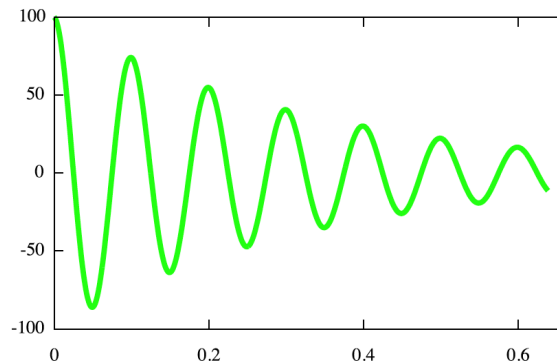
積算回数を 2 倍にすると、感度は $\sqrt{2}$ 倍になる。

しかし、測定時間も 2 倍になってしまう。

測定時間を同じにするためには、サンプリング数を半分にしないといけない。
すると、感度は $1/\sqrt{2}$ 倍になってしまう。

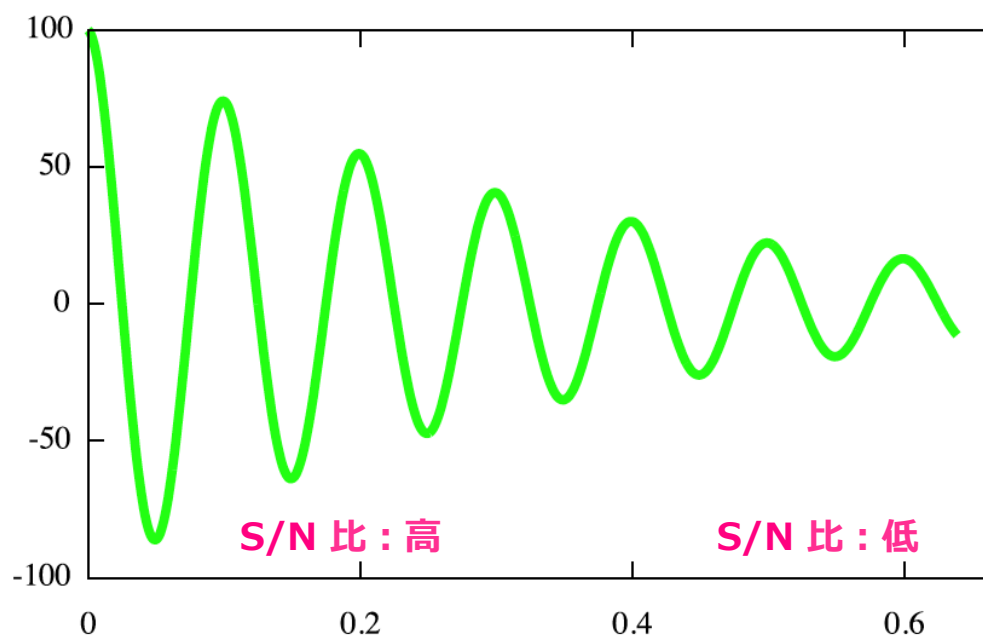
したがって、測定時間が同じであれば、感度は一定である。

$$\begin{aligned} N_s &= 8 \\ T_D &= 256 \end{aligned}$$



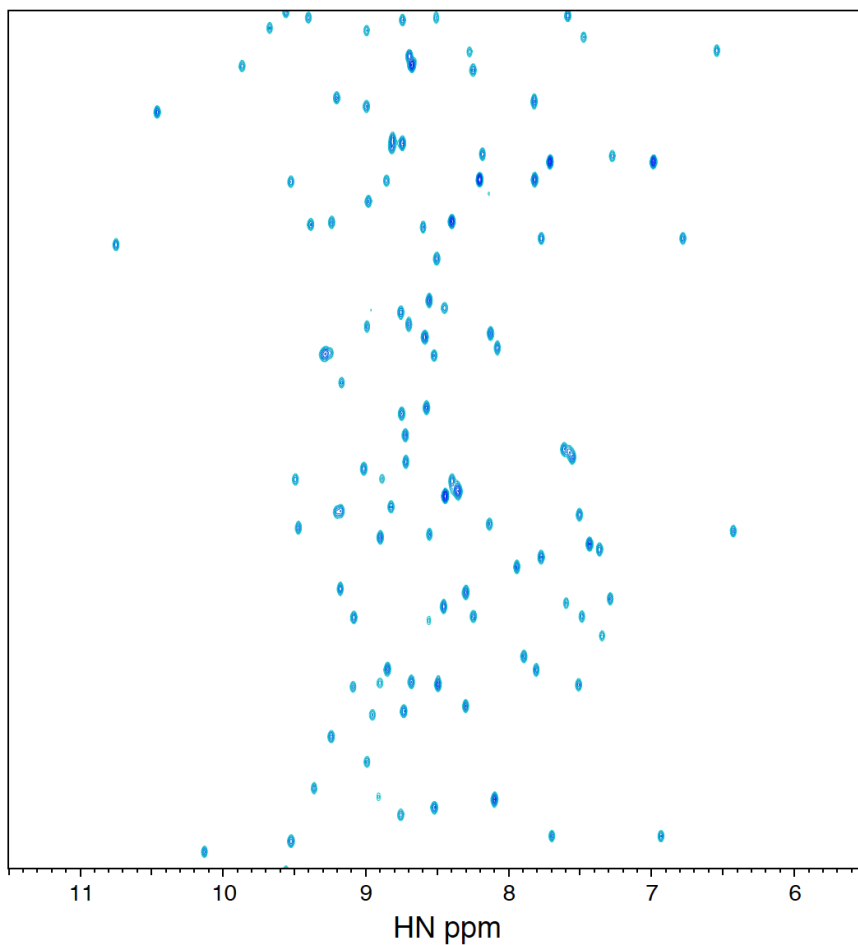
$$\begin{aligned} N_s &= 16 \\ T_D &= 128 \end{aligned}$$

もし、緩和が無い場合、
NS=8, sampling=16 と
NS=2, sampling=64 とは
同じ S/N 比になる。
実際には、緩和が存在するので、前者の方が S/N が高くなる。



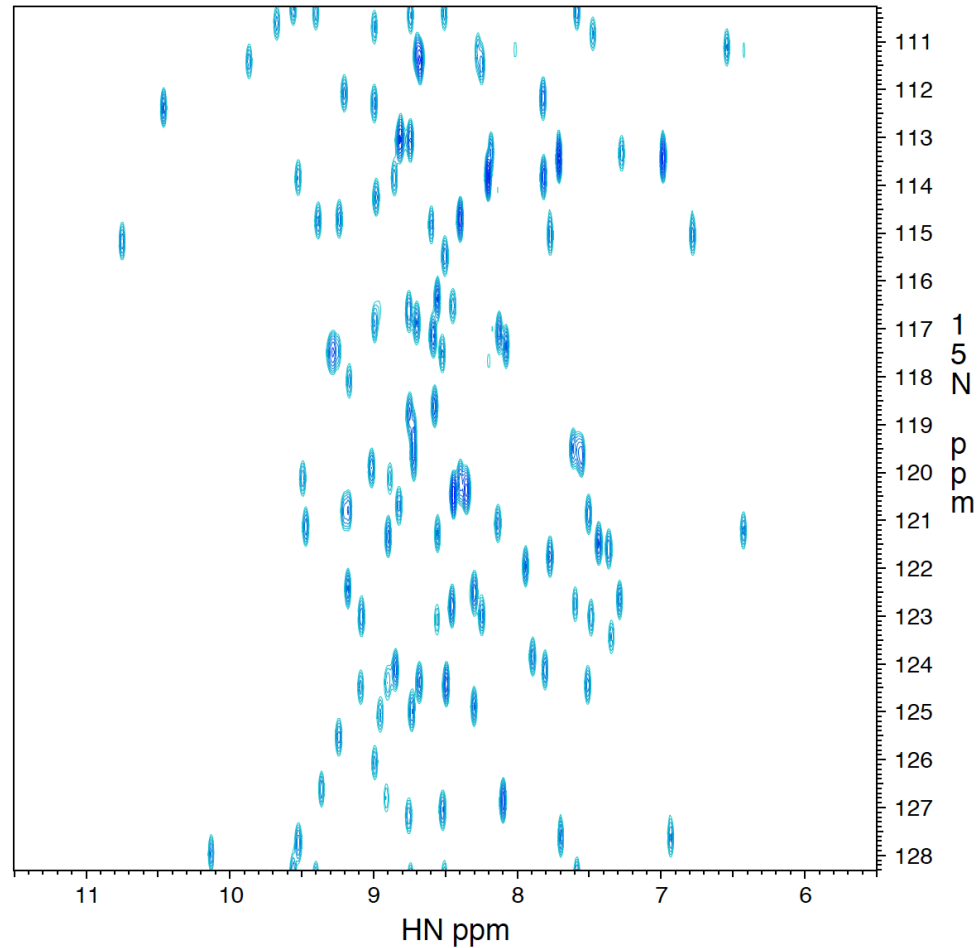
(緩和が在る場合) interferogram の後ろになる程、信号強度が弱まる。一方、ノイズの量は interferogram の何処でも同じ。したがって、interferogram の前ほど、S/N 比が高い。

両者ともに 30 分の測定時間



NS = 4
TD = 256

S/N → 304



NS = 16
TD = 64

S/N → 335

クイズ1

昨日 24 hr かけて野生体の HNCACB を測りました。NS=8 でしたので、何とか解析できるぎりぎりの感度でした。今日は変異体の HNCACB を測るつもりです。

ところが、濃縮の最中に試料をこぼしてしまい、変異体の濃度が $1/3$ になってしまいました。なんとか同じ質の HNCACB を得るには、測定時間をどのくらい延ばせばよいでしょうか？

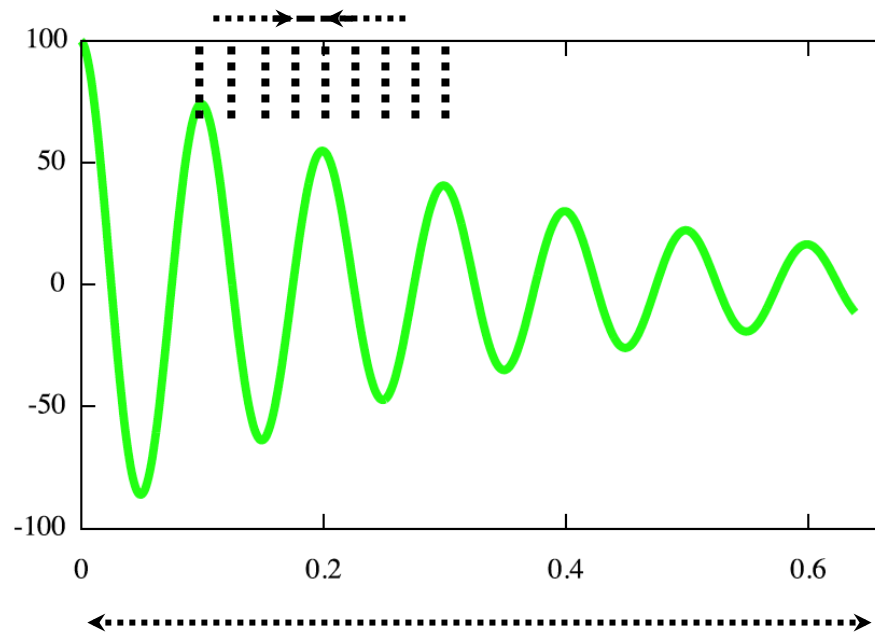
クイズ2

変異体の 2D-COSY をやっと測り終わりました。後は野生体の reference を測るだけです。ところが、先生が 500MHz-NMR のプローブを折角の inverse から異種核用に交換してしまいました。業者に ^1H の感度を尋ねてみたところ、inverse は 600 なのに対して、異種核用は 300 とのことでした。今からプローブを元に戻しても良いのですが、交換の仕方をよく知りません（もう 11pm だし）。それでは、NS を何倍にすれば、同じ質のデータが得られるでしょうか？

FID (interferogram) を長く検出する程、高分解能が得られる

$$acquisition\ time = \frac{point\ number}{spectral\ width} = \frac{1}{resolution}$$

サンプリング間隔 = 1 / スペクトル幅



観測時間 (acquisition time) = 1 / 分解能

測定時間を延ばさずに、もっと分解能を上げる方法はないか？

積算回数

サンプリング数

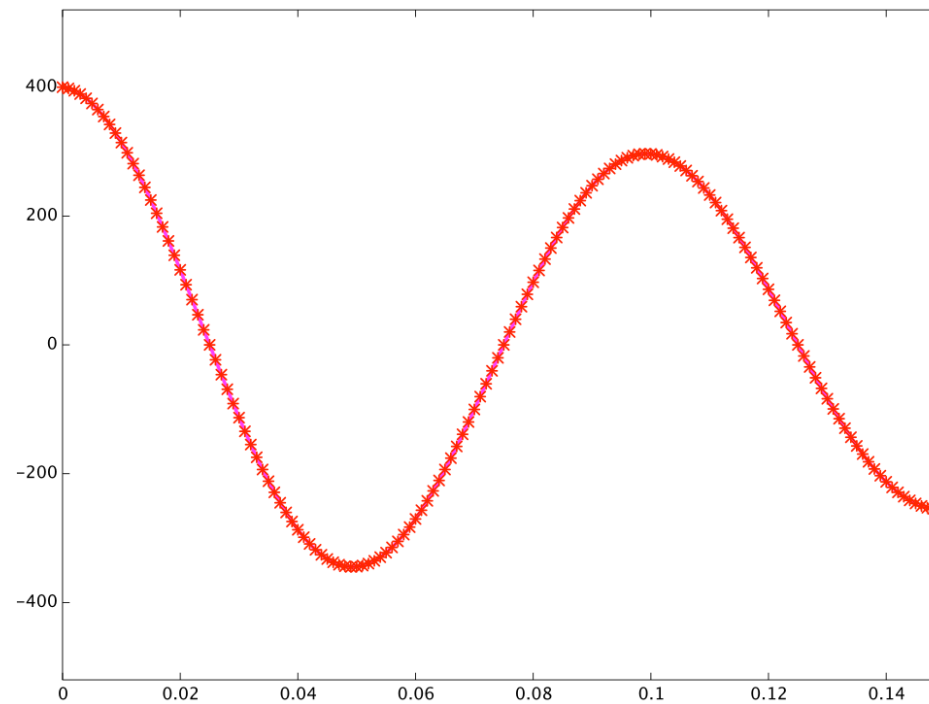
同じ測定時間

$$\text{感度 (S/N)} \propto \sqrt{N_s} \sqrt{T_d}$$

- 積算回数 N_s を減らして、サンプリング数 T_d を増やす。
- サンプリング間隔を延ばす → スペクトル幅を狭める。
- 不等間隔に遠くまでサンプリングする。

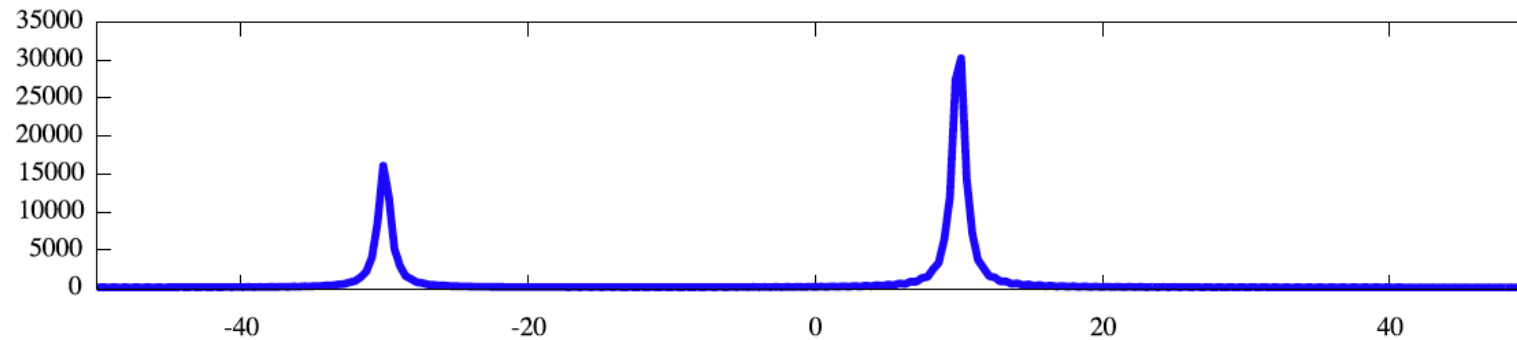
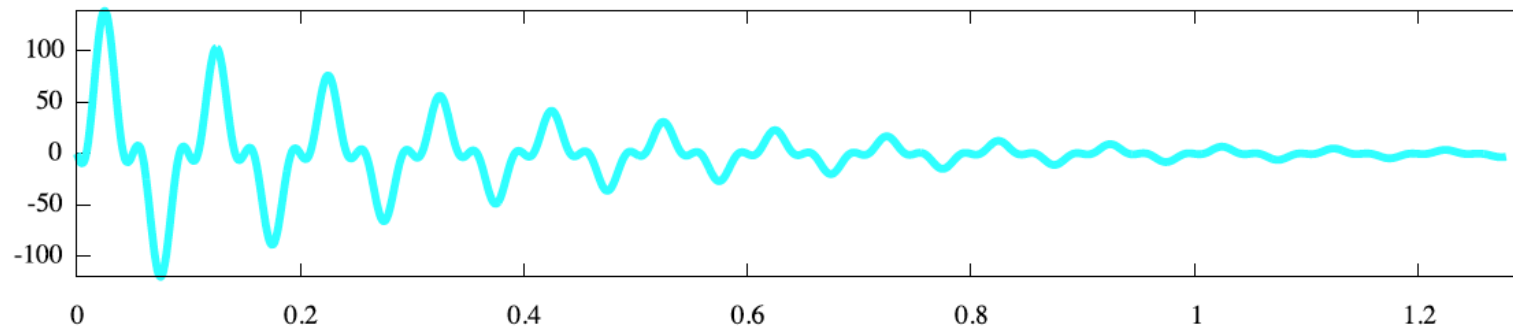
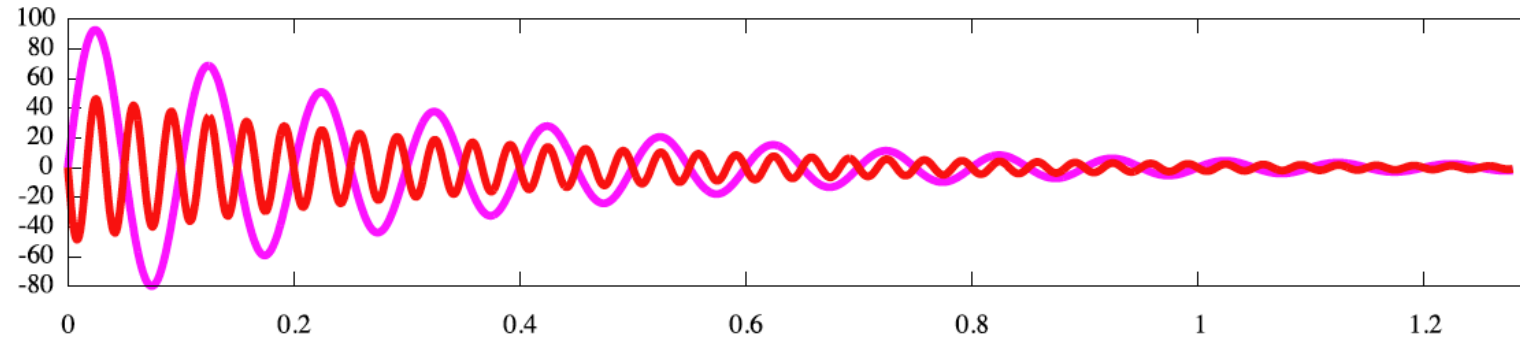
Non-linear sampling Non-uniform sampling (NUS)

従来法とは異なり、等間隔では検出（サンプリング）しない。



FFT が使えない → MEM を使う。

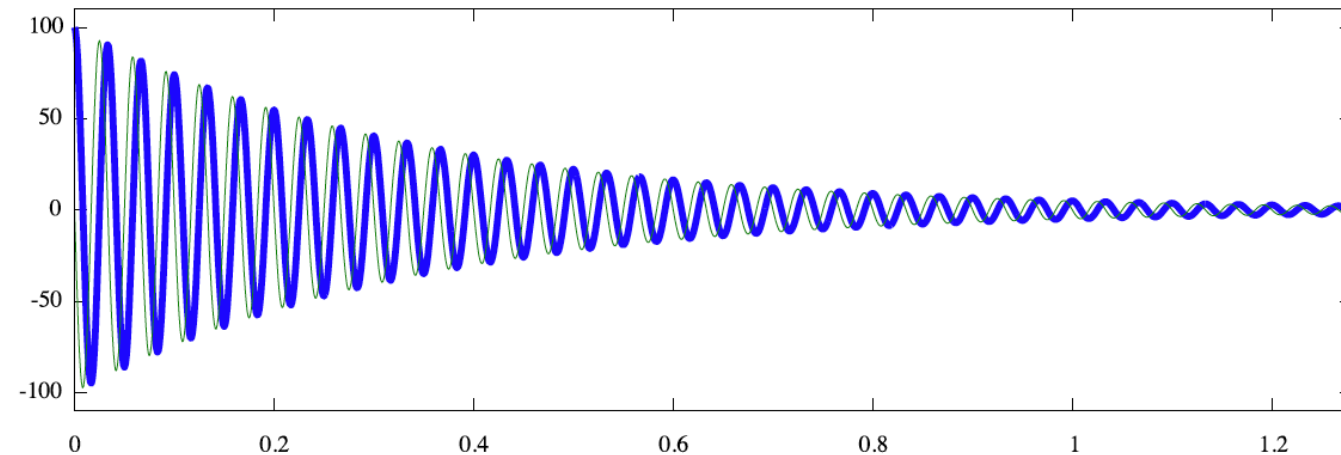
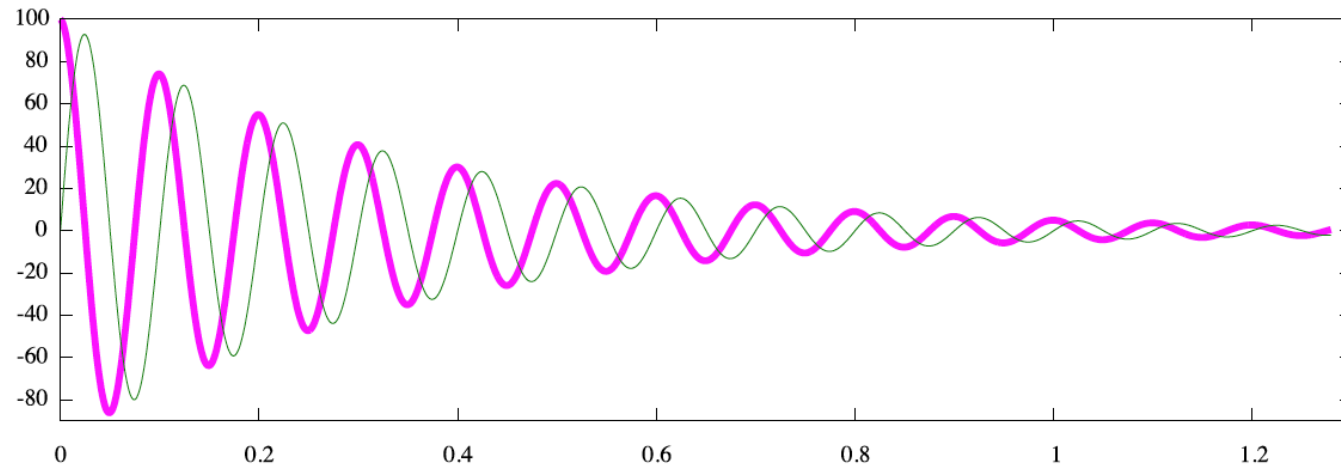
1秒間に 10 回 と -30 回（逆向き）の回転があると….



10 Hz と -30Hz の位置にピークが出た。

$$S(\nu) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t) \exp(-i\omega t) dt$$

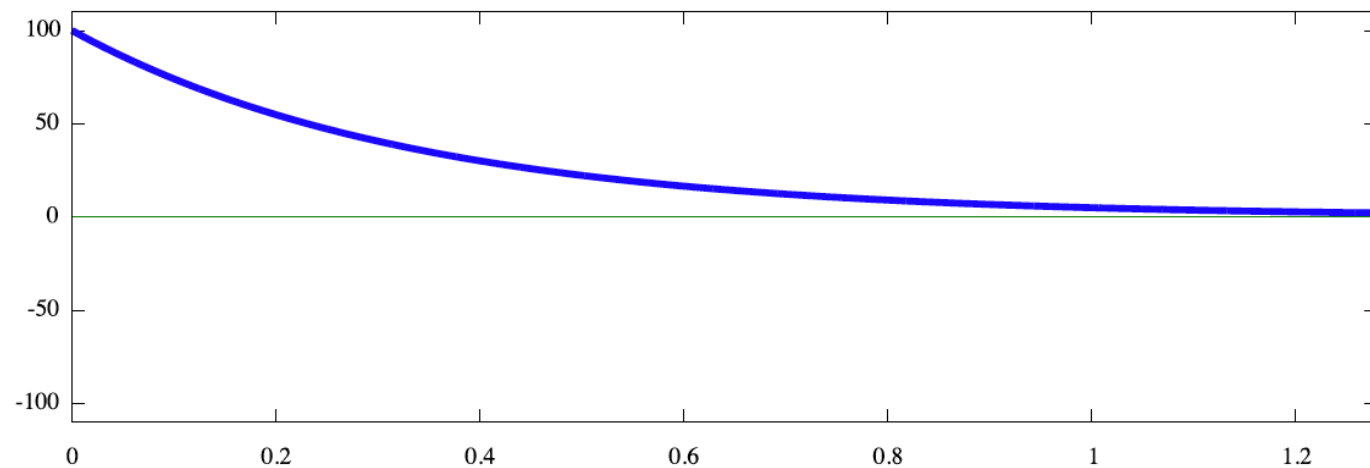
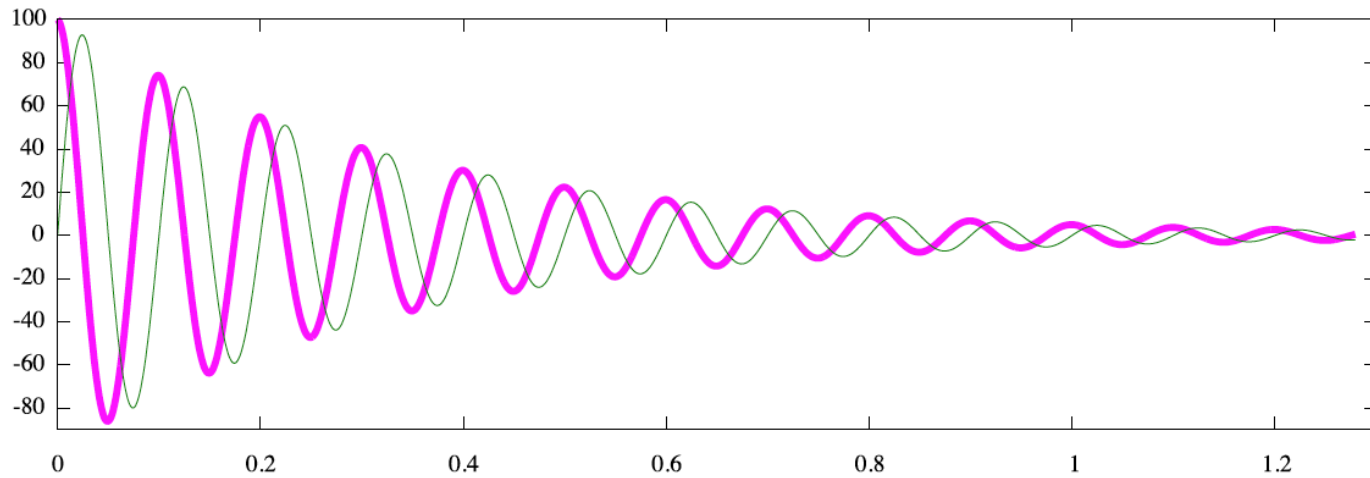
毎秒 10 回の回転の方だけ、毎秒 40 回転で巻き戻してみよう。



$\exp(i * 40 * t)$ で割ることは、40 Hz で巻き戻すことと同じ。

$$S(\nu) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t) \exp(-i\omega t) dt$$

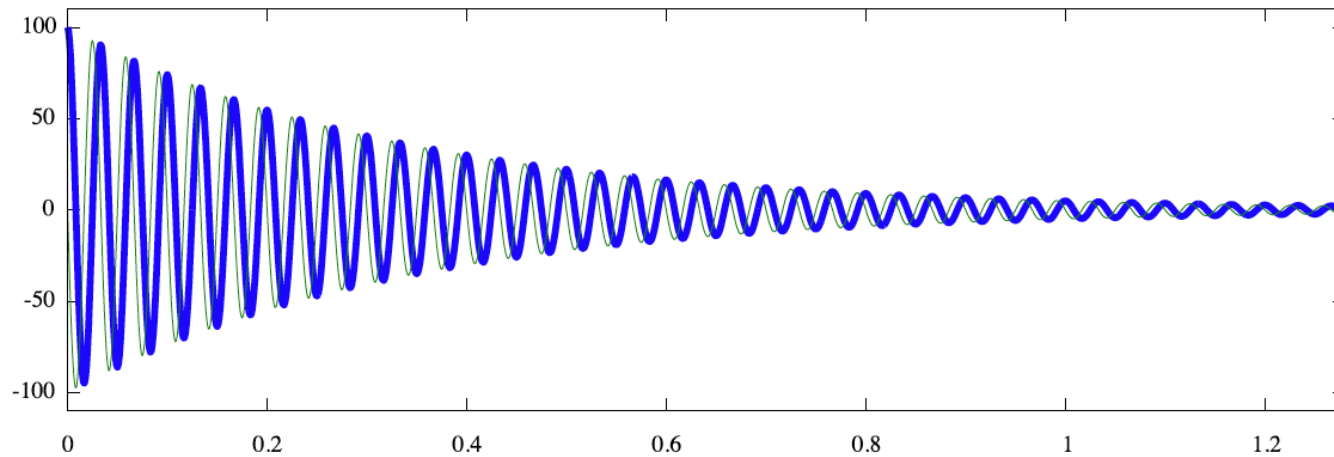
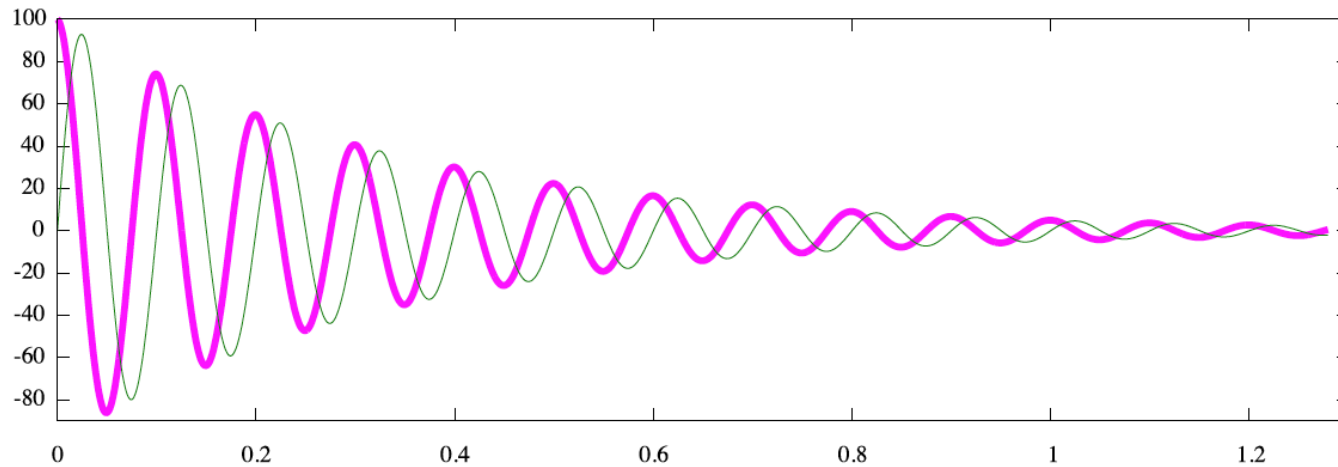
それでは、毎秒 10 回転で巻き戻してみれば …



振動が消え去って、積分値（面積）は0ではなくなった。

$$S(\nu) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t) \exp(-i\omega t) dt$$

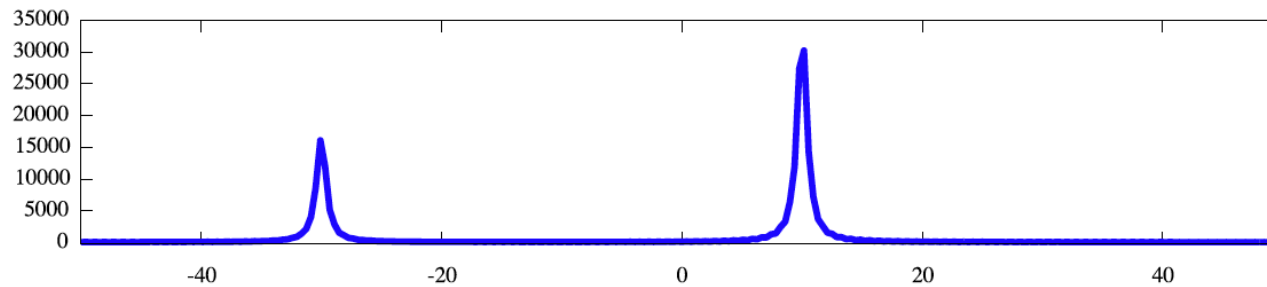
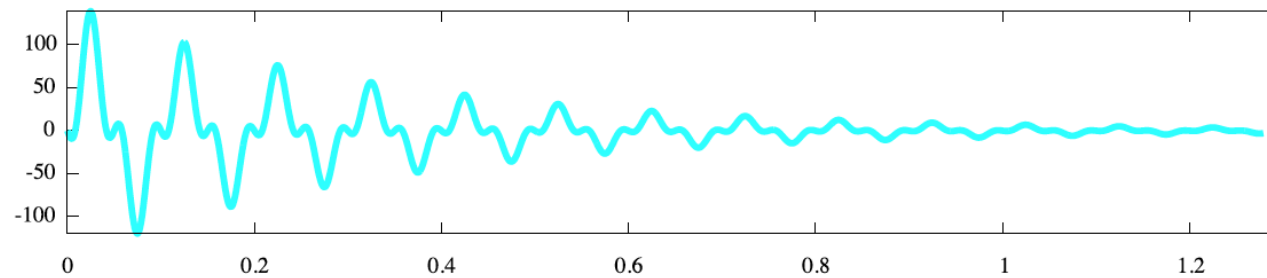
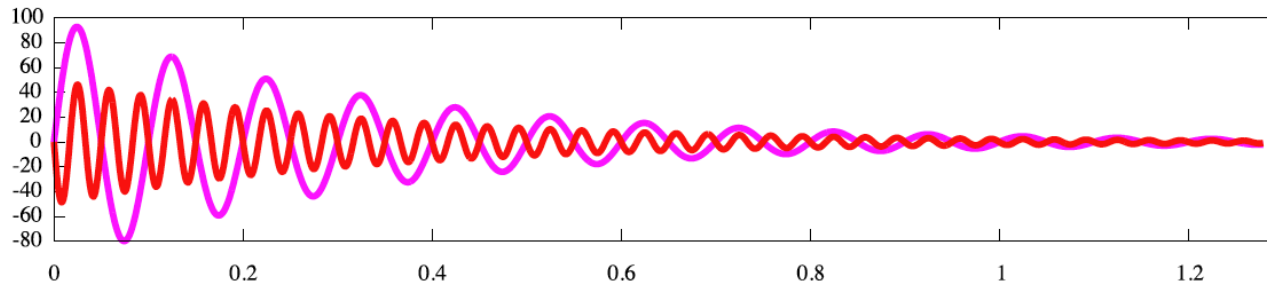
毎秒 10 回の回転の方だけ、毎秒 40 回転で巻き戻してみよう。



NUS の場合、この積分値は 0 にならないだろう。

NUS では fast-フーリエ変換 (FFT) が使えない。

→ 最大エントロピー法 (Maximum entropy method, MEM) など



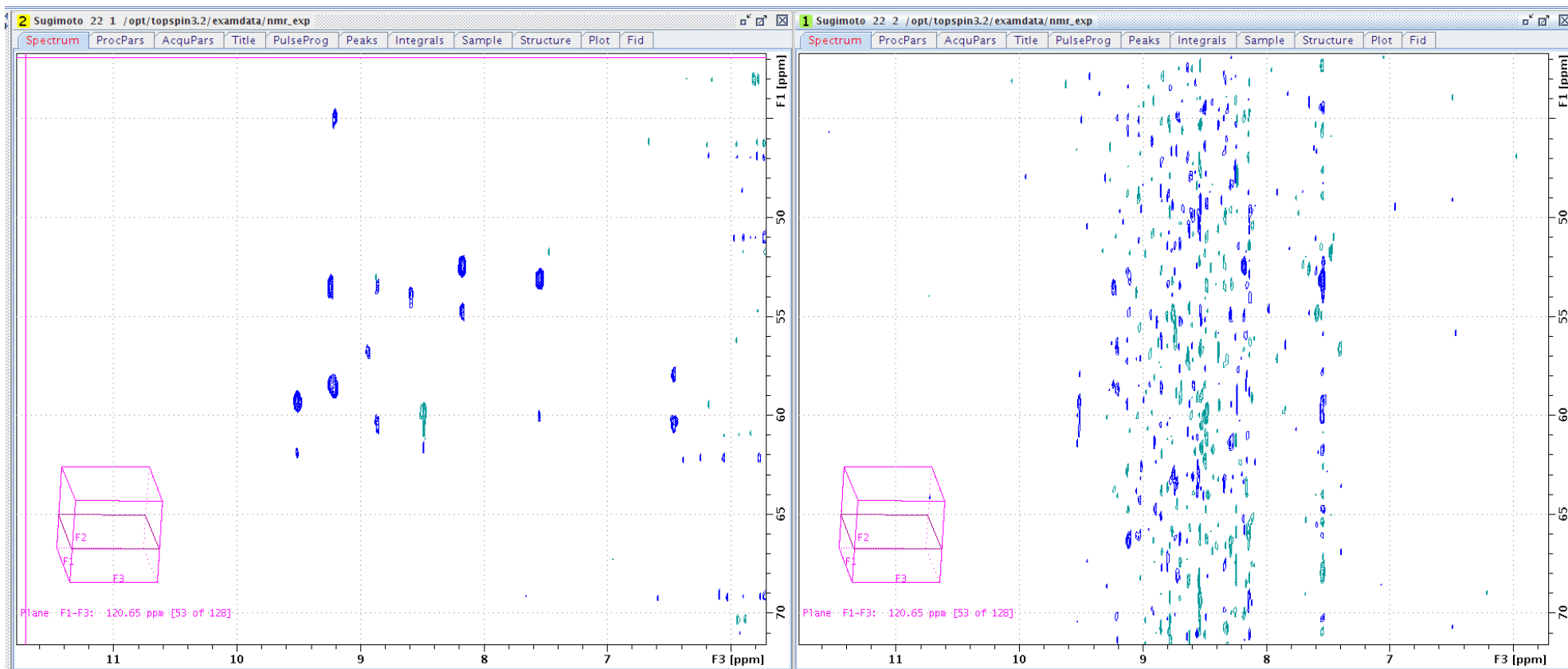
逆フーリエ変換して、
生データと一致する
かどうかを調べてみる。

架空のスペクトルを
作ってみる (ただし、
エントロピーを最大
にして、出来るだけ
滑らかに)。

このようないい話が、本当に簡単に転がっているのだろうか？

- MEM 後の感度は真の感度を反映していないので定量性を失った。したがって、本当に感度の点で得をしたのかどうか分からない。→ 定量性を必要としない、例えば帰属用などに、このスペクトルを使えばよい。→ その他の条件（例えば、HNCA では $^{13}\text{Ca}(i)$ と $^{13}\text{Ca}(i-1)$ の二つだけが観えるはずなど）をうまく利用すれば、信頼性のある程度は判断できる。
- NS を少なくしたということは、それだけ位相回しも不完全になるので、アーティファクトが出ているかもしれない。→ Gradientなどを駆使して、できるだけ目的外のコヒーレンスを消し、アーティファクトを減らす努力が必要。
- ピークの共鳴値の正確さ (accuracy) が低くなっている。→ スペクトル幅を狭めずに、分解能を上げたことによる犠牲である。しかし、例えば、主鎖の帰属にあまり支障が出ない程度であれば、経験のファジー的判断力をここに加味することによって、この損を十分に補うことができる。

MEM プロセスは、どうも使うソフト（アルゴリズム）の種類によって結果が大きく左右されるようだ。

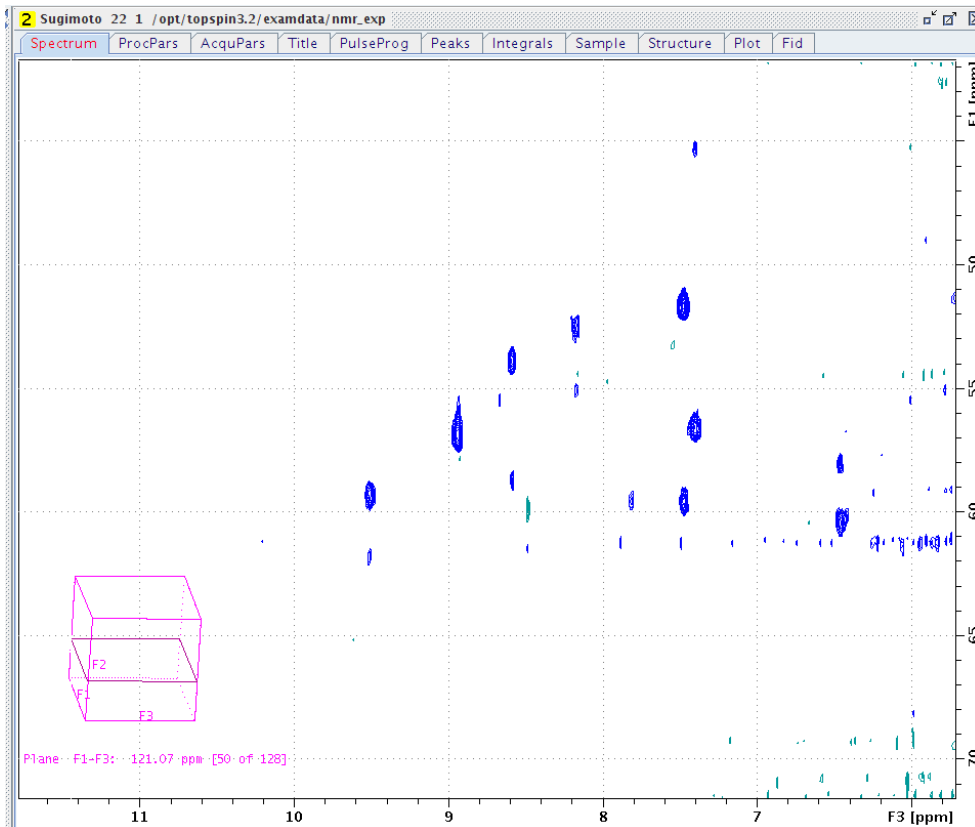


compressed sensing (CS)

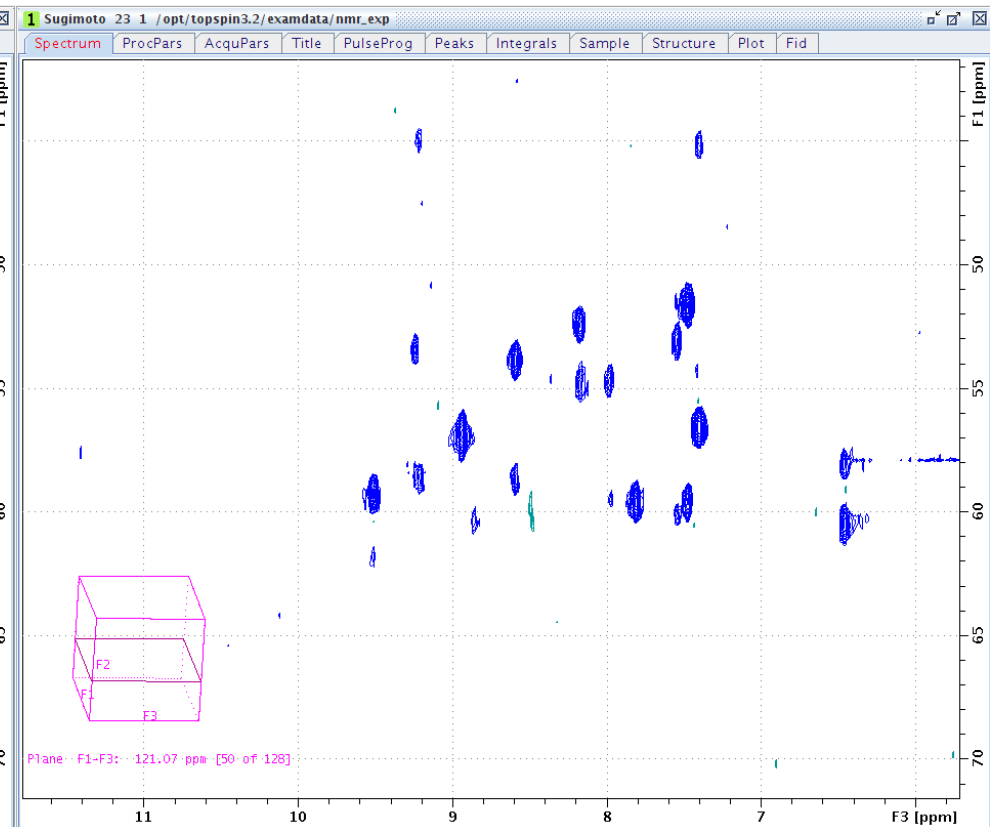
Multi-Dimensional
Decomposition (MDD)

FT は正直（線形的）なのに対して、MEM プロセスはどうも気まぐれかもしれない（非線形的）。

FTの方がピークが幅広なので「大きい粒の干し葡萄食パンのスライス効果」が出ているかもしれない。

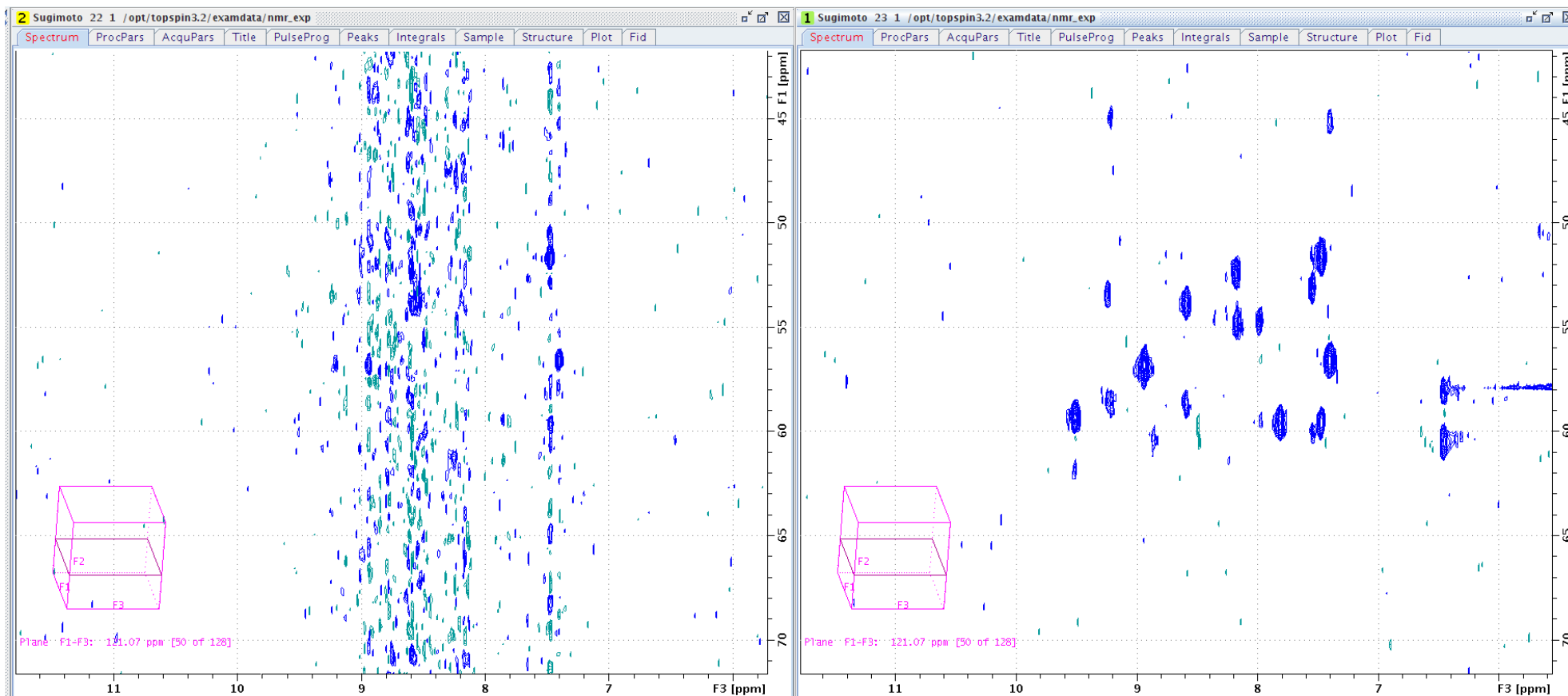


compressed sensing (CS)



Fourier transform (FT)

せっかく測定しても、きれいに MEM プロセスできるソフトを持ち合わせていなかったら諦めないといけなかもしれない。試料によっては、挑戦するのに少し勇気が必要。更なるアルゴリズム開発に期待したい！



**Multi-Dimensional
Decomposition (MDD)**

Fourier transform (FT)

NUS はどのような条件の下で有効か？

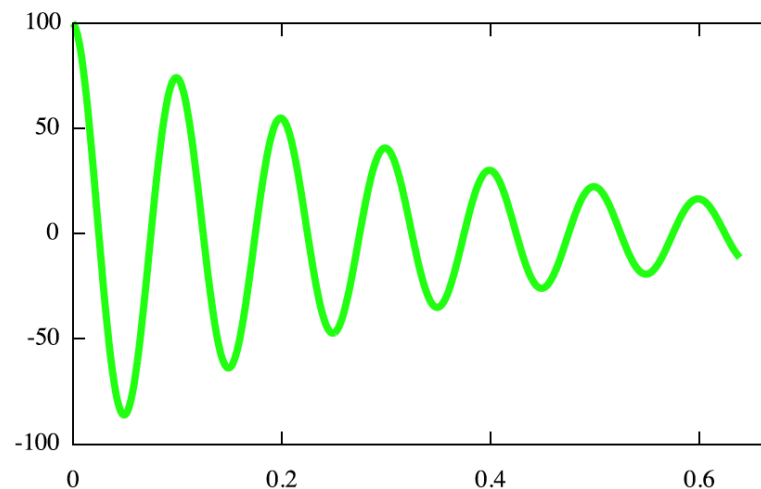
スペクトル幅を狭めずに、分解能を増やしたい。

横緩和が遅く、観測時間を延ばせば、分解能の向上が存分に見込まれる。

→ 低分子、constant-time

高磁場では必然的に間接測定軸のスペクトル幅 (Hz) が広がるが、そのための観測時間の減少を補い、ウィグルを MEM によって無くしたい。

→ 高磁場



例：

二重線の分裂幅から J -coupling
を測りたい時

3D HNCACB などの ^{15}N -CT 次
元など

その他

事故により測定の途中で止めないといけなくなった 3D

普通の測定では、 t_1, t_2, t_3 (FID) のうち、 t_1 と t_2 のどちらを先にインクリメントするかが問題となる。もし、 t_1 を先に回していたとすると、 $t_2 \rightarrow F_2$ 側の分解能が低過ぎて使えないかもしれない。しかし、NUS では t_1, t_2 ともにランダムにインクリメントされるので、被害が F_1, F_2 に均等に散らばる。したがって、途中で止めても、それなりに被害の少ないスペクトルが得られる。

試料が分解しながら測定する場合、途中経過を見ながら、好みの時間で測定を打ち切ることができる。

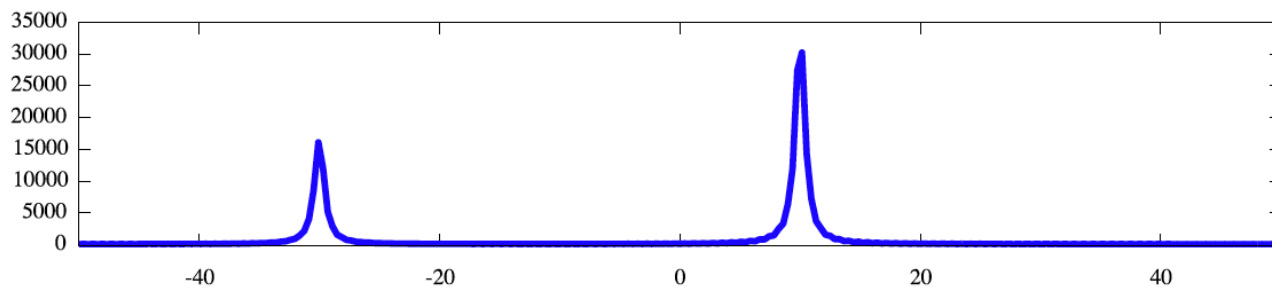
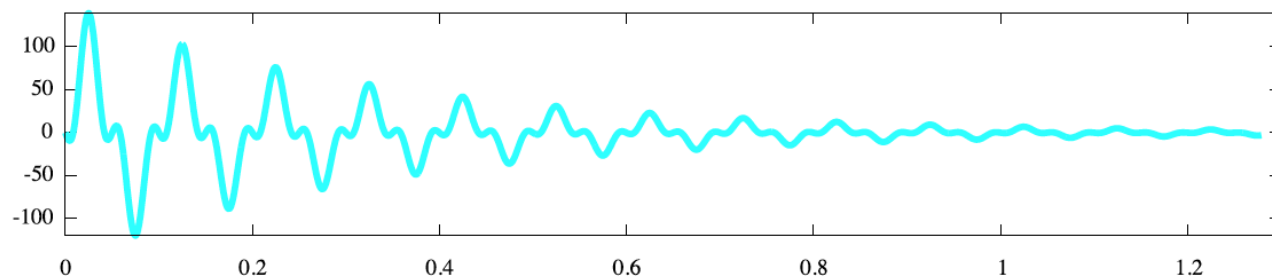
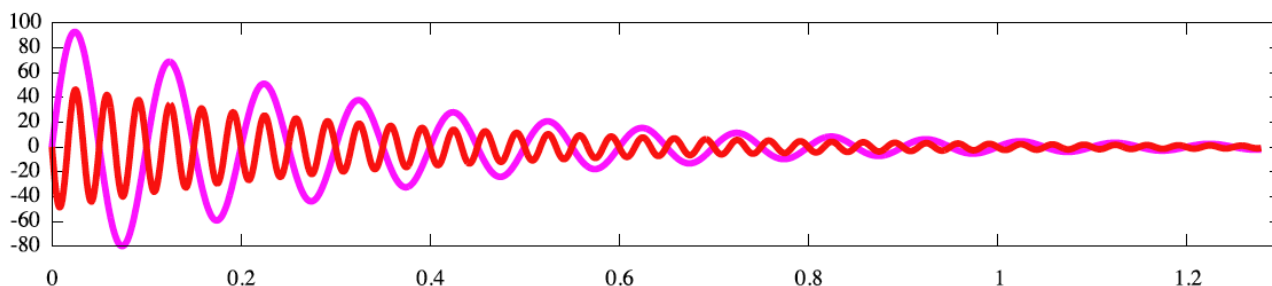
測定時間を気にせず最初に長い測定時間を設定しておき、測定を本当に止めないといけなくなったぎりぎりの時間まで実際の測定を粘れる。

次の測定予定者に「キャンセルするんだったら、何でもっと早く先に言っといってくれなかったのよ！」と言われずに済む。

MEM は等間隔にサンプリングされたデータにも使える

Interferogram が途中で切れている場合

すでに分かっているカップリングを除きたい場合



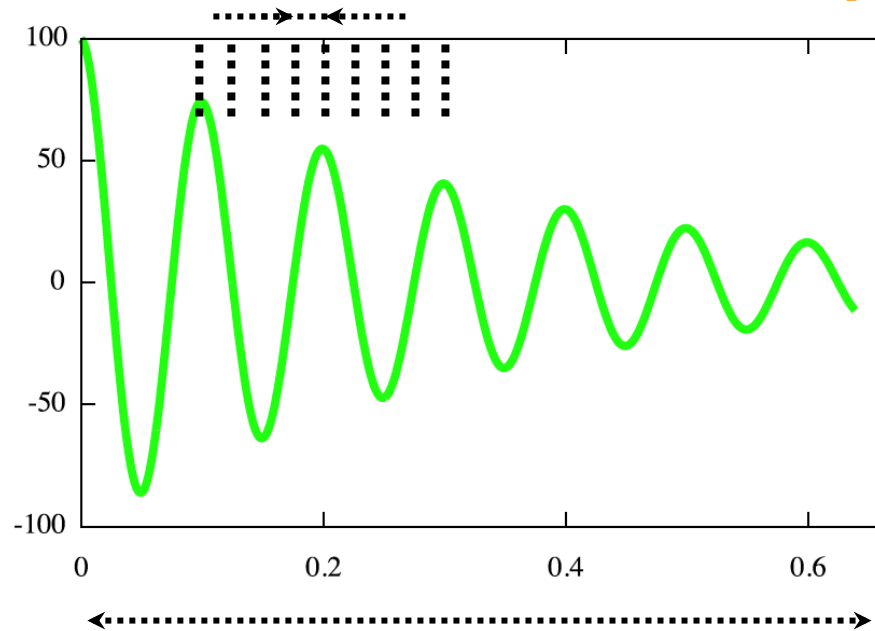
逆フーリエ変換して、生データと一致するかどうかを調べてみる。

架空のスペクトルを作ってみる（ただし、エントロピーを最大にして、出来るだけ滑らかに）。

スペクトル幅を狭くすれば、同じ測定時間で高分解能が得られる

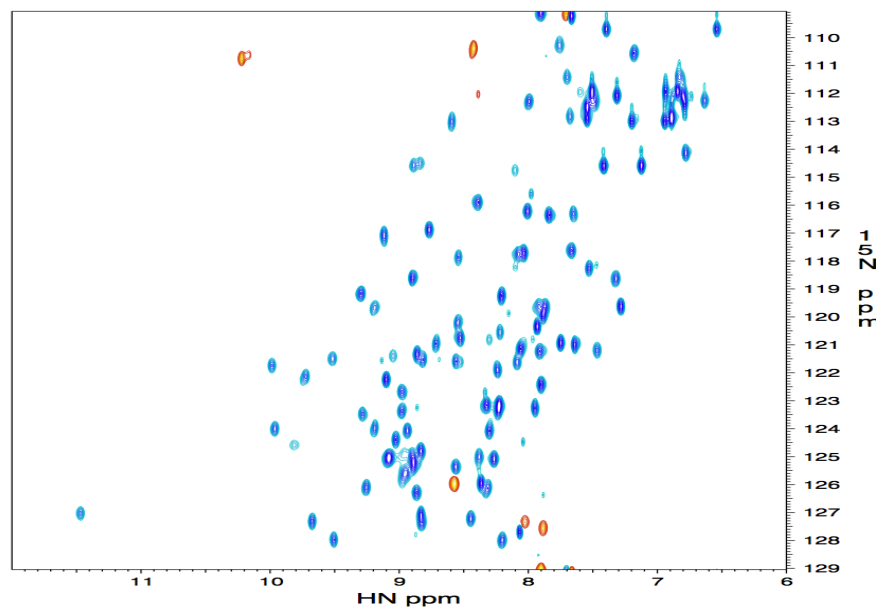
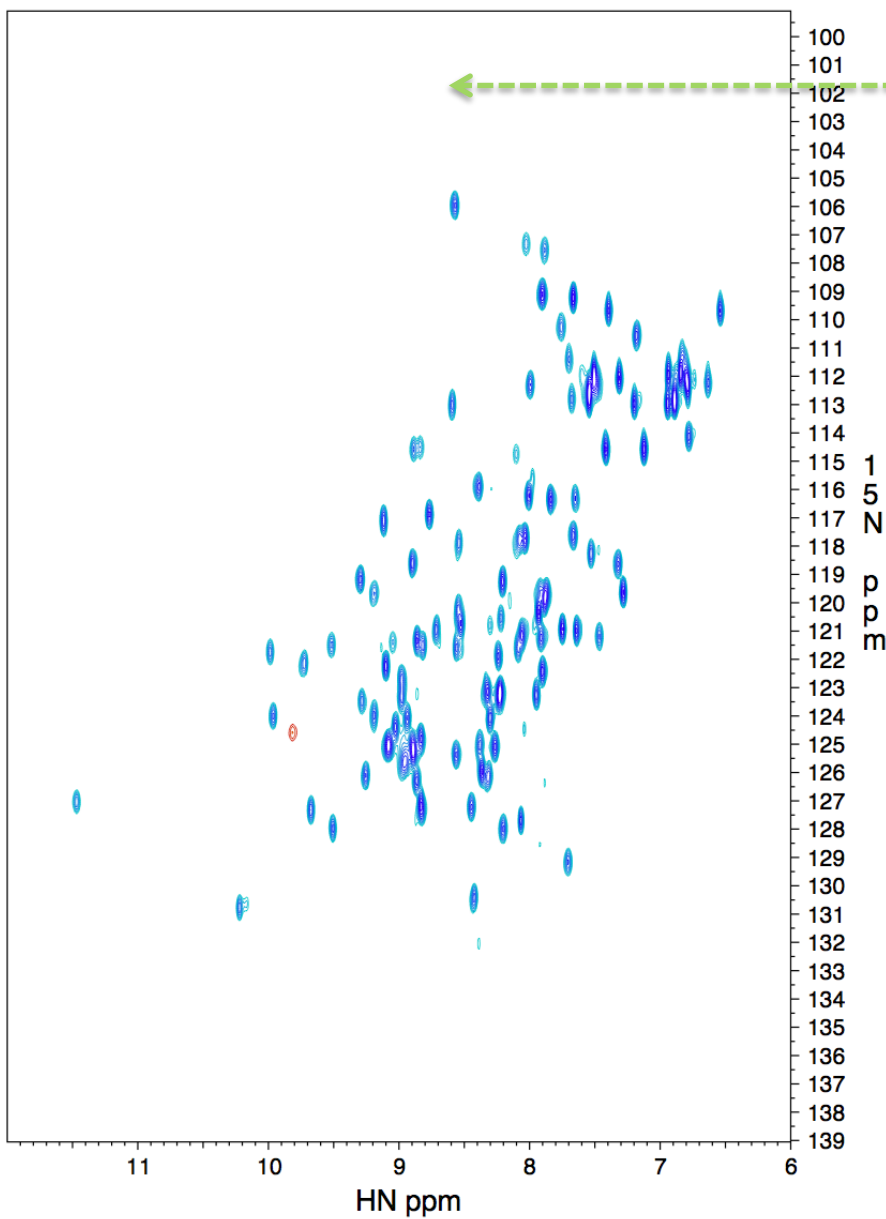
$$acquisition\ time = \frac{point\ number}{spectral\ width} = \frac{1}{resolution}$$

1 / スペクトル幅 (spectral width)

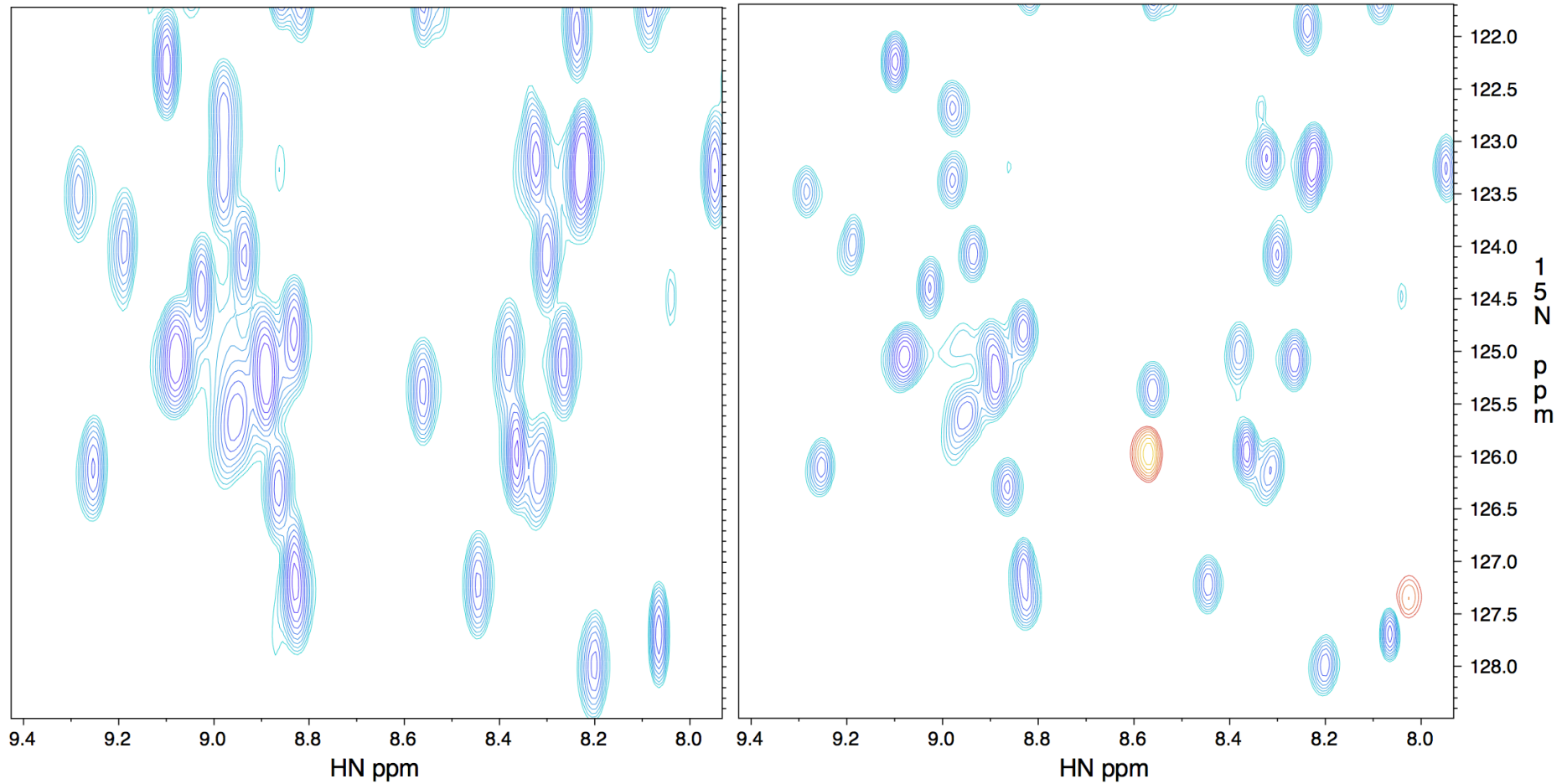


観測時間 (acquisition time)

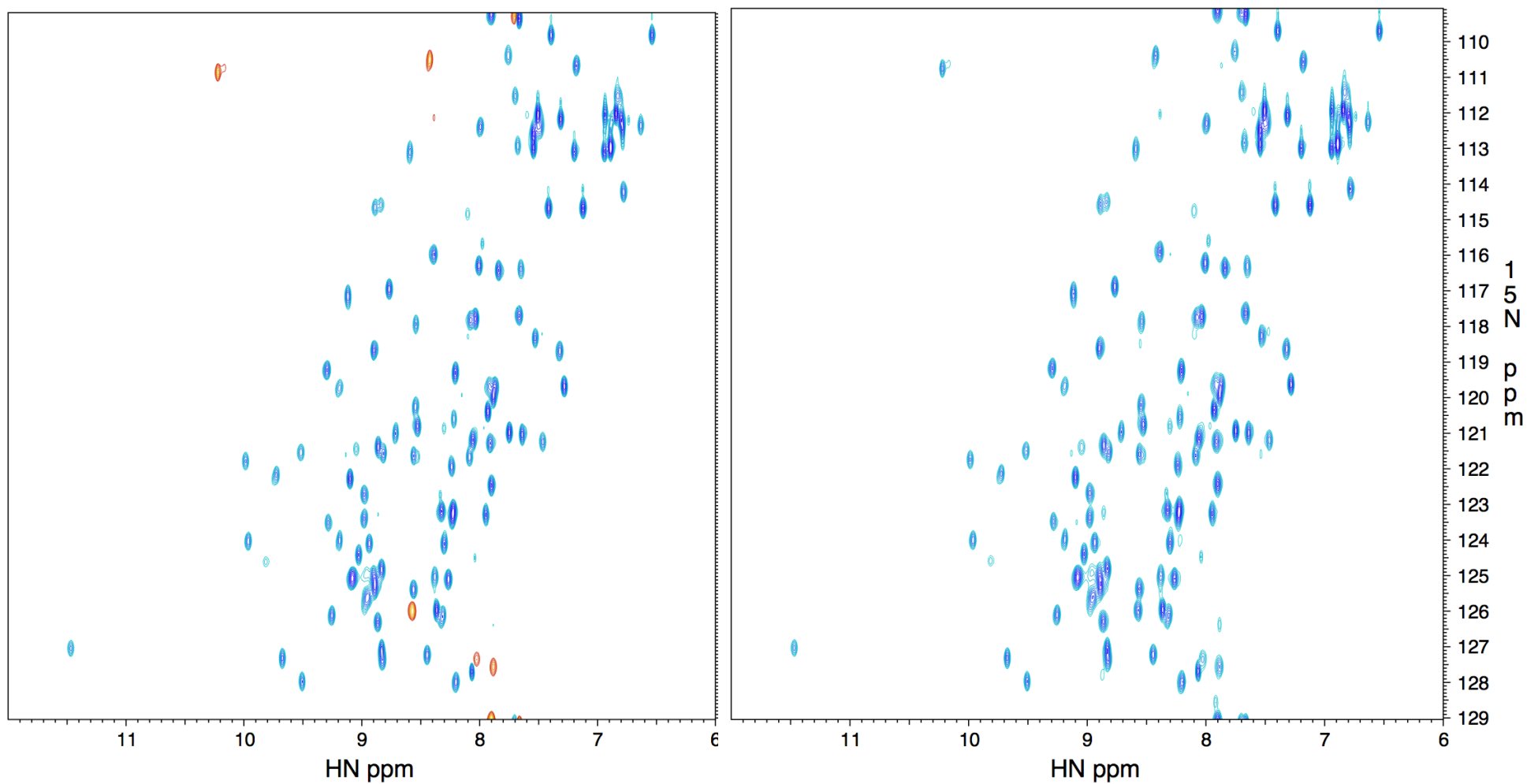
この領域をわざわざ観測するのは、かなりの時間を無駄にする。



同じ測定時間でも分解能がかなり異なる。

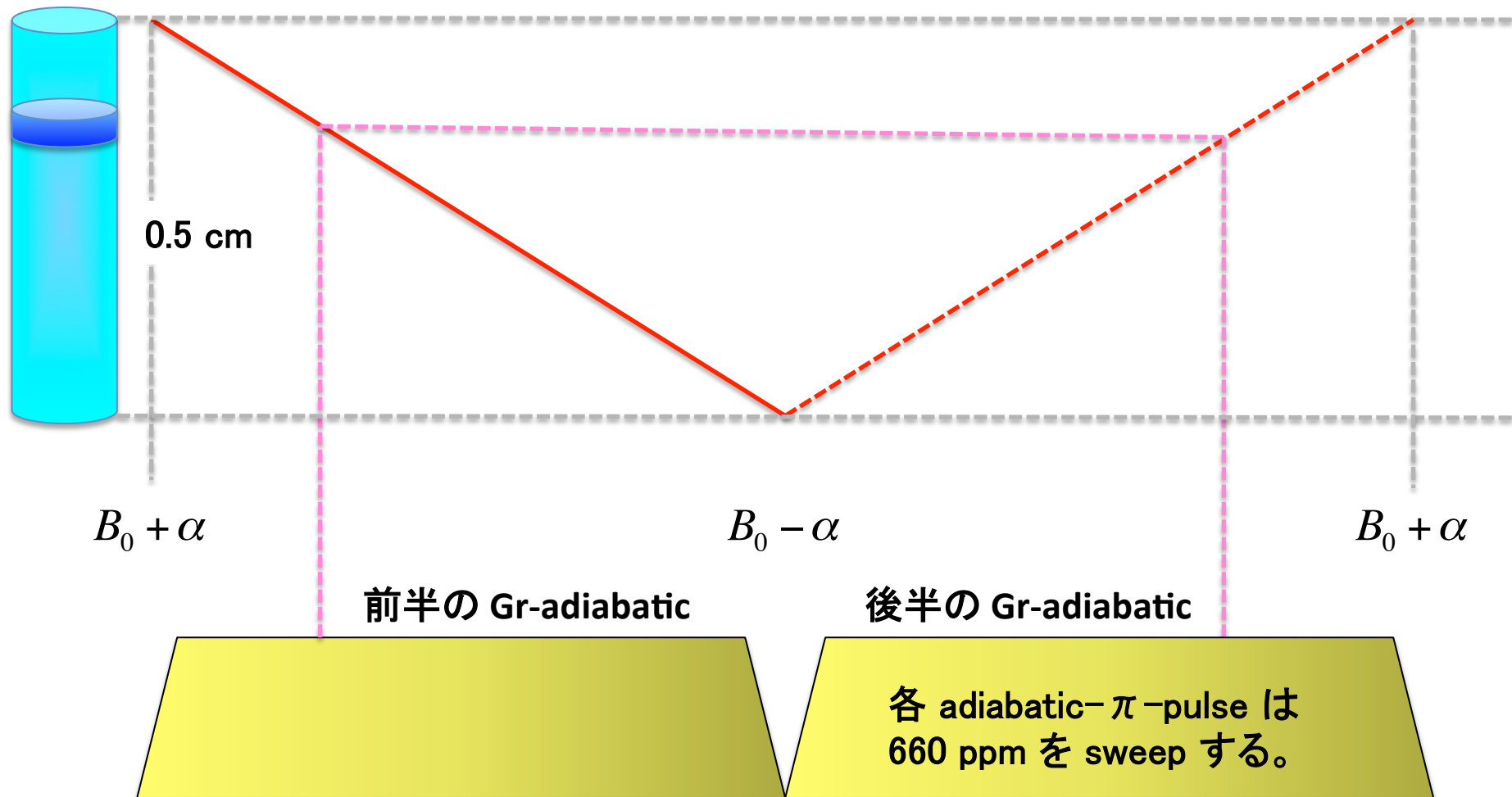


3次元測定では、二つの間接測定軸のスペクトル幅を半分ずつにすれば、測定時間は1/4になる（4次元では1/8に）。

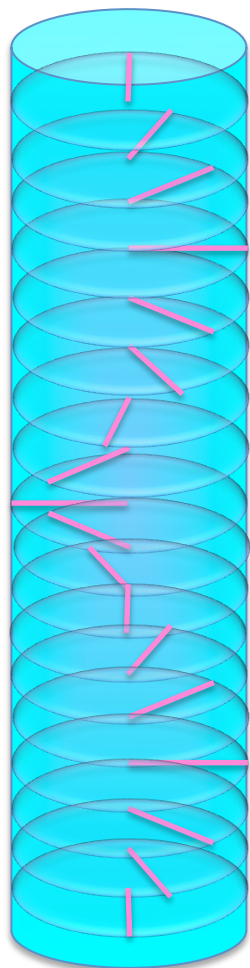


t_1 の初期値を $\Delta t_1/2$ に設定すると、折り返ったピークは負となるので分かり易い。また、スペクトル幅を少しだけ変えて測定してもよい。

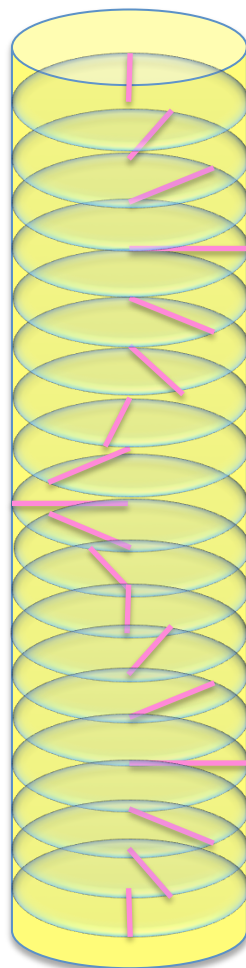
Field-gradient の最中に adiabatic-pulse (断熱パルス)を打つ。



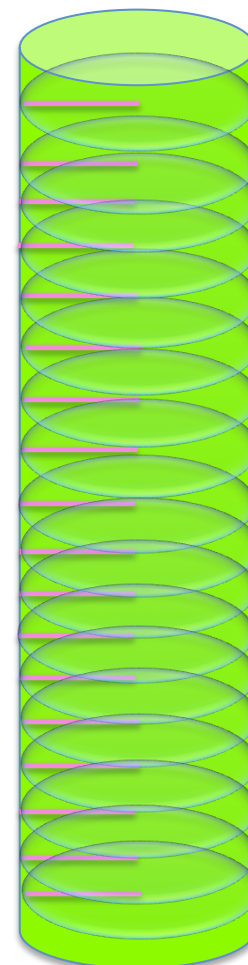
Gr により 1cm につき 0.03% 程静磁場の大きさが変わる。
= ^{13}C の化学シフトでは 1,300 ppm/cm ($B_0 = 300\text{MHz}$)



CCOS
PEP
Grad-echo
SE



グラジエント



グラジエントによるのではなく、 ^{13}C 化学シフトによって磁化ベクトルの螺旋が生じている。

^{13}C 化学シフトの螺旋が、ほとんどそのまま ^1H 化学シフトの磁化ベクトルの螺旋に転写される。

グラジエントをかけていくにつれ、 ^{13}C 化学シフトの小さい磁化ベクトルから順に螺旋が解かれて揃い、翻訳される。

SOFAST-HMQC 法 BEST-3D 高速測定法の一つ

Brutscher, B. (2005) *J. Am. Chem. Soc.* 127, 8014-8015.

に SOFAST-HMQC の名が出て来るが、それよりも前の

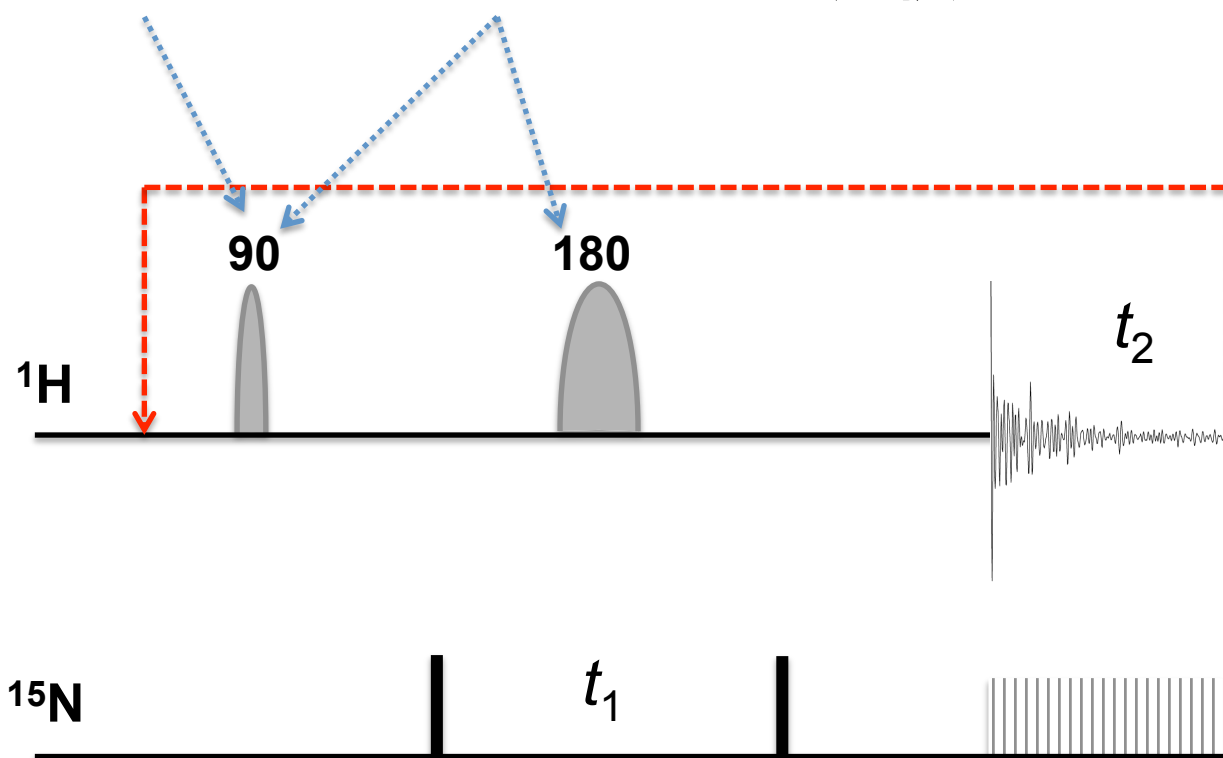
Pervushin, K. (2002) *J. Am. Chem. Soc.* 124, 12898-12902.

に LHSQC の名で、ほぼ同じ原理の測定法が報告されている。

SOFAST-HMQC

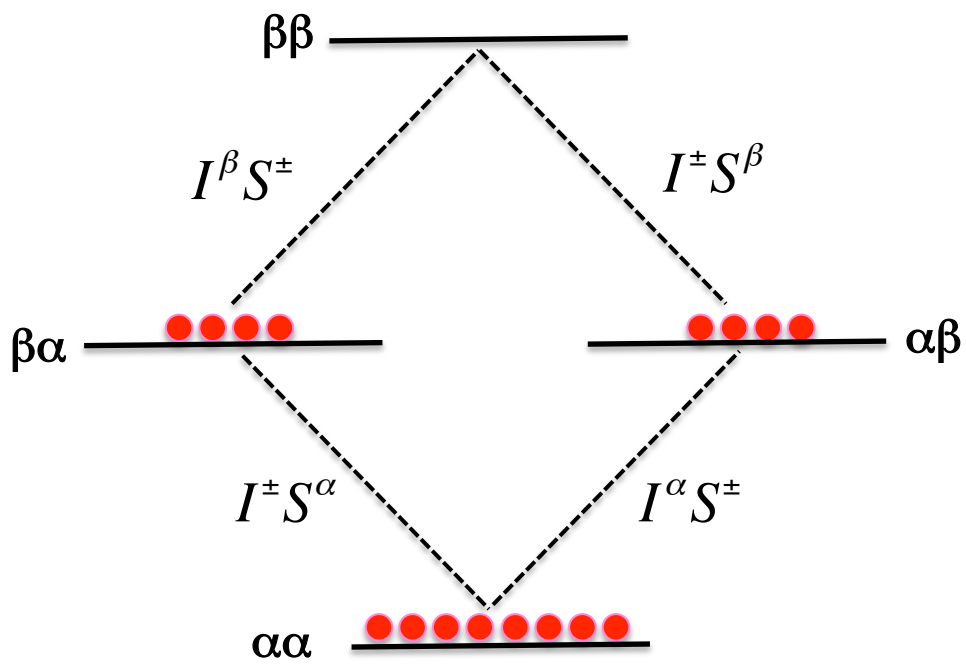
Ernst 角で打つ

$^1\text{H}^{\text{N}}$ のみに選択的

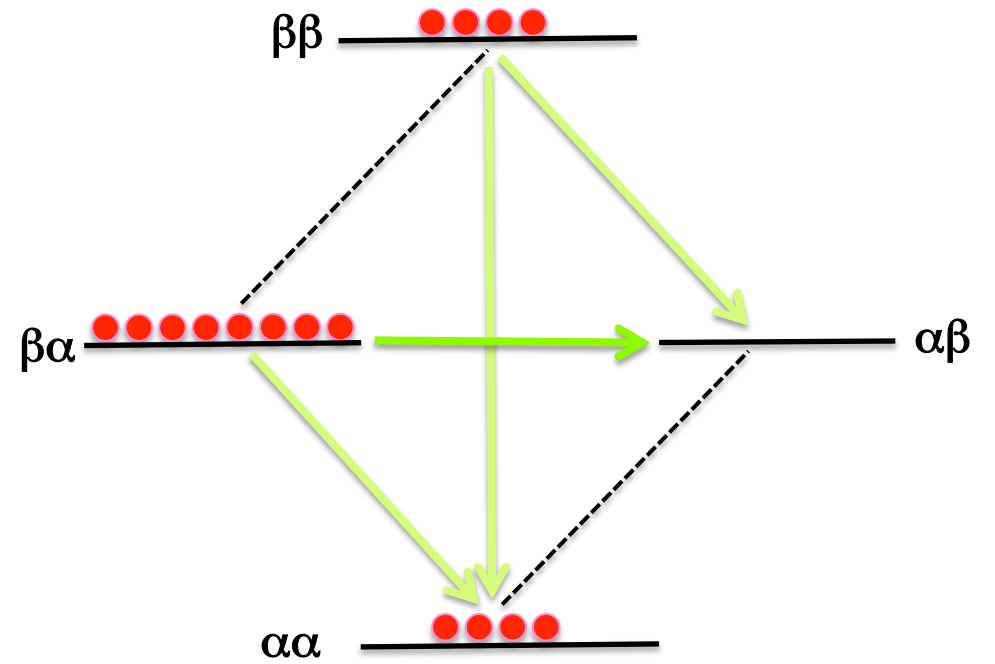


^{15}N -decoupling による負担大
(検出コイルの温度、アンプ、試料の温度)

平衡状態でのエネルギー準位図(同種核)

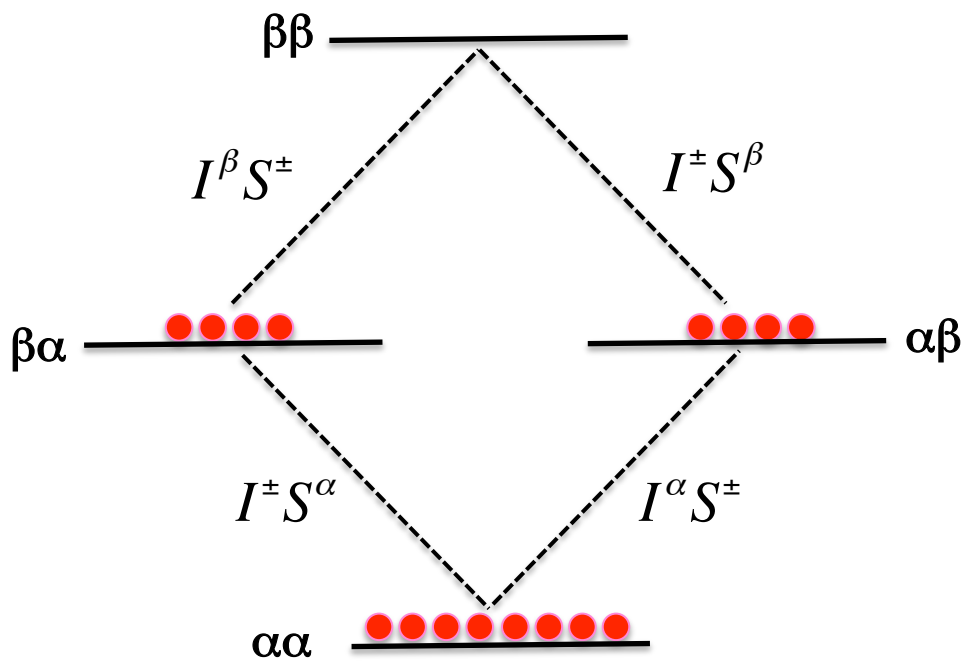


I-スピンのみを反転させた場合

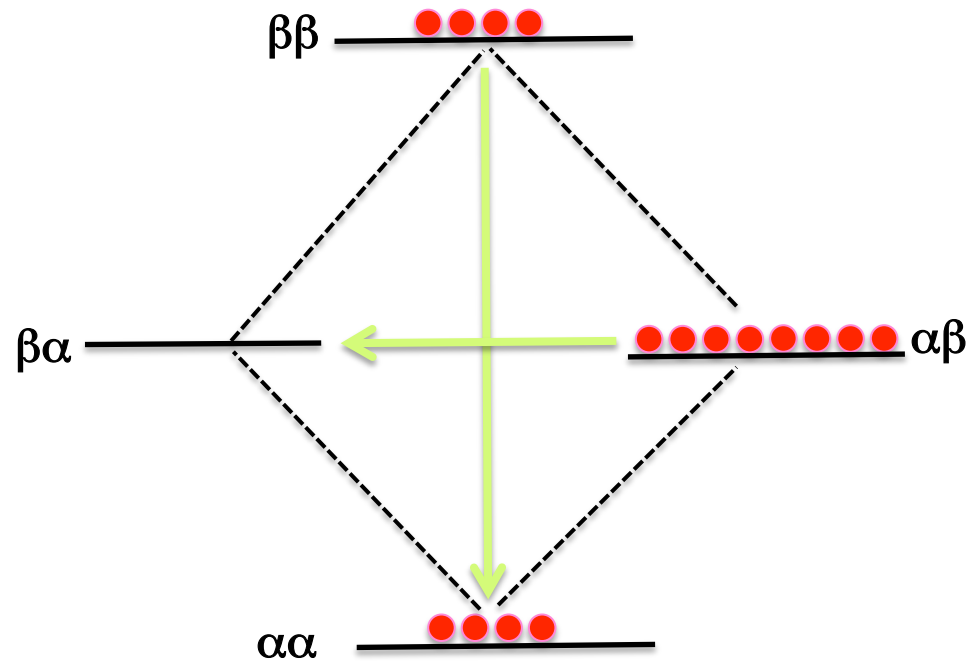


W0 遷移が存在する

平衡状態でのエネルギー準位図



s-スピンのみを反転させた場合

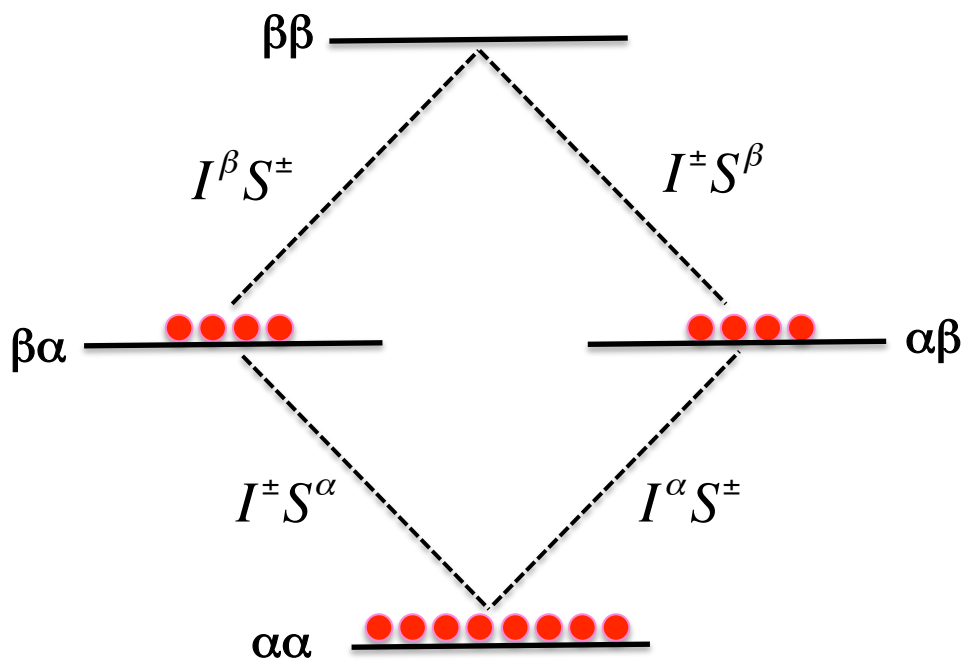


I-スピンの縦緩和に影響を及ぼす遷移
(交差緩和)のうち初期状態のみを表示

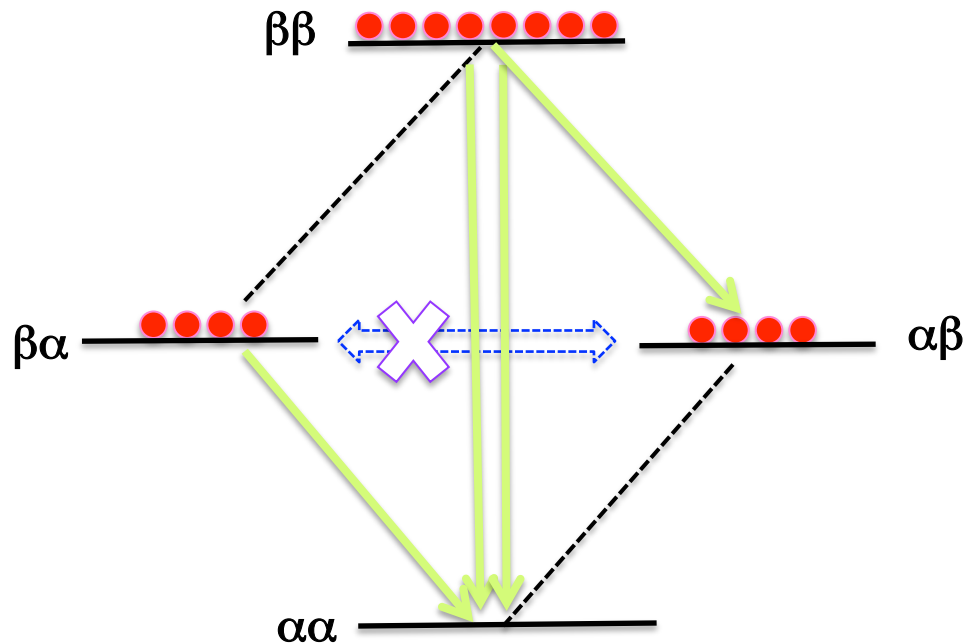
Transient-NOE (過渡的 NOE)

高分子で効率的な W_0 遷移(逆方向)が存在する
 W_0 が W_2 よりも大きい時は負の NOE

平衡状態でのエネルギー準位図



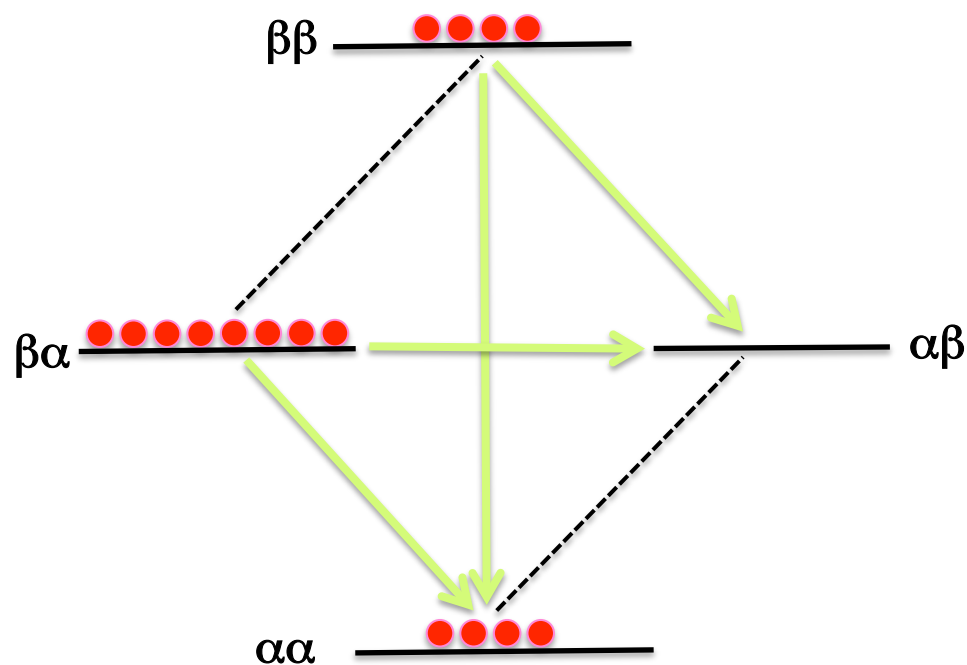
I, s-スピン両方を反転させた場合



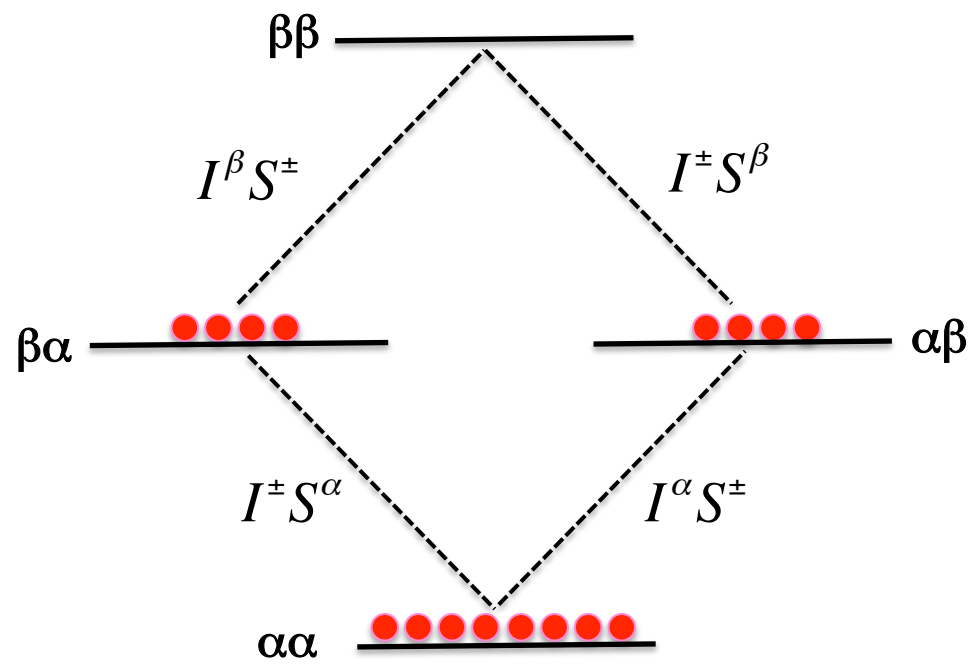
高分子でもっとも効率良く起こるはずの flip-flop の遷移が無い。

自己緩和と交差緩和の W0 どうしが打ち消し合ってしまう。
 $\beta\alpha$ と $\alpha\beta$ の数が同じになってしまう。

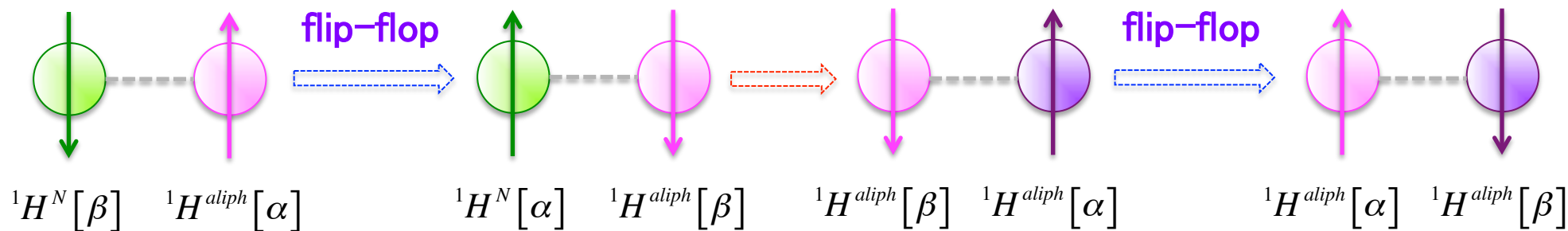
$^1\text{H}^N$ スピンのみを反転させた場合



平衡状態でのエネルギー準位図



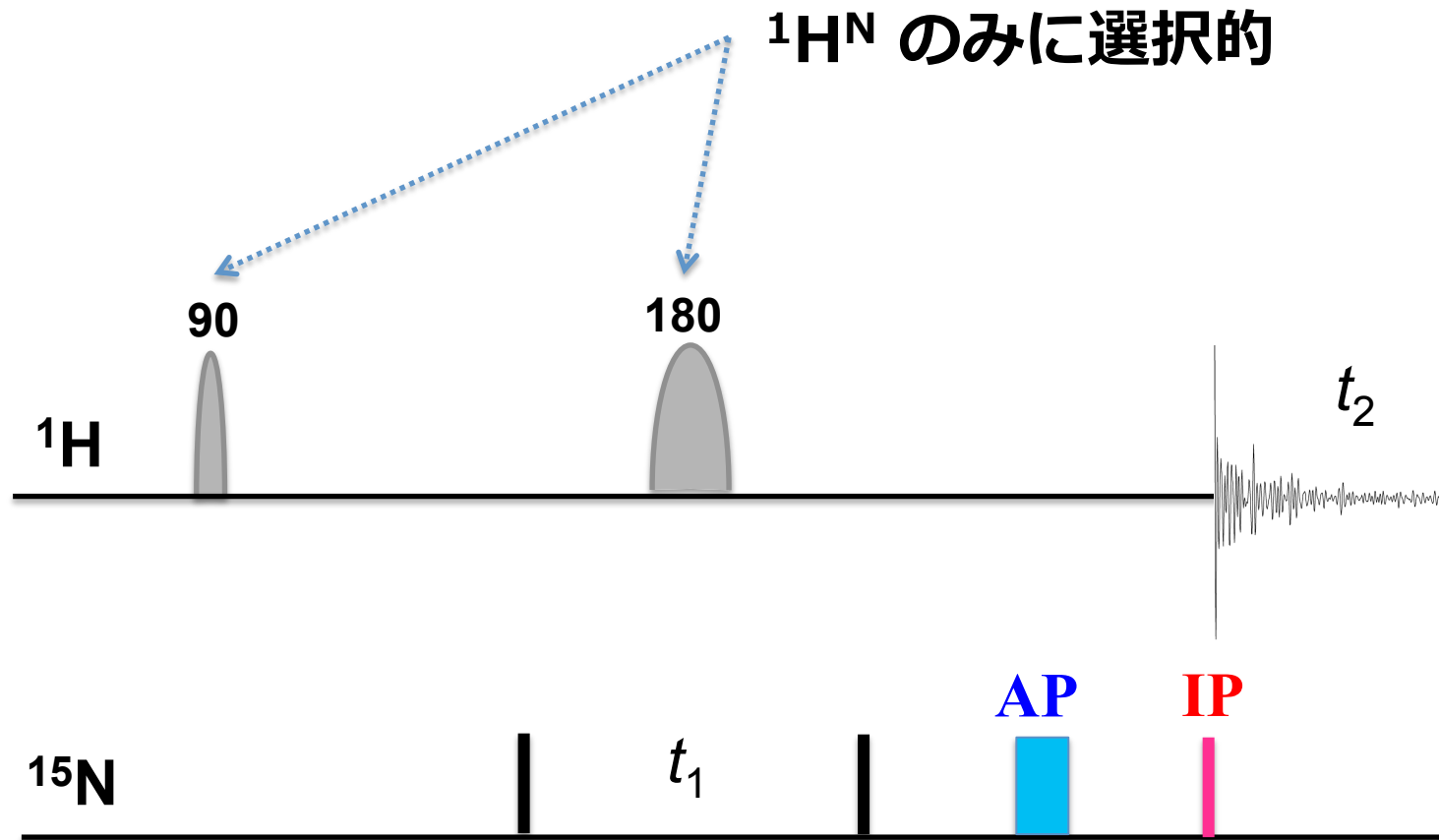
spin-diffusion

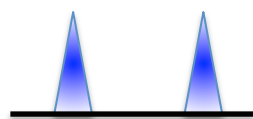
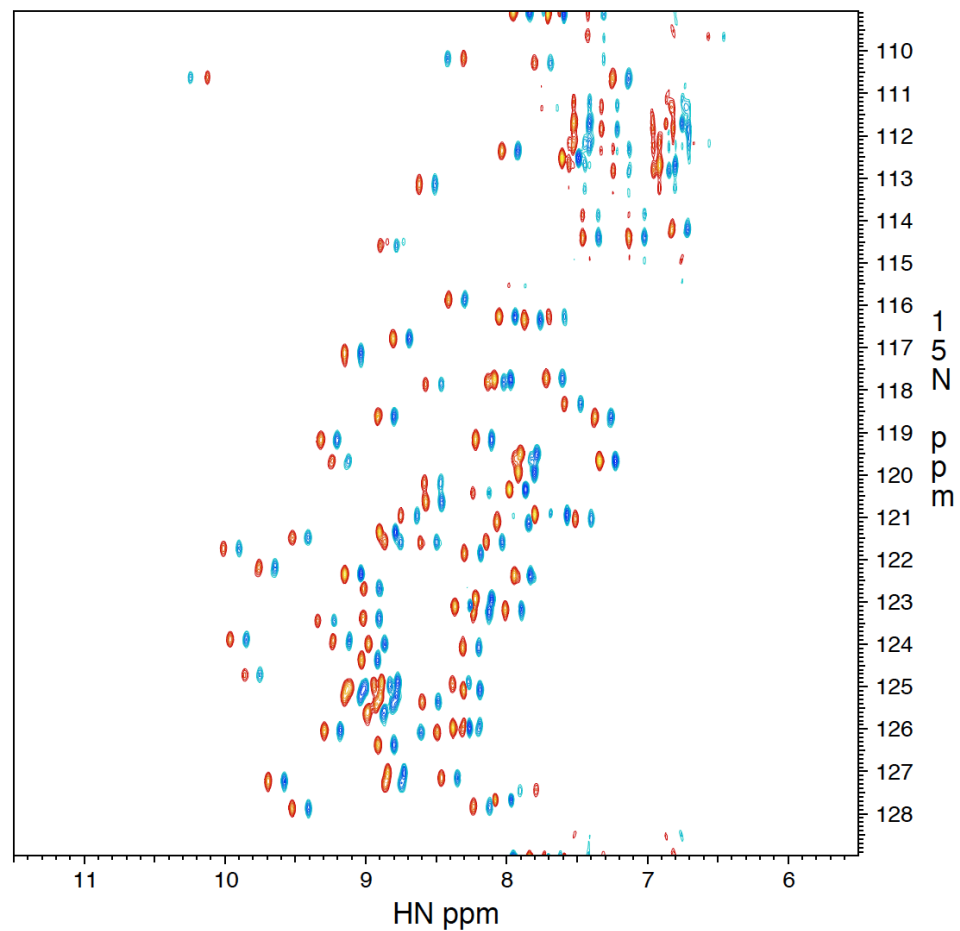
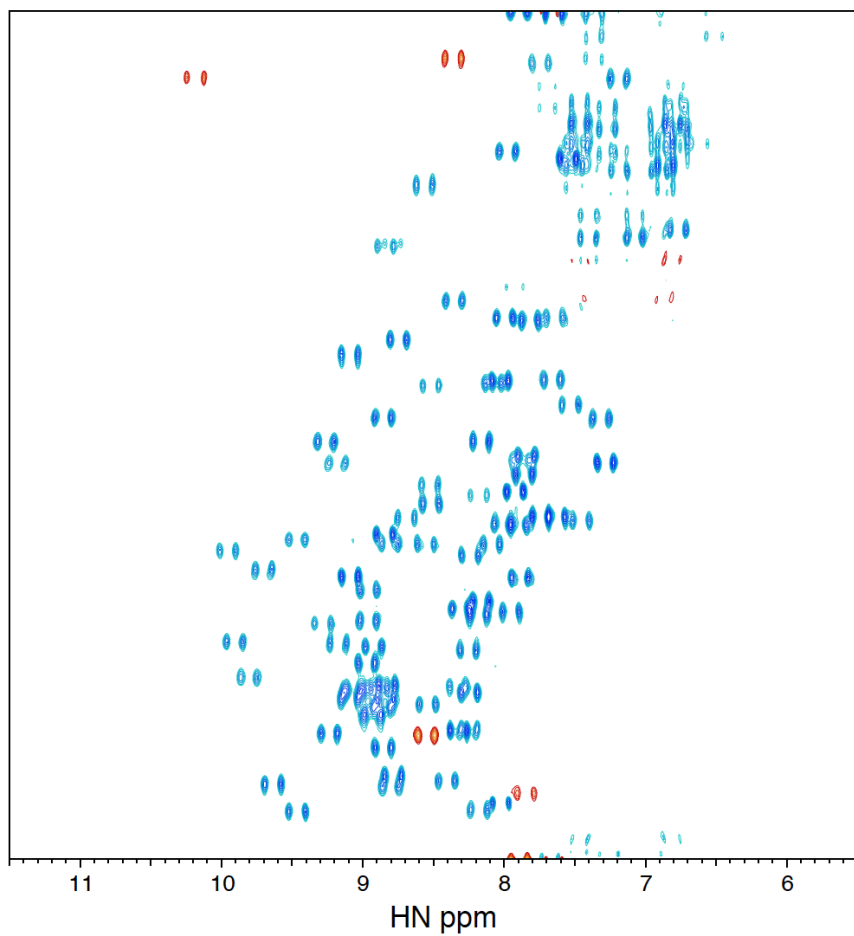


SOFAST 測定法に残る今後の課題

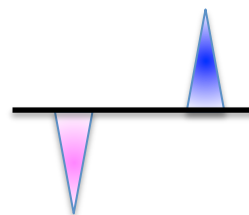
- 重水素化蛋白質では SOFAST しない。
- ^{15}N -decoupling による負担大(検出コイルの温度、アンプ、試料の温度)。そのため、パワーを少し抑えるが、高磁場では線幅が広がっている。
- 最初の 90 度パルスを極端なエルンスト角で打つ必要がある。
- 最初の 90 度パルスがアミド基に選択的であり、かつ、磁化の xy 平面上での位相が線形的になるようなパルス进行を設計する必要がある(今のところ PC9)。
- また、その位相の一次のずれを考慮して、事前に delay を調整しておかないといけない。
- 90度パルスも π パルス(Reburp)も、アミド基 ^1H 全てを等しく完全にカバーできるわけではない。
- HMQC を使っているため、 $^1\text{H}^{\text{N}}$ の横緩和も加わってしまう。

SOFAST-IPAP-HMQC

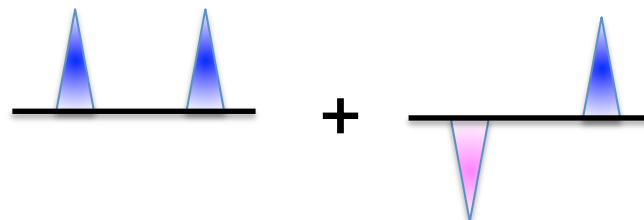
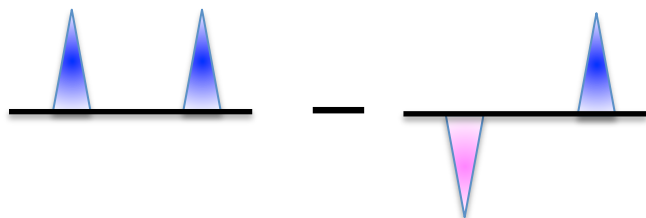
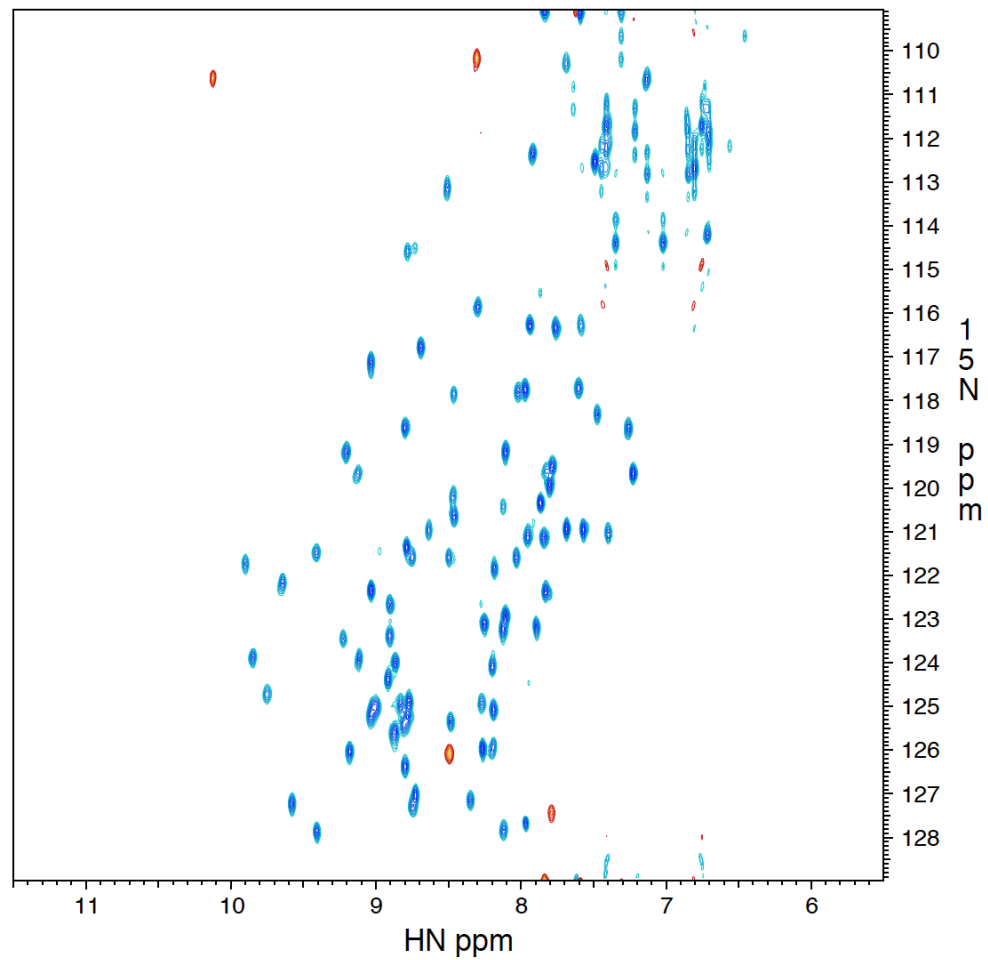
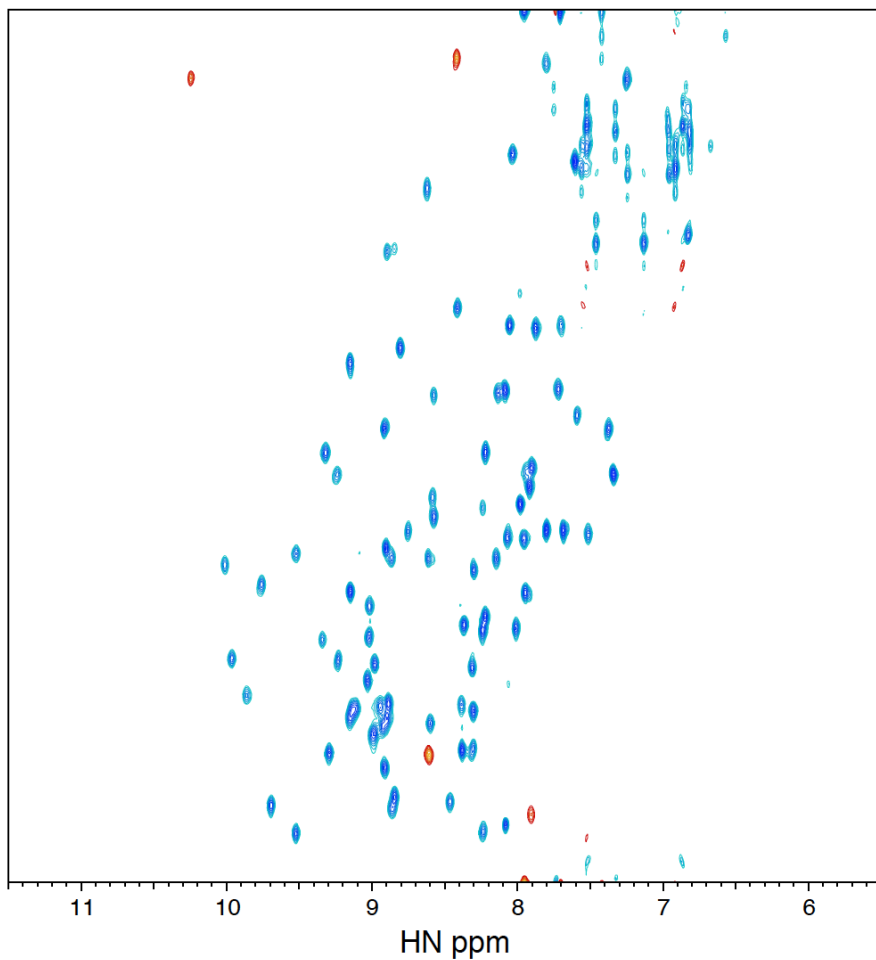


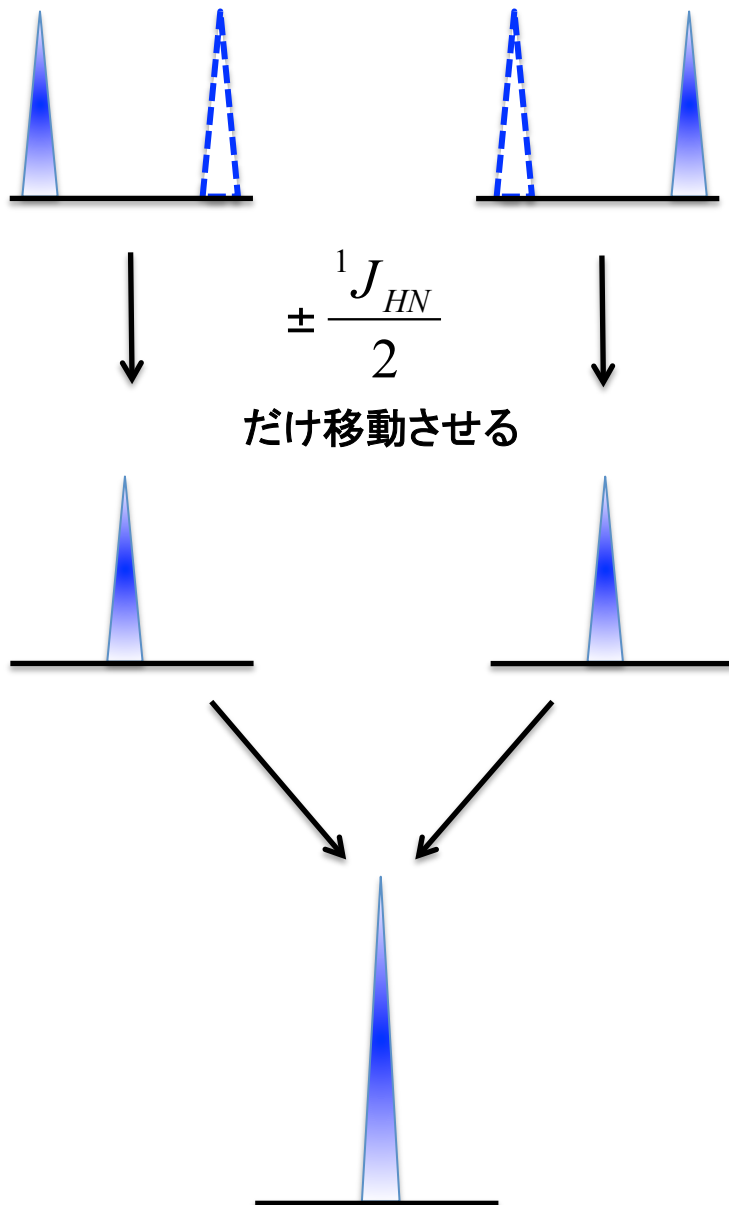


in-phase



anti-phase





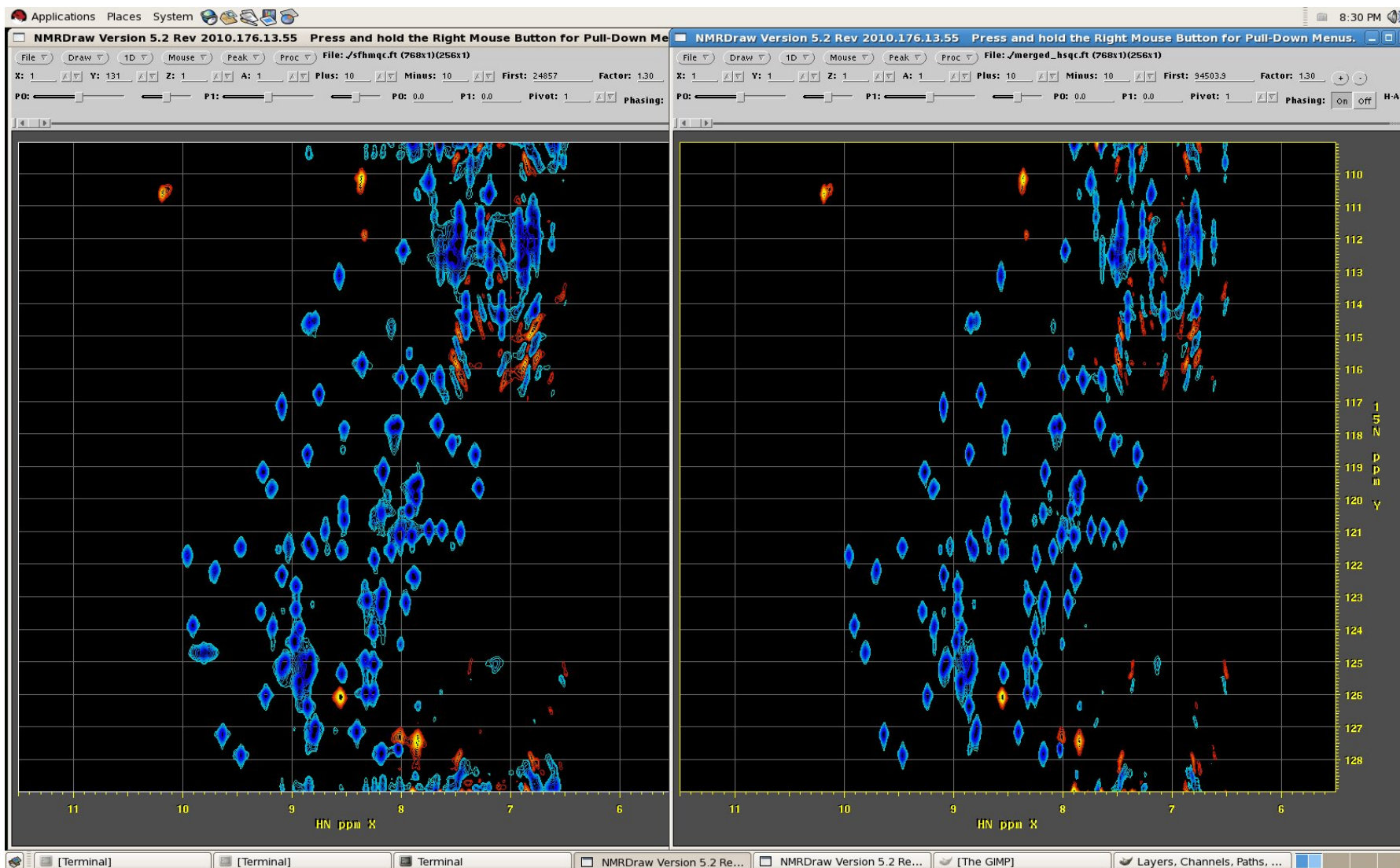
実際には、FID の状態で同じような操作を行い、最後にフーリエ変換する。

(Window-関数、baseline-補正をしたデータどうしを足したり引いたりすると、誤差が大きくなる。

$J/2$ という幅をスペクトルのデジタル分解能が満たしていない。)

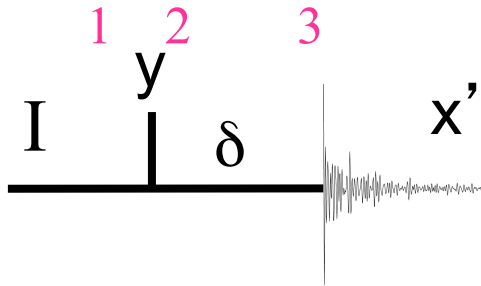
SOFAST-decoupling-HMQC

SOFAST-IPAP-HMQC

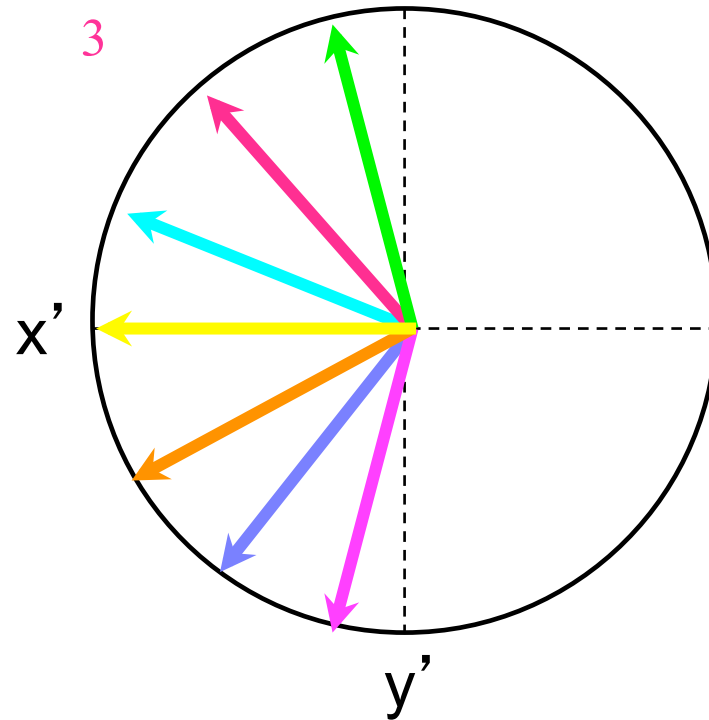
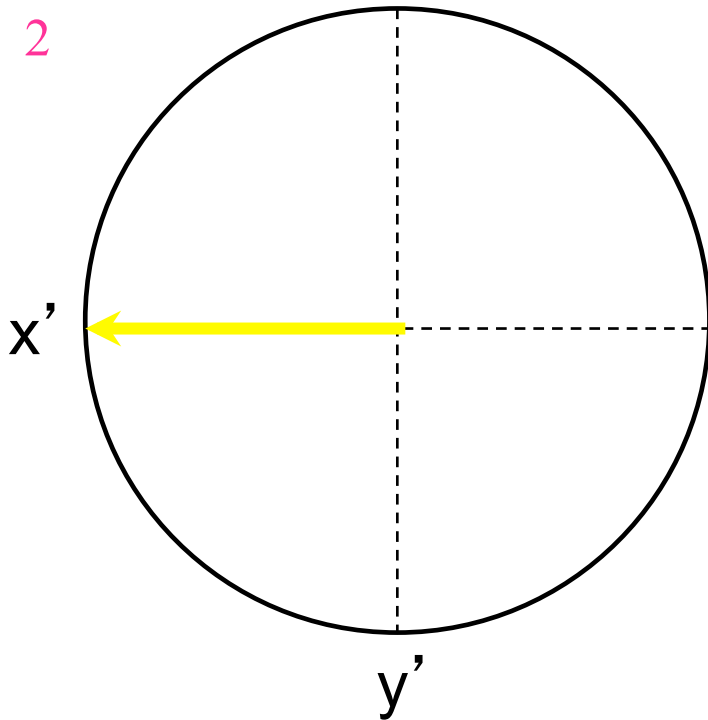


^{15}N -decoupling power を弱めに設定しているので (350us@90° garp4 on 800MHz)、virtual-decoupling の方が ^1H 軸方向にシャープに見える。

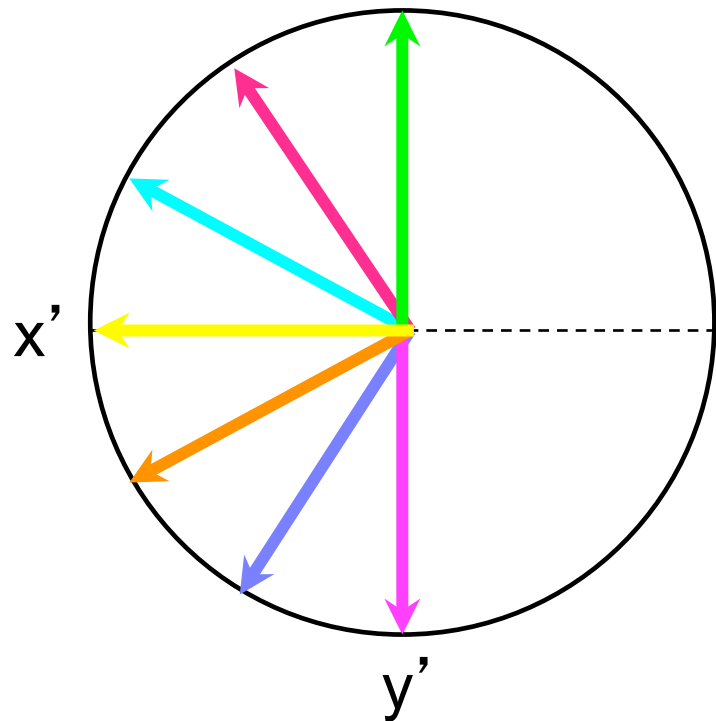
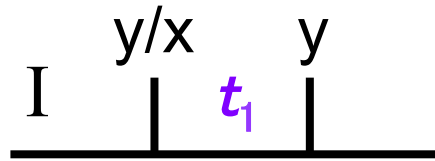
一次補正は何故必要？



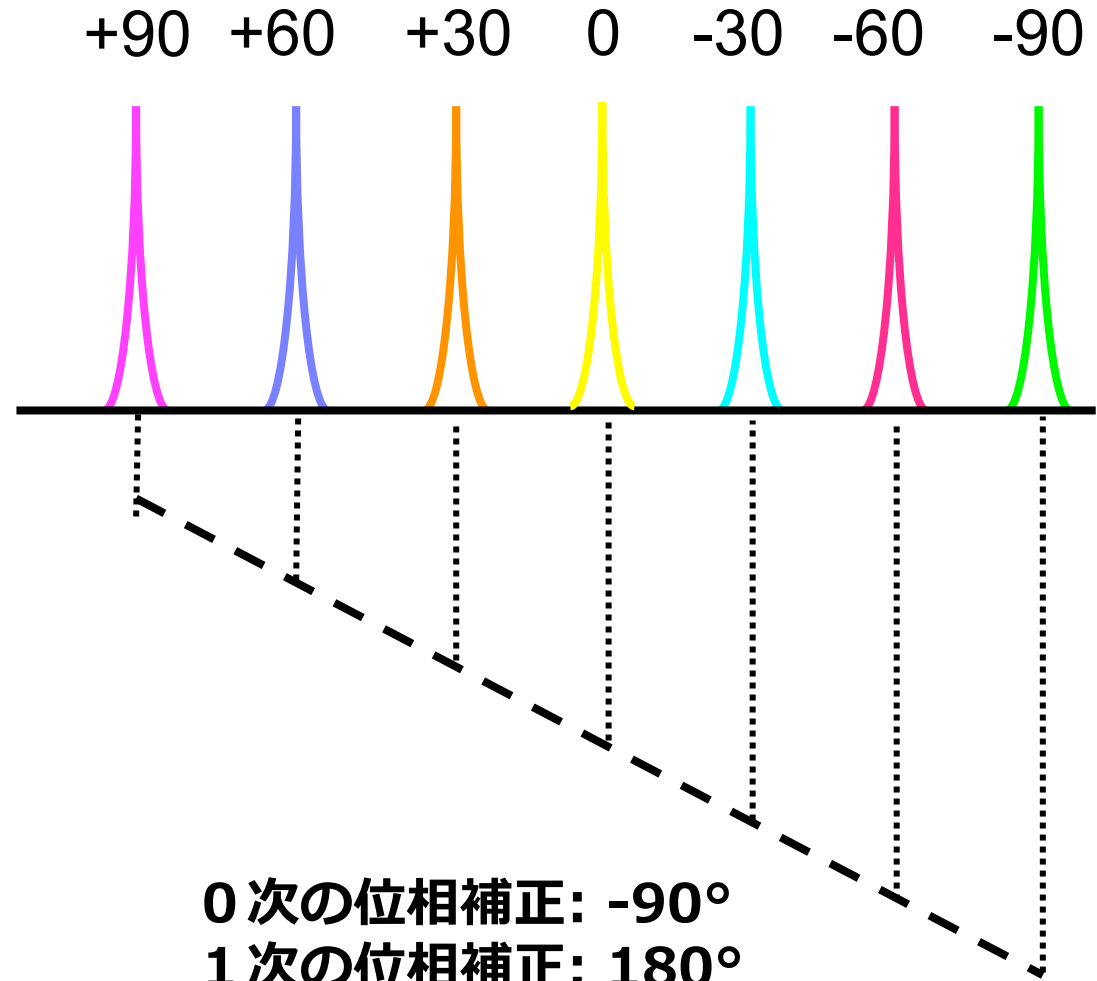
スペクトルでの共鳴位置に沿って位相がずれる。



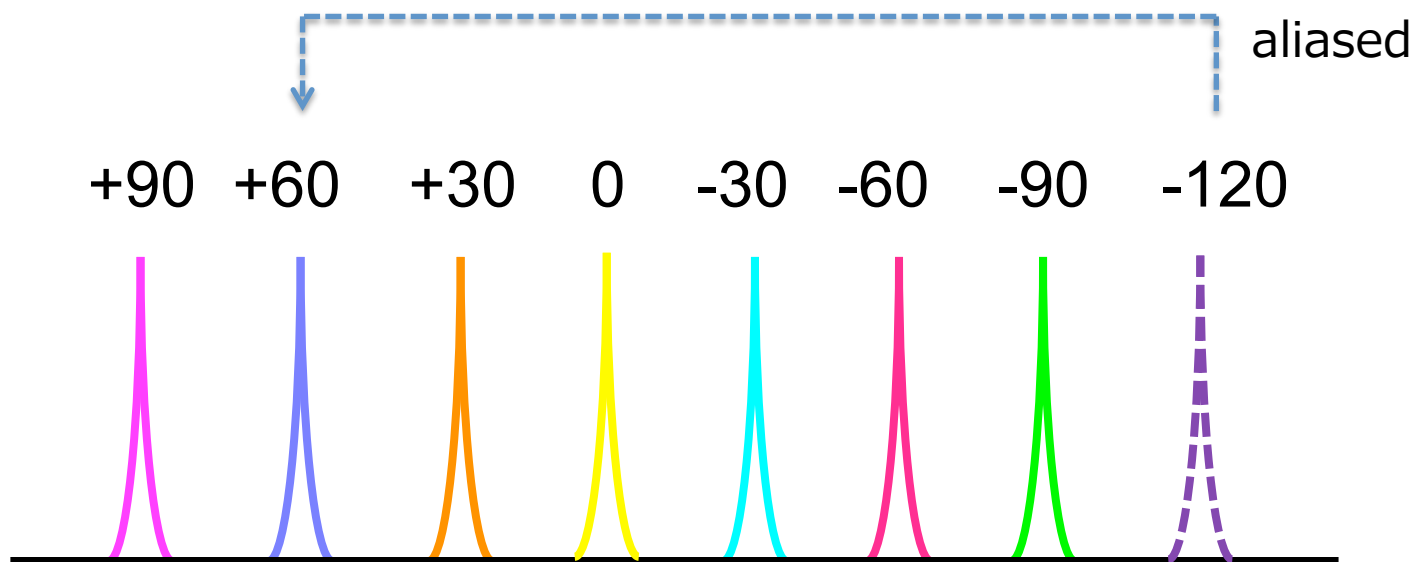
t_1 の開始が $0.5\Delta t_1$ 分だけ遅れると ...



これが t_1 の開始時点



0 次の位相補正: -90°
1 次の位相補正: 180°

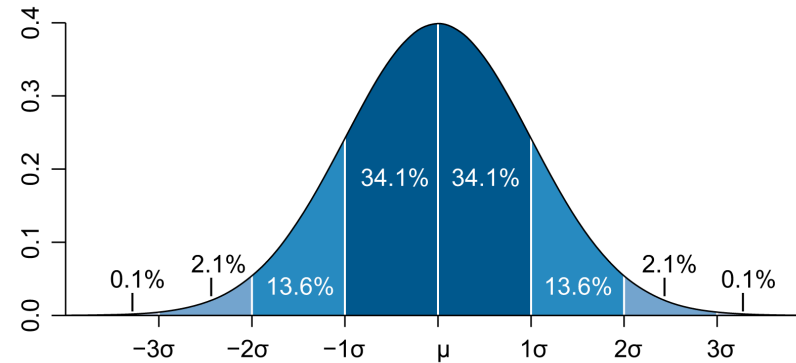


0 次の位相補正: -90°
 1 次の位相補正: 180°

スペクトルの外にはみ出したこのピークは、本来 -120 度の位相補正を受けべきであるが、実際には、折り返して $+60$ 度の位相補正を受けてしまう。

→ 180 度ひっくり返って観える。

¹³C スペクトル幅



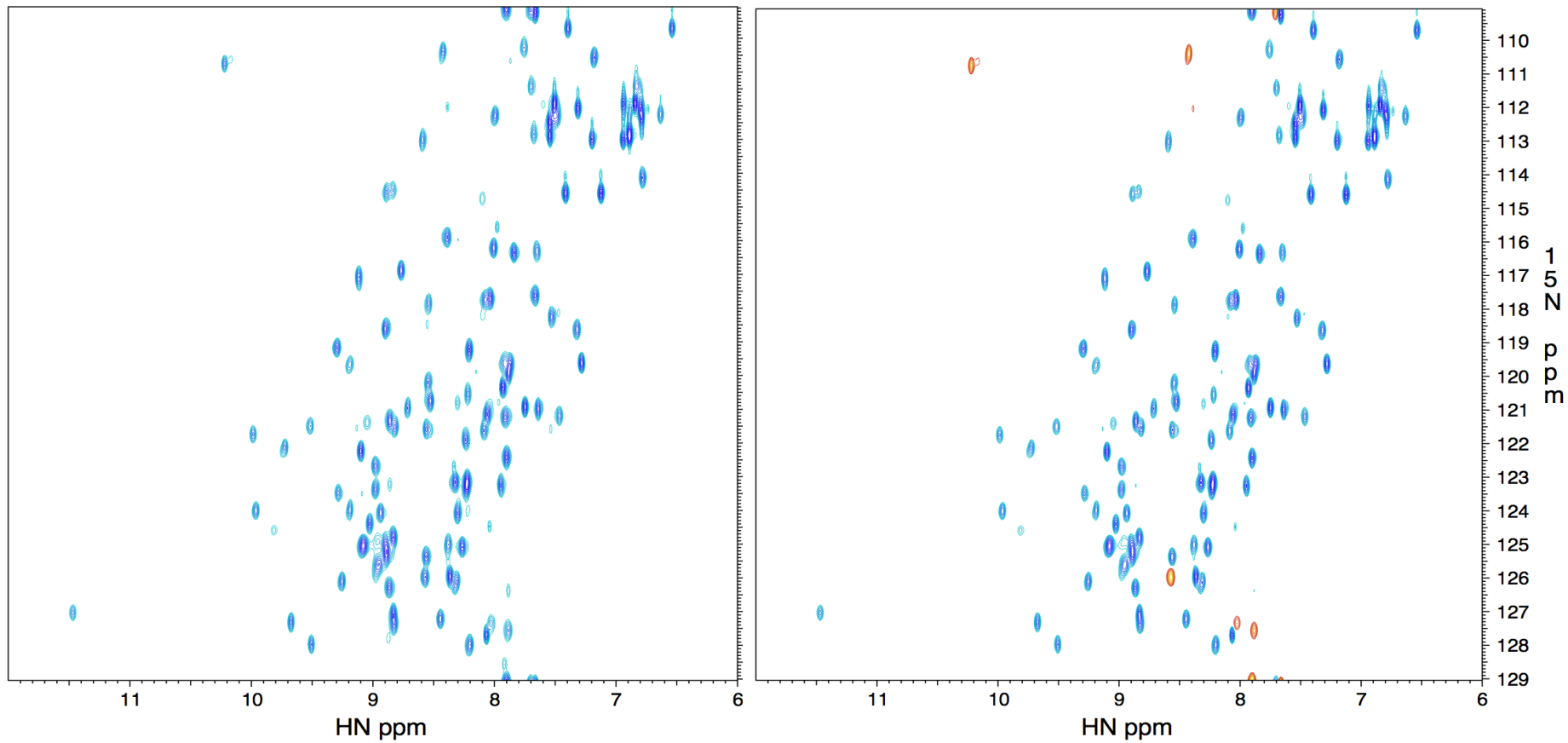
¹³C の化学シフトは *B.M.R.B.* に登録されているので、その分布の統計値をうまく利用する。原則的には、 $\pm 1.5 \sigma$ のスペクトル領域だけを測定すれば、折り返ったピークが中心線を超えることは少ない（念のため、 $\pm 2.0 \sigma$ が安全）。

DG2661271U6

**¹³Co : 176.28 ppm \pm 8.06 (3σ)
よって 11 ppm のスペクトル幅でも充分可能**

**¹³Ca : 56.335 ppm \pm 15.27 (3σ)
よって 21 ppm のスペクトル幅でも充分可能**

アミノ酸を特定しないのであれば、極端に狭い ¹³C スペクトル幅でも十分に主鎖の帰属が、しかも、より正確に出来る → ピーク拾いをしないで、短冊画像どうしのマッチングだけを利用して連鎖帰属を行えばよい。



t_1 の初期値を $\Delta t_1/2$ に設定すると、折り返ったピークは負となるので分かり易い。また、スペクトル幅を少しだけ変えて測定してもよい。

fhscf3gpph, ti_fhscf3gpph - SourceGear DiffMerge 改変した fhscf3gpph

```
1 ;fhscf3gpph
2 ;avance-version (12/01/11)
3 ;2D H-1/X correlation via double inept transfer
4 ;phase sensitive
5 ;with decoupling during acquisition
6 ;
7 ;S. Mori, C. Abeygunawardana, M. O'Neil-Johnson & P.C.M. van Zijl,
8 ; J. Magn. Reson. B 108, 94-98 (1995)
9 ;
10 ;$CLASS=HighRes
11 ;$DIM=2D
12 ;$STYPE=
13 ;$SUBTYPE=
14 ;$COMMENT=
15 ;
16
17 #include <Avance.incl>
18 #include <Grad.incl>
19 #include <Delay.incl>
20
21
22 "p2=p1*2"
23 "p22=p21*2"
24 "d11=30m"
25 "d12=20u"
26 "d13=4u"
27 "d26=1s/(cnst4*4)"
28
29
30 "in0=inf1/2"
31
32 "d0=3u"
33
34
35 "DELTA=d19-p22/2"
36 "DELTA1=d26-p16-d16-p27*3-d19*5-p1*2/PI"
37 "DELTA2=d26-p16-d16-p27*2-p0-d19*5-de-8u"
38 "DELTA4=p21*2/3.1416"
39
40 # ifdef LABEL_CN
41 "DELTA3=d0+larger(p2,p14)/2"
42 # else
43 "DELTA3=d0+p2/2"
44 # endif /*LABEL_CN*/
45
46 "TAU=d26-p16-4u"
47
48
49 "acqt0=0"
50 baseopt_echo
51
52
53 1 ze
54 d11 n116:f3
```

```
1 ;fhscf3gpph
2 ;avance-version (12/01/11)
3 ;2D H-1/X correlation via double inept transfer
4 ;phase sensitive
5 ;with decoupling during acquisition
6 ;
7 ;S. Mori, C. Abeygunawardana, M. O'Neil-Johnson & P.C.M. van Zijl,
8 ; J. Magn. Reson. B 108, 94-98 (1995)
9 ;
10 ;$CLASS=HighRes
11 ;$DIM=2D
12 ;$STYPE=
13 ;$SUBTYPE=
14 ;$COMMENT=
15 ;
16
17 #include <Avance.incl>
18 #include <Grad.incl>
19 #include <Delay.incl>
20
21 "p0=p1"
22 "p27=p1"
23 "p2=p1*2"
24 "p22=p21*2"
25 "d11=30m"
26 "d12=20u"
27 "d13=4u"
28 "d26=1s/(cnst4*4)"
29
30 "in0=inf1/2"
31
32 "d0=inf1/4"
33
34
35 "DELTA=d19-p22/2"
36 "DELTA1=d26-p16-d16-p27*3-d19*5-p1*2/PI"
37 "DELTA2=d26-p16-d16-p27*2-p0-d19*5-de-8u"
38 "DELTA4=p21*2/3.1416"
39
40 # ifdef LABEL_CN
41 "DELTA3=larger(p2,p14)/2"
42 # else
43 "DELTA3=p2/2"
44 # endif /*LABEL_CN*/
45
46 "TAU=d26-p16-4u"
47
48
49 "acqt0=0"
50 baseopt_echo
51
52
53 1 ze
54 d11 n116:f3
```

Changes: 9

d0 を in0 の半分、つまり、inf1/4 に設定する。その代わりに、DELTA3 から d0 を削除する。
蛇足として、watergate の ¹H hard-pulse, p0, p27 が p1 になるように設定している。

fhscf3gpph, ti_fhscf3gpph - SourceGear DiffMerge

改変した fhscf3gpph

```

/Users/tiik/Desktop/fhscf3gpph
53 1 ze
54   d11 p16:f3
55 2 d1 do:f3
56 3 d12 p11:f1
57   50u UNBLKGRAD
58   (p1 ph1)
59   4u
60   p16:gp1
61   TAU p13:f3
62   (center (p2 ph1) (p22 ph6):f3 )
63   4u
64   p16:gp1
65   TAU
66   (p1 ph2)
67   4u
68   p16:gp2
69   d16
70   (p21 ph3):f3
71   DELTA3
72   (p22 ph3):f3
73   DELTA4
74   d0
75
76 #   ifdef LABEL_CN
77   (center (p2 ph5) (p14:sp3 ph1):f2 )
78 #   else
79   (p2 ph5)
80 #   endif /*LABEL_CN*/
81
82   d0
83   DELTA4
84   (p22 ph4):f3
85   DELTA3
86   (p21 ph4):f3
87
88   4u
89   p16:gp2
90   d16
91
92   (p1 ph7)
93   DELTA1
94   p16:gp3
95   d16 p118:f1
96   p27*0.231 ph8
97   d19*2
98   p27*0.692 ph8
99   d19*2
100  p27*1.462 ph8
101  DELTA
102  (p22 ph1):f3
103  DELTA
104  p27*1.462 ph9
105  d19*2
106  p27*0.692 ph9
107  d19*2

/Users/tiik/Desktop/ti_fhscf3gpph
47 1 ze
48   d11 p16:f3
49 2 d1 do:f3
50 3 d12 p11:f1
51   50u UNBLKGRAD
52   (p1 ph1)
53   4u
54   p16:gp1
55   TAU p13:f3
56   (center (p2 ph1) (p22 ph6):f3 )
57   4u
58   p16:gp1
59   TAU
60   (p1 ph2)
61   4u
62   p16:gp2
63   d16
64   (p21 ph3):f3
65   DELTA3
66   (p22 ph3):f3
67   DELTA4
68   d0
69
70 #   ifdef LABEL_CN
71   (center (p2 ph5) (p14:sp3 ph1):f2 )
72 #   else
73   (p2 ph5)
74 #   endif /*LABEL_CN*/
75
76   d0
77   DELTA4
78   (p22 ph4):f3
79   DELTA3
80   (p21 ph4):f3
81
82   4u
83   p16:gp2
84   d16
85
86   (p1 ph7)
87   DELTA1
88   p16:gp3
89   d16 ; p118:f1
90   p27*0.231 ph8
91   d19*2
92   p27*0.692 ph8
93   d19*2
94   p27*1.462 ph8
95   DELTA
96   (p22 ph1):f3
97   DELTA
98   p27*1.462 ph9
99   d19*2
100  p27*0.692 ph9
101  d19*2

```

Changes: 9

蛇足として、watergate の ^1H hard-pulse, pL18 が pL1 になるように設定している。

Bruker TopSpin 3.2 on avance950 as guest

Start Acquire Process Analyse Publish View Manage

Sample Lock Tune Spin Shim Prosol SetLimits Gain Go Options

ha TS expl
splitcomb atm1 popt

Browser Last50 Groups

1 Sugimoto 32 1 /opt/topspin/data/tiik/nmr

Spectrum ProcPars **AcquPars** Title PulseProg Integrals Plot Fid Acqu Phase Baseline

Probe: 5 mm CPTCI 1H-13C/15N/D Z-GRD Z106396/0001

Parameter	Value	Parameter	Value	
General	TD	3072	Time domain size	
Channel f1	SWH [Hz, ppm]	18939.39	19.9292	Sweep width
Channel f2	AQ [sec]	0.0811008	Acquisition time	
Channel f3	RG	64	Receiver gain	
Gradient channel	DW [µsec]	26.400	Dwell time	
	DE [µsec]	10.00	Pre-scan-delay	
	CNST4	95.0000000	= J(YH)	
	d0 [sec]	0.00014350	Incremented delay (2D)	[3 usec]
	D1 [sec]	1.55999994	Relaxation delay; 1-5 * T1	
	d11 [sec]	0.03000000	Delay for disk I/O	[30 msec]
	d12 [sec]	0.00002000	Delay for power switching	[20 usec]
	d13 [sec]	0.00000400	Short delay	[4 usec]
	D16 [sec]	0.00020000	Delay for homospoil/gradient recovery	
	D19 [sec]	0.00005700	Delay for binomial water suppression	
	d26 [sec]	0.00263158	1/(4J(YH))	
	DELTA [sec]	0.00001550	DELTA=d19-p22/2	
	DELTA1 [sec]	0.00110734	DELTA1=d26-p16-d16-p27*3-d19*5-p1*2/PI	

re 43
re 21

Acquisition information
Name/Expt: fukamizo/12
Scan Exp.: 30/32 3114/3200
Residual time: 1h4m27s

Sample POWCHK VTU Spooler
[Kelvin] 299.0
queued: 1
delayed: 0
cron: 2

15N スペクトル幅を広くとり過ぎると d0 の初期値が負の値になってしまう。標準パルスプログラムでは、これを防ぐ目的であえて d0 が 3µs になるように設定されている。よって、ased で d0 の値を確かめておく。

Bruker TopSpin 3.2 on avance950 as guest

Start Acquire Process Analyse Publish View Manage

Sample Lock Tune Spin Shim Prosol SetLimits Gain Go Options

ha TS expl
splitcomb atm1 popt

Browser Last50 Groups

1 Sugimoto 21 1 /opt/topspin/data/tiik/nmr

Spectrum ProcPars AcqPars Title PulseProg Integrals Plot Fid Acqu Phase Baseline

Spectrum Parameters:

Reference	SI	2048	512	Size of real spectrum
Window	SF [MHz]	950.3297087	96.2961007	Spectrometer frequency
Phase	OFFSET [ppm]	14.97117	128.06960	Low field limit of spectrum
Baseline	SR [Hz]	-291.30	-2.29	Spectrum reference frequency
Fourier	HZpPT [Hz]	9.247751	3.402657	Spectral resolution
NUS	SPECTYP	UNDEFINED		Type of spectrum e.g. COSY, HMQC, ...
Peak	Window function			
Automation	WDW	QSINE	QSINE	Window functions for trf, xfb, ...
Miscellaneous	LB [Hz]	0.30	0.30	Line broadening for em
User	GB	0	0.1	Gaussian max. position for gm, 0<GB<1
	SSB	2	2	Sine bell shift SSB (0,1,2,...)
	TM1	0	0.1	Left limit for tm 0<TM1<1
	TM2	0	0.9	Right limit for tm 0<TM2<1
	Phase correction			
	PHC0 [degrees]	152.400	90.000	0th order correction for pk
	PHC1 [degrees]	0	-180.000	1st order correction for pk

re 43
re 21

Acquisition information
Name/Expno: fukamizo/12
Scan Exp.: 31/32 3111/3200
Residual time: 1h6m42s

Sample POWCHK VTU Spooler
[Kelvin] 299.0
queued: 1
delayed: 0
cron: 2

edp の設定が重要。¹⁵N 軸の PHC0 と PHC1 を上記のように設定する。これで、折り返ったピークが負になる。ちなみに QSINE (SSB=2) にしておくと、どのようなスペクトル幅でもきれいに対応できる。

Bruker TopSpin 3.2 on avance950 as guest

Start Acquire Process Analyse Publish View Manage

Sample Lock Tune Spin Shim Prosol SetLimits Gain Go Options

ppm Hz

ha TS expl
splitcomb atm1 popt

Browser Last50 Groups

1 Sugimoto 21 1 /opt/topspin/data/tiik/nmr

Spectrum ProcPars AcqPars Title PulseProg Integrals Plot Fid Acqu Phase Baseline

S 12 M

Reference	ABSG	5	5	Degree of polynomial for abs (0..5)
Window	ABSF1 [ppm]	20.00000	1000.00000	Left limit for absf
Phase	ABSF2 [ppm]	5.00000	-1000.00000	Right limit for absf, abs1, abs2
Baseline	BCFW [ppm]	1.00000	1.00000	Filter width for bc (sfil/qfil)
Fourier	COROFFS [Hz]	0	0	Correction offset for BC_MOD=spol etc.
NUS	BC_mod	no	no	Fid baseline modes for em, ft, xfb,...
Peak	Fourier transform			
Automation	TDeff	0	0	Number of fid data points used by ft
Miscellaneous	STSR	0	0	First output point of strip transform
User	STSI	0	0	Total number of output points of strip transform
	ME_mod	no	LPfc	Linear prediction for ft, xfb, ...
	NCOEF	0	32	Number of LP coefficients
	LPBIN	0	0	Number of output points for LP
	TDoff	0	0	Number of back-predicted points
	REVERSE	FALSE	FALSE	Reverse spectrum during transform
	FCOR	0.5	1	Weighting factor for first fid point
	PKNI	TRUE		Group delay compensation

re 43
re 21

Acquisition information
Name/Expno: fukamizo/12
Scan Exp.: 8/32 3113/3200
Residual time: 1h5m44s

Sample
POWCHK
VTU [Kelvin]
299.0

Spooler
queued: 1
delayed: 0
cron: 2

edp の設定が重要。¹⁵N 軸の FCOR を 1 に設定する。これは、d0 がすでに dwell-time の半分になっており、FCOR が不要になるためである。