

Autoreferat rozprawy doktorskiej:
Application of the sparse regularization in NMR
Diffusometry measurements.

Mateusz Urbańczyk
Wydział Chemii
Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych
Uniwersytet Warszawski

Promotor: prof. dr hab. Wiktor Koźmiński
Promotor pomocniczy: dr hab. Krzysztof Kazimierczuk

22 maja 2017

Dyfuzyjna spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) jest techniką o bardzo szerokim zastosowaniu. Technika jest używana w badaniach mieszanin (włącznie z płynami ustrojowymi), badaniach polimerów, monitorowaniu reakcji oraz w wielu innych problemach.

Zadaniem metod dyfuzyjnych NMR jest odkodowanie współczynników dyfuzji z mierzonego sygnału. Do tego celu używa się odwrotnej transformaty Laplace'a, której natura generuje wiele problemów. Główną przeszkodą jest niestabilność numeryczna procedury.

Celem niniejszej pracy jest wprowadzenie regularyzacji rzadkiej oraz prawie-rzadkiej do ILT. Dodatkowo wprowadzono pierwszą na świecie szybką metodę pomiaru wielowymiarowych widm NMR z jednym wymiarem Laplace'owskim (dyfuzyjnym, albo relaksacyjnym).

Praca składa się z trzech części:

- Omówienie Metodologii
- Narzędzia oparte na więzach rzadkości dla NMRu
- Zastosowania.

Pierwsza część zawiera trzy rozdziały. W pierwszym rozdziale zostają omówione podstawowy metodologii NMR. W szczególności stany energetyczne spinu w polu magnetycznym, przesunięcie chemiczne, sprzężenie, podstawy Fourierowskiej spektroskopii NMR oraz zjawisko relaksacji.

Drugi rozdział poświęcony jest zjawisku dyfuzji. Po wprowadzeniu definicji i podstawowych pojęć związanych z tym zjawiskiem, praca skupia się na omówieniu wybranych metod mierzenie współczynnika dyfuzji.

Szczególne uwaga zwrócona jest na dyfuzyjny NMR. Omówione są podstawy tej metody, sposoby pomiaru, ograniczenia związane z pomiarem. Wprowadzone

jest pojęcie odwrotnej transformaty Laplace'a (ILT), która jest głównym problemem numerycznym w pomiarach współczynników dyfuzji za pomocą NMRu.

W dalszej części zostają omówione metody na obliczanie odwrotnej transformaty Laplace'a dla eksperymentów dyfuzyjnych z podziałem na dwie główne grupy: „Univariate“ oraz „Multivariate”.

Rozdział trzeci skupia się na omówieniu NMR w o więcej niż jednym wymiarze Fourierowskim. Rozdział rozpoczyna się opisem zasad pomiaru wielowymiarowego eksperymentu NMR na przykładzie pomiaru HSQC. Następnie pojawia się rozszerzenie tego eksperymentu na widma trójwymiarowe, gdzie jeden z wymiarów jest wymiarem Laplace'owskim, czyli na trójwymiarowe eksperymenty dyfuzyjne oraz relaksacyjne.

Druga część składa się z dwóch rozdziałów. W pierwszym z nich zostaje przedstawiona zostaje klasyczna teoria próbkowania Nyquista-Shannona. W opozycji do niej i jej ograniczeń zostaje omówiona teoria Oszczędnego Próbkowania (CS) oraz jej podstawowe założenia.

Następnie wprowadzone są zastosowania teorii CS w spektroskopii NMR.

Kolejnym podrozdziałem w pracy jest omówienie wprowadzenia więzów rzadkości do dyfuzyjnych pomiarów NMR na podobieństwo teorii CS. Omówione zostają przyczyny dla których nie można ściśle zastosować klasycznej teorii CS dla takiego typu sygnałów. Zostaje przedstawione pojęcie regularyzacji Tikhonova z więzami rzadkości jako odpowiednika tej teorii dla ILT.

W oparciu o założenia regularyzacji Tikhonova oraz więzy rzadkości wprowadzony zostaje nowy algorytm ITAMeD (Iteracyjny progowy algorytm dla zaników wielowykładniczych). Pokazane zostają wyniki testów tegoż algorytmu na trzech różnych symulacjach oraz dla porównania wyniki konkurencyjnych metod takich jak Maksimum Entropii (MaxEnt) oraz CONTIN.

W kolejnym podrozdziale metoda ITAMeD zostaje rozszerzona na układ trójwymiarowych losowo próbkowanych widm z jednym z wymiarów Laplace'owskim. Na początku pokazane zostaje podobieństwo metod CS dla losowo próbkowanych widm NMR oraz regularyzacji Tikhonova z więzami rzadkości. Obie metody zostają połączone dla losowo próbkowanego sygnału będącego iloczynem wymiaru Fourierowskiego oraz Laplace'owskiego. Przedstawione zostają teoretyczne zalety takiego rozwiązania oraz możliwe zastosowania w widmach typu 3D HSQC-iDOSY oraz serii relaksacyjnych HSQC. Dodatkowo pokazane zostają wyniki symulacji dla widm 3D HSQC-iDOSY.

Drugi rozdział tej części dotyczy regularyzacji dopasowanej, czyli procedury, która automatycznie dobiera balans między więzem rzadkości, a „gładkością” rozwiązania.

Rozdział zaczyna się od przedstawienia motywacji dla takiego rodzaju regularyzacji. Następnie wprowadza koncepcję regularyzacji dopasowej (Tailored norm) oraz przedstawia algorytm, który przeprowadza regularyzację dla ILT z automatycznie dobieraną normą ℓ_p oraz pokazuje potencjalne zastosowanie takiej regularyzacji w symulacjach próbek o różnej polidispersyjności.

Trzecia część przedstawia przykłady zastosowań nowych metod omówionych w części drugiej. Część ta składa się z sześciu rozdziałów.

Pierwszy z tych rozdziałów przedstawia zastosowanie algorytmu ITAMeD do analizy mieszanin polimerów PEG o różnej masie cząsteczkowej. Pokazane

wyniki oraz porównanie z konkurencyjnymi metodami wskazuje na zdecydowaną przewagę metody dla układów o wielowykładniczym zaniku.

W dalszej części rozdziału pokazane zostaje zastosowanie dopasowanych norm do analizy polimerów o wysokiej dyspersji. Zademonstrowana zostaje przydatność tej metody do wyznaczenia stopnia dyspersyjności (PDI) polimeru za pomocą eksperymentu NMR.

W drugim rozdziale pokazane zostaje zastosowanie dopasowanej regularyzacji do badań płynów ustrojowych (w szczególności osocza krwi). Pokazano analizę próbek osocza krwi dziesięciu ochotników. Krew pobrano przed i po posiłku. Następnie zmierzono widmo dyfuzyjne NMR oraz przetworzono je. W widmie poddano analizie rejon odpowiadający lipidom demonstrując możliwość jasnego podziału na różne frakcje cholesterolu w takim widmie. Dodatkowo całkując rejon widma odpowiadające cholesterolowi o wysokiej gęstości oraz o niskiej gęstości udało się uzyskać prostą metodę rozróżniającą próbki osocza pobrane przed i po posiłku. Wskazuje to, że metodę można użyć do badań chorób związanych z frakcją lipidową osocza.

W rozdziale trzecim pokazano zastosowanie dyfuzyjnych pomiarów NMR do monitorowania reakcji. Po omówieniu koncepcji „kroczącej klatki” zaproponowano adaptację tej metody dla eksperymentów dyfuzyjnych oraz przedstawiono jej zastosowanie na przykładzie monitorowania rozkładu heparyny przez enzym heparynazę.

Kolejny rozdział przedstawia zastosowanie metod dla losowo próbkowanych widm 3D HSQC-iDOSY. Pokazano wyniki dwóch eksperymentów, wraz z porównaniem z klasycznym pomiarem. Pierwszą badaną próbką była mieszanina alaniny, cytrynianu, TMA oraz tauryny, która służy za prosty model płynu ustrojowego, druga próbka zaś była mieszaniną kwercetyny oraz rutyny. Ta próbka została wybrana ze względu na zbliżoną strukturę obu związków i związanym z tym silnym nakrywaniem pików, co jest dodatkowym utrudnieniem w analizie widma.

W przedostatnim rozdziale przedstawiono modyfikację wyżej opisanej metody dla widm relaksacyjnych ^{15}N T1-HSQC dla trzech różnych białek SH3, GB1 oraz ubikwityny. Pokazano porównanie uzyskanych wyników z wynikami uzyskanymi metodą klasyczną, sprawdzono wpływ ilości zmierzonych punktów na dokładność rekonstrukcji oraz dla ubikwityny dokonano porównania z wynikami uzyskanymi niedawno przedstawioną konkurencyjną metodą analizy losowo próbkowanych widm relaksacyjnych z użyciem przetwarzania co-MDD.

Ostatni rozdział niniejszej pracy zawiera opis wpływu przedstawionych tu badań na dziedzinę spektroskopii NMR oraz plany dalszego wykorzystania tych metod w przyszłości.

Wyniki przedstawionych w rozprawie badań zostały opublikowane w następujących artykułach:

1. M. Urbańczyk, D. Bernin, W. Koźmiński, and K. Kazimierczuk, “Iterative Thresholding Algorithm for Multiexponential Decay applied to PGSE NMR data,” *Anal. Chem.*, vol. 85, no. 3, pp. 1828–1833, 2013.
2. M. Urbańczyk and K. Kazimierczuk, “A method for joint sparse sampling of time and gradient domains in diffusion-ordered NMR spectroscopy,” in *Signal Processing Symposium (SPS) 2013*, , pp. 1–6, 2013.

3. M. Urbańczyk, W. Koźmiński, and K. Kazimierczuk, “Accelerating Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy by Joint Sparse Sampling of Diffusion and Time Dimensions,” *Angew. Chemie Int. Ed.*, vol. 53, no. 25, pp. 6464–6467, 2014.
4. M. Urbańczyk, D. Bernin, A. Czuroń, and K. Kazimierczuk, “Monitoring polydispersity by NMR diffusometry with tailored norm regularisation and moving-frame processing,” *Analyst*, vol. 141, no. 5, pp. 1745–1752, 2016.
5. M. Urbańczyk, M. Nowakowski, W. Koźmiński, K. Kazimierczuk, “Joint non-uniform sampling of all incremented time delays for quicker acquisition in protein relaxation studies”, *Journal of Biomolecular NMR*, doi:10.1007/s10858-017-0115-8, 2017