

Spektroskopia NMR

Maria Prus-Głowacka
Ćwiczenie 4 z Biologii systemów

Czerwiec 2025

1 Wstęp

Metabolomika jest dziedziną nauki, która zajmuje się badaniem produktów metabolizmu. Wśród technik wykorzystywanych do analiz zarówno ilościowych, jak i jakościowych, są spektrometra mas (MS) oraz magnetyczny rezonans jądrowy (NMR).

Spektroskopia NMR to technika służąca do badania struktury cząsteczek. Wykorzystuje właściwości magnetyczne jąder atomowych, szczególnie jądra wodoru (1H) oraz węgla (^{13}C). Jądra te, dzięki niezerowemu spinowi jądrowemu, oddziałują z wirującym polem magnetycznym. Wysyłany sygnał radiowy pobudza jądra, które wracając w stan spoczynku, emitują sygnał pozwalający na analizę środowiska chemicznego jądra. W metabolomice spektroskopię NMR wykorzystuje się do tworzenia profili metabolicznych.

Celem ćwiczenia była analiza danych pochodzących z badania mającego na celu sprawdzenie, jak zmienia się poziom metabolitów w moczu, z próbek pochodzących od sześciu wolontariuszy, przebywających w ustandaryzowanym i stabilnym środowisku. Analiza skupiła się wokół 29 widm NMR uzyskanych z próbki jednego z wolontariuszy oraz jednego widma QC. [1]

2 Metody

Dane eksperymentalne to widma NMR stworzone z moczu pobranego od pewnego pacjenta w ciągu 716 dni. Pierwsze 25 próbek było pobieranych co 10 dni, następnie próbki były pobierane w dniu 254, 713 oraz 716. Próbką została pobrana także w dniu pierwszym eksperymentu. Widma zostały znormalizowane oraz usunięto intensywności < 0 .

Biblioteka referencyjna została przygotowana z widm eksperymentalnych oraz przewidywanych pobranych z bazy HMDB. HMDB (*ang. Human Metabolome Data Base*) jest bazą przechowującą informacje na temat małych metabolitów znajdujących się w ludzkim organizmie. Każdy rekord zawiera dane chemiczne, kliniczne, biochemiczne oraz enzymatyczne. Z metabolitów znajdujących się w moczu 772 z nich posiada widmo eksperymentalne a spośród tych 649 zostało skwantyfikowane.

Spośród 35 metabolitów wybranych do analizy 26 posiada widmo eksperymentalne. Dla każdego z 35 wybranych metabolitów wybrano jedno widmo z bazy HMDB. Jeśli istniały

widma eksperymentalne, oraz nie były one puste wybrano widmo o największej częstotliwości. Jeśli nie było dostępne widmo eksperymentalne, wybrano niepuste widmo przewidywane o największej częstotliwości. Widma znormalizowano oraz usunięto intensywności poniżej zera.

Parametry κ są parametrami regulacyjnymi w analizie proporcji komponentów. $\kappa_{mixture}$ kontroluje gładkość i rozrzut widm eksperymentalnych, a $\kappa_{components}$ kontroluje gładkość i rozrzut widm składowych z biblioteki referencyjnej.

3 Wyniki

Szacowanie proporcji odbyło się za pomocą domyślnego solvera biblioteki pulp oraz solvera serwera gurobi. Wyniki były następujące: solver pulp estymował, że procent szumu w komponentach był mniejszy niż serwer gurobi (3% oraz 18%) a solver gurobi wyestymował mniejszy szum w spektrach komponentów (72% oraz 47%). Ze względu na szybkość działania wybrano do dalszych analiz solver gurobi..

Parametry κ zostały dobrane tak aby zbalansować szum w spektrach komponentów oraz eksperymentalnych. Najlepszy wynik otrzymano przy wartościach $\kappa_{mixture} = 27$, $\kappa_{components} = 26$.

Aby sprawdzić jak zmienia się proporcja komponentów w trakcie czasu eksperymentu przeprowadzono estymację proporcji wszystkich próbek moczu. Wyniki były ciekawe, ponieważ według nich proporcje nie zmieniały się w trakcie trwania eksperymentu. Solver wykrywa jedynie ostatni komponent w spektrum mikstury.

Literatura

- [1] Domżał B., Nawrocka E., K. Gołowicz, D. Ciach, M. A., Miasojedow B., Kazimierczuk K., and Gambin A. *Magnetstein: An Open-Source Tool for Quantitative NMR Mixture Analysis Robust to Low Resolution, Distorted Lineshapes, and Peak Shifts*. Analytical Chemistry, 2023.