

ノンターゲットメタボローム解析データの利活用に向けたMassBank Humanの開発

早坂 亮祐¹、鳥越 大平²、高橋 政友²、和泉 自泰²、平山 明由¹、松田 史生²

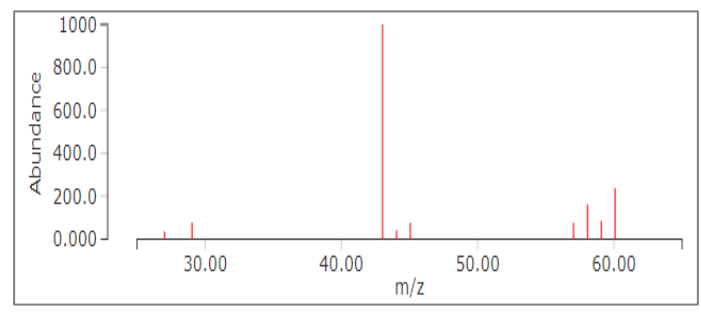
¹ 慶應義塾大学、² 大阪大学



ノンターゲット解析

【ユーザー】

不明な代謝物質のマススペクトル



検索

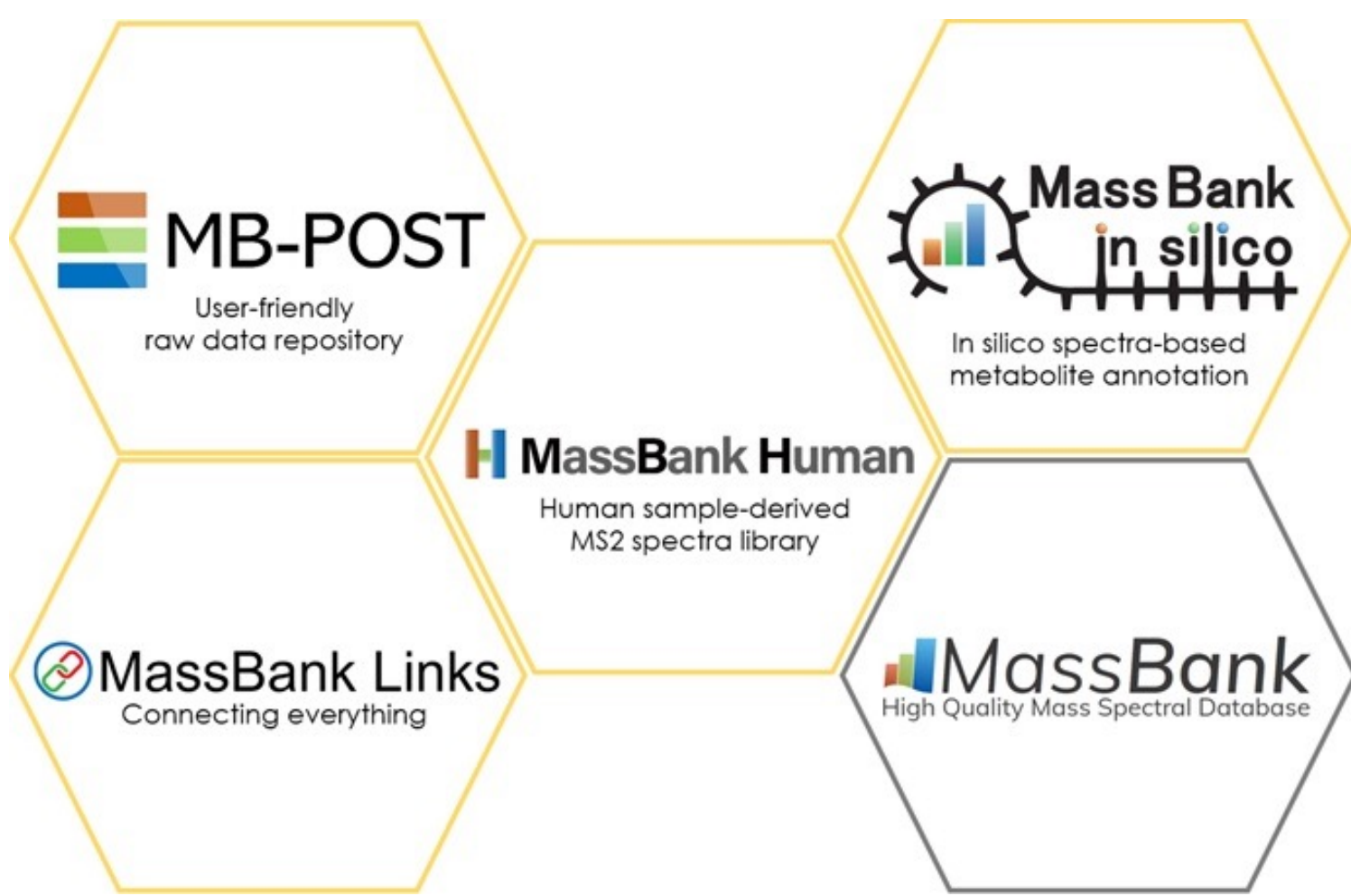
出力



【スペクトル提供者】

標準化合物を様々なMSの条件で測定したデータ

シン・マスバンクプロジェクト



Shin-MassBank

代表：松田史生
(大阪大学)

<https://shin.massbank.jp/>

MassBankレコードの拡充のために、シン・マスバンクプロジェクトを立ち上げ (JST統合化推進プログラム2023年度採択)

問題点

実測のサンプルにおいて代謝物質の同定に至るのは**10%以下**

→ 同定率を向上させたい

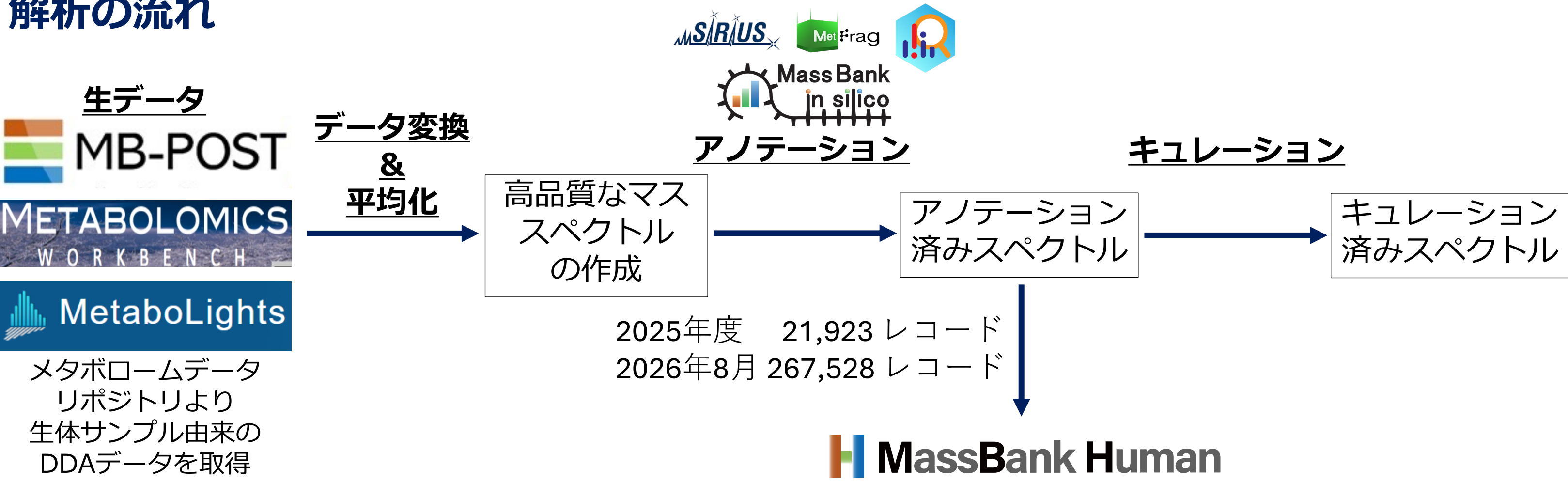
→多くのスペクトルは未知代謝物質のまま

生体サンプル由来スペクトルライブラリ

MassBank Human

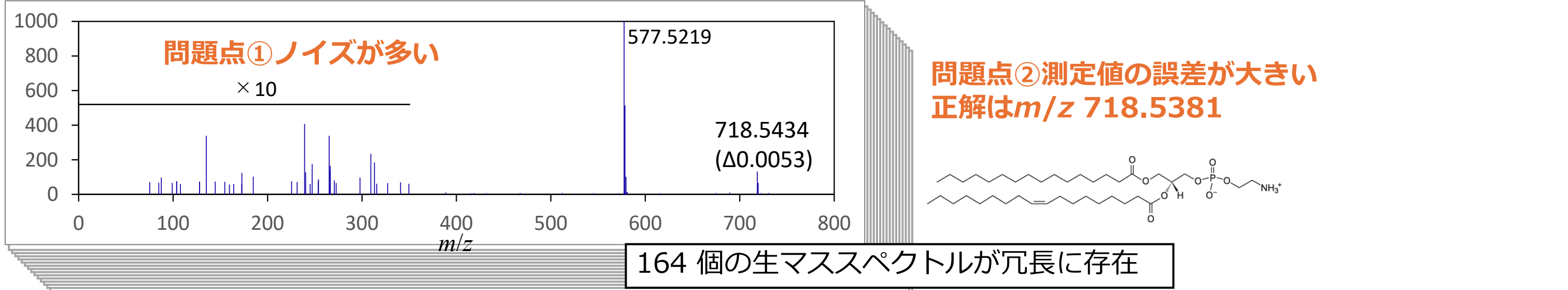
- 生物由来DDAデータファイルから生成した高精度プロダクトイオンスペクトルを収集
- 構造既知代謝物 (Known-known) に加え、構造未知代謝物 (Known-unknown, Unknown-unknown) データも検索可
- GitHubにて、約26.8万スペクトルをMassBankフォーマットで公開中

解析の流れ

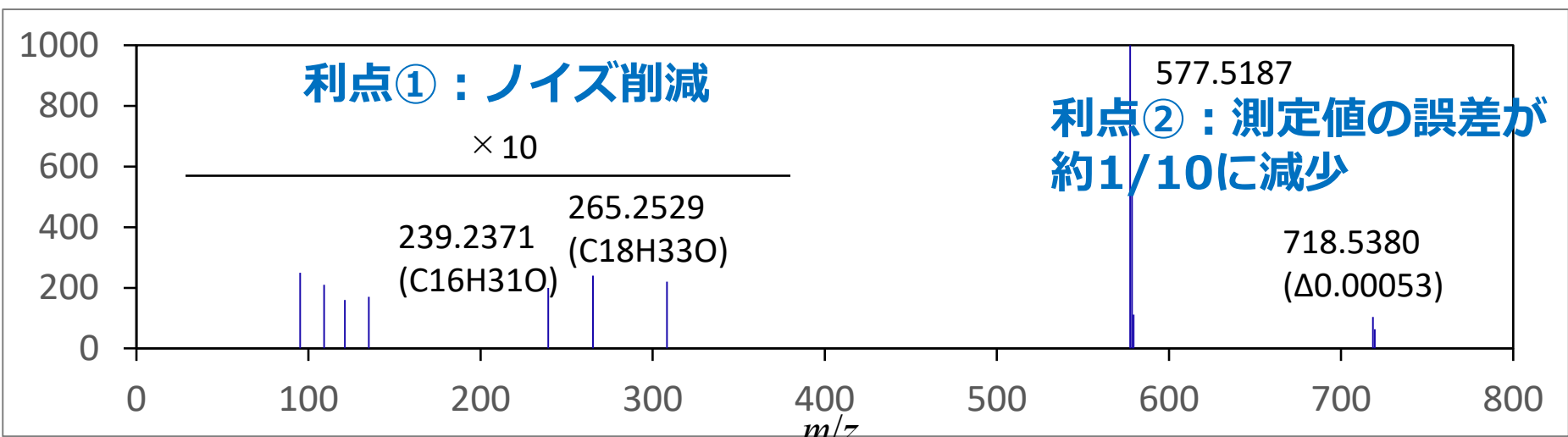


平均化

酵母リピドミクスで得られたリン脂質の生マススペクトル 164個

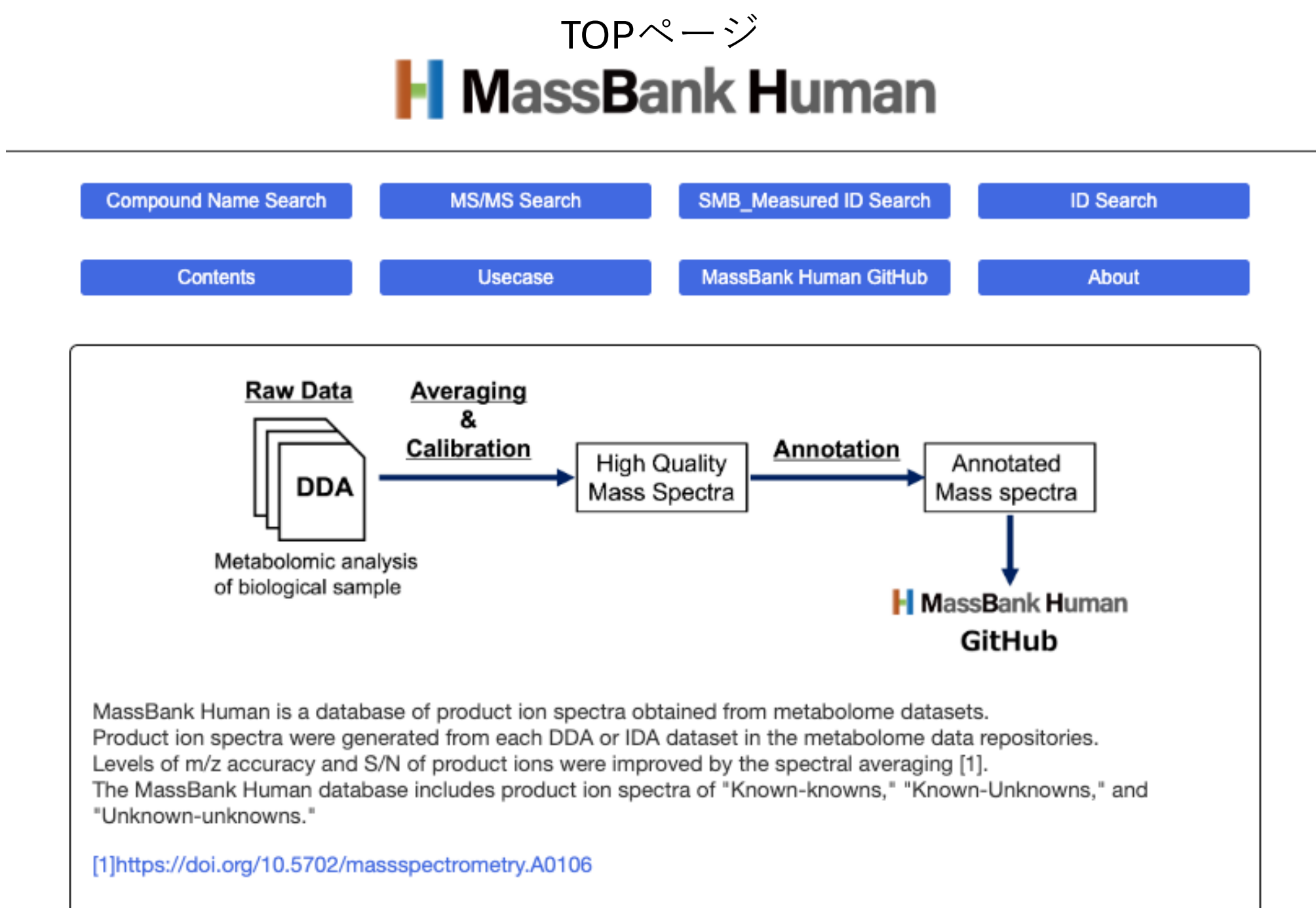


平均化



平均化することで高品質なマススペクトルを作成可能

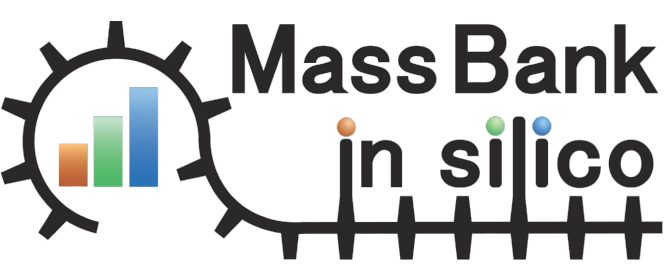
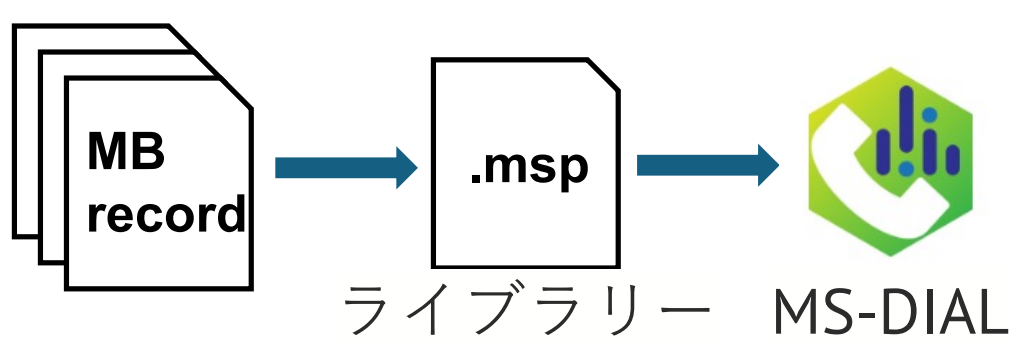
HP



Shin-MassBank内の連携

MS-DIALに対応させたライブラリーのダウンロード機能の構築

MassBank HumanはMS/MSスペクトル1つずつの検索に特化している複数のMS/MSスペクトルに関しては、MS-DIALで解析を行っていただく検索画面からMS-DIALに対応したmspファイルをダウンロード可能にした



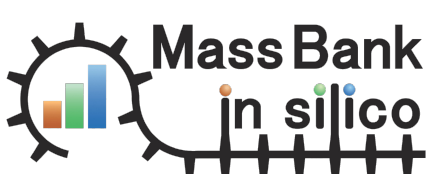
高精度 *in silico* 予測フラグメントに基づく未知代謝物質の構造アノテーションツール

MassBank in silico と連携し、1つのMS2スペクトル (レコード) に対して、相互検索できる仕組みを構築

<https://insilico.massbank.jp/>



→得られたMS2スペクトルに関して、想定される化合物が知りたい



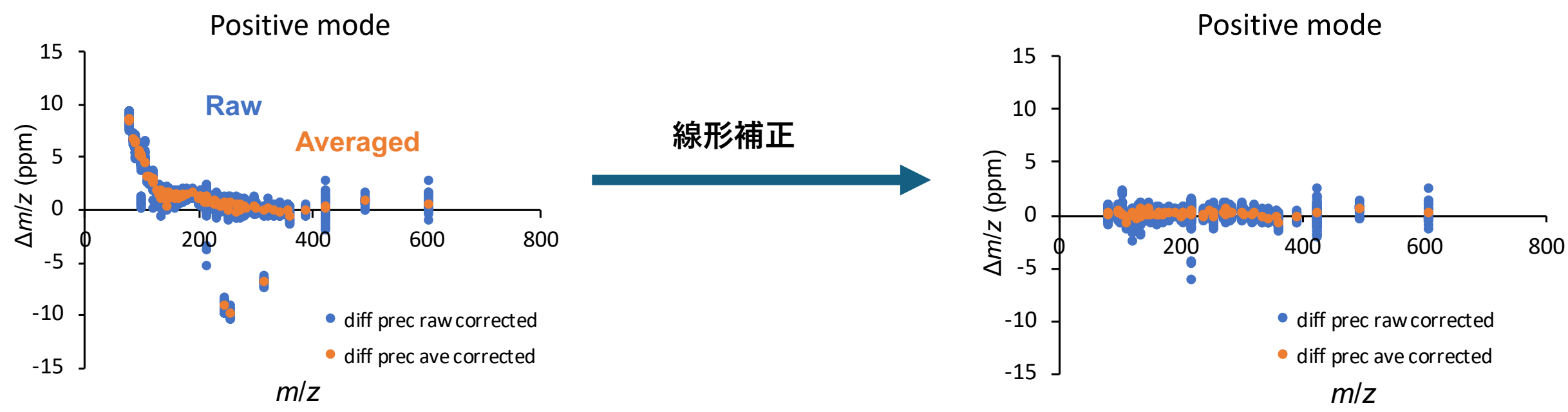
→想定される化合物に関して調べ、そのMS2スペクトルが他の研究で検出されているのか知りたい

謝辞 本研究は、JST統合化推進プログラム (JPMJND2305) の支援を受け、実施しました。この場をお借りし、感謝申し上げます。

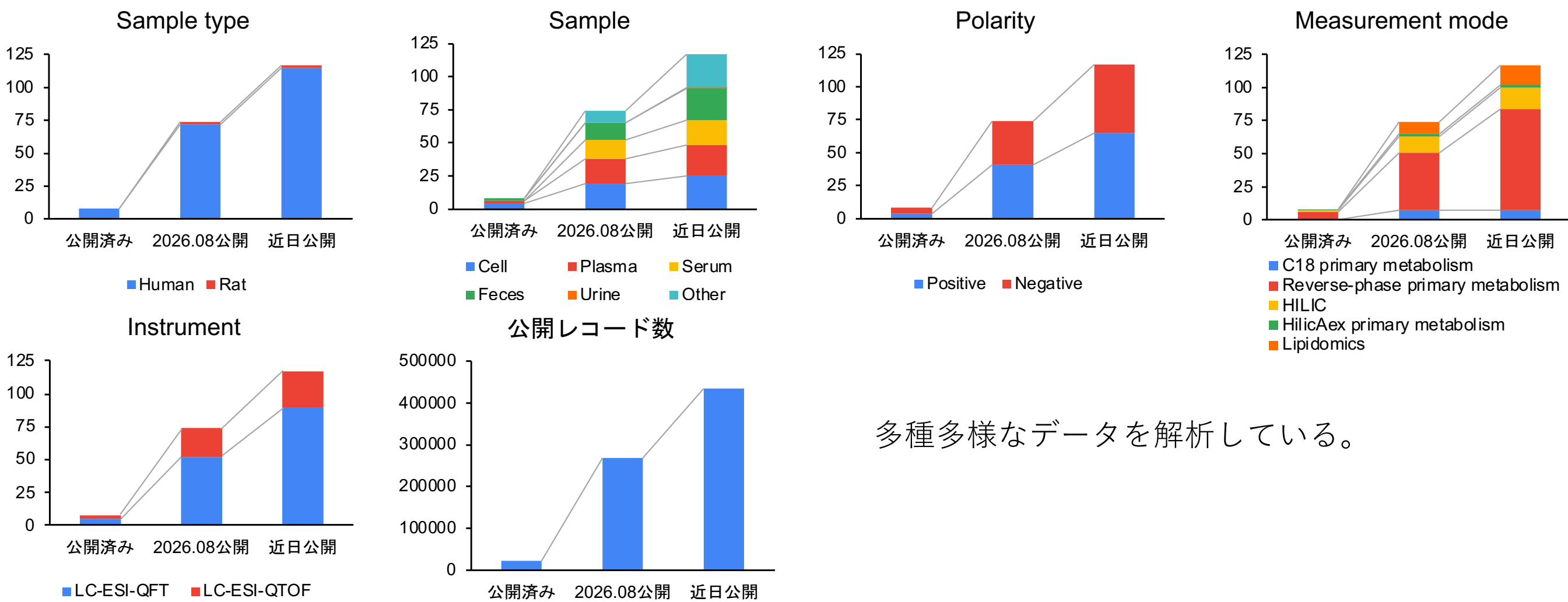
線形補正

MassBankと照らし合わせ、*m/z*のずれを算出し、線形補正

(例：MetaboLights MTBLS6402 Human cell line)



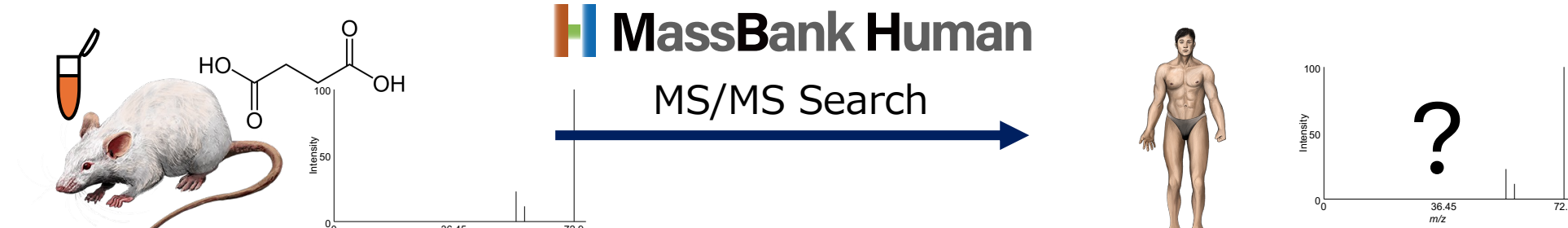
現在の解析状況



多種多様なデータを解析している。

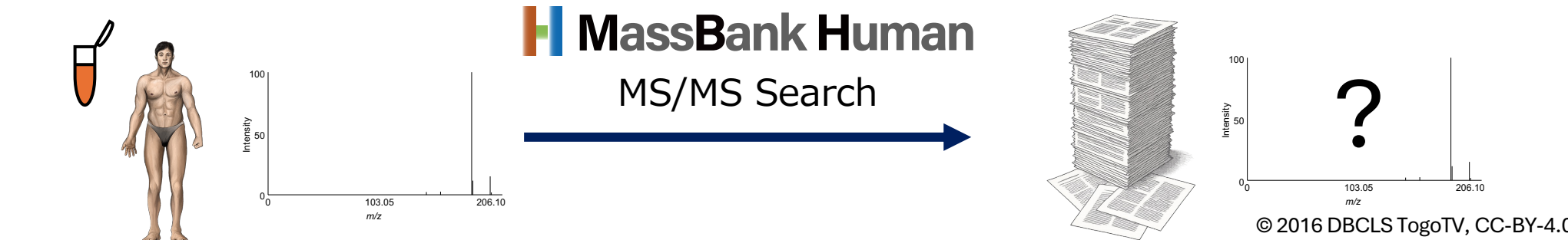
想定される使用例

① マウスで見られたバイオマーカーがヒトにはあるのか？



→ バイオマーカー探索の過程の選択に役立つ

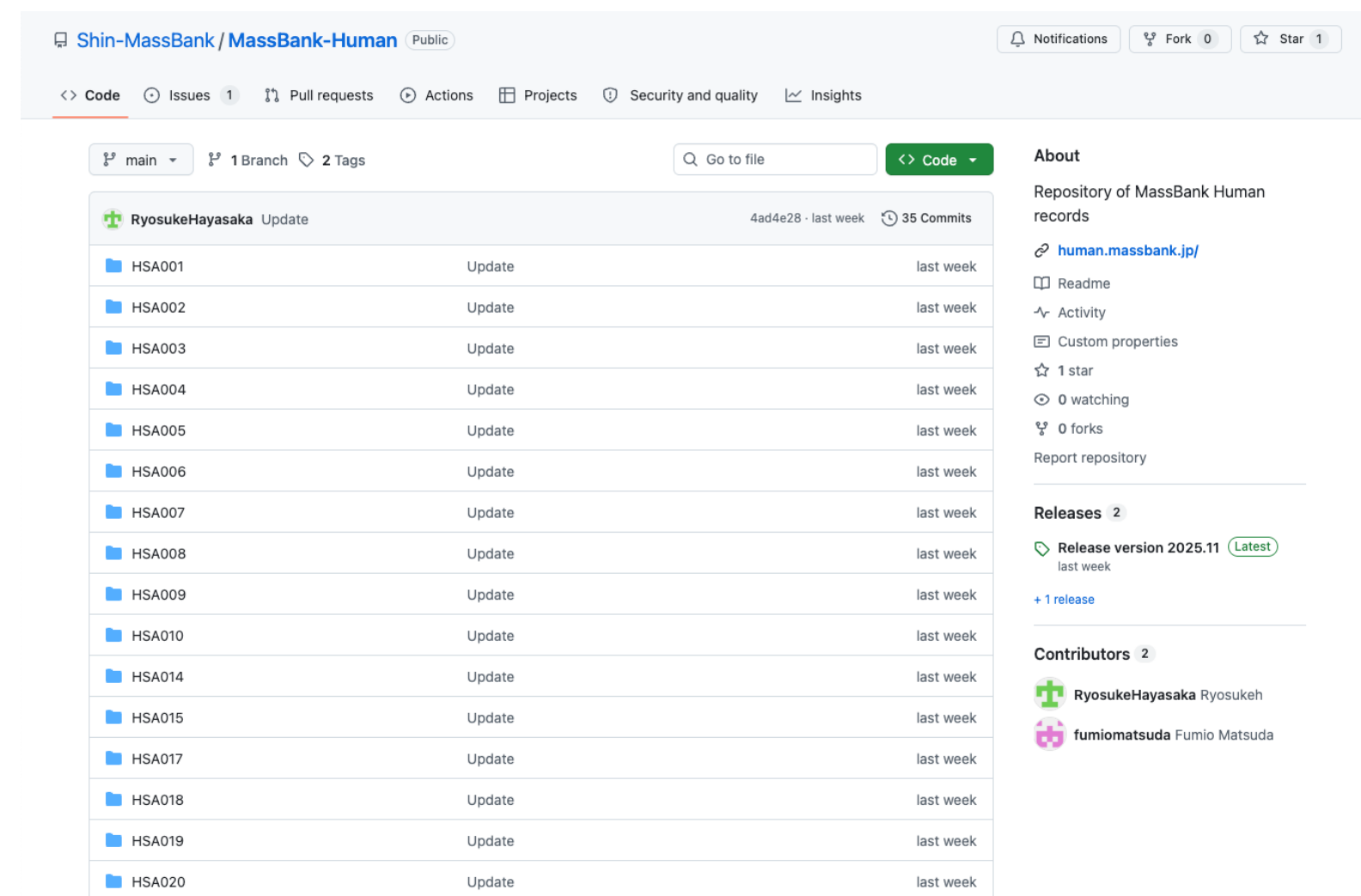
② ヒトの血漿で見られたMS/MSスペクトルが他の研究においても検出されているのか知りたい



→分析結果の信頼性を判断するために有用である

GitHub

<https://github.com/Shin-MassBank/MassBank-Human>



解析可能なソフトウェア



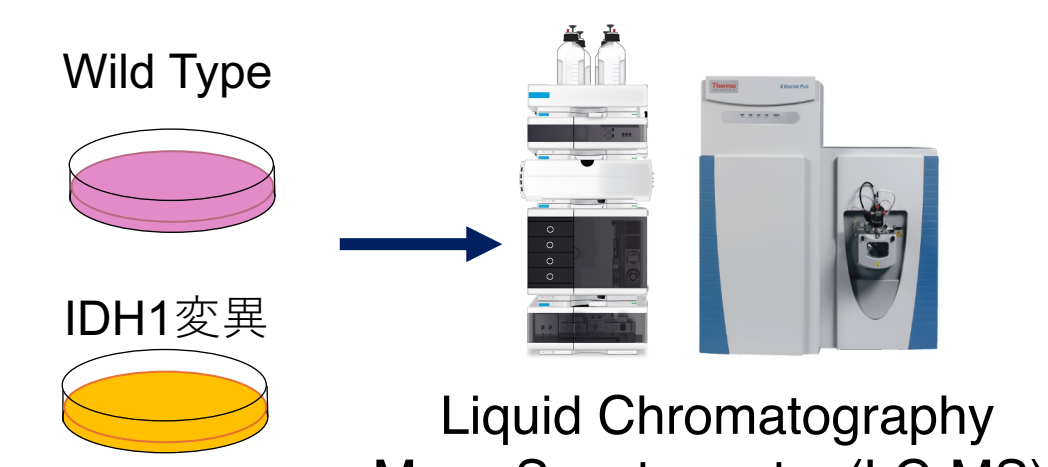
MassBankと同じフォーマットでアップロード

→MassBankに対応したソフトウェアで解析可能

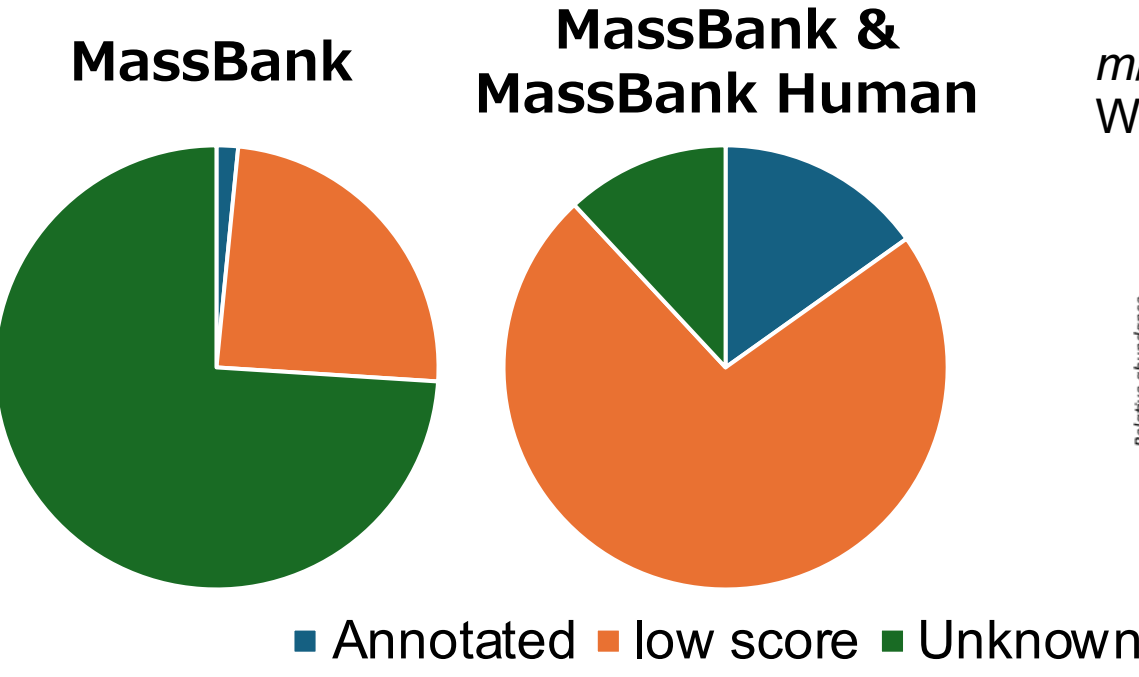
MassBank Humanの使用事例

イソクエン酸脱水素酵素1 (IDH1) 変異

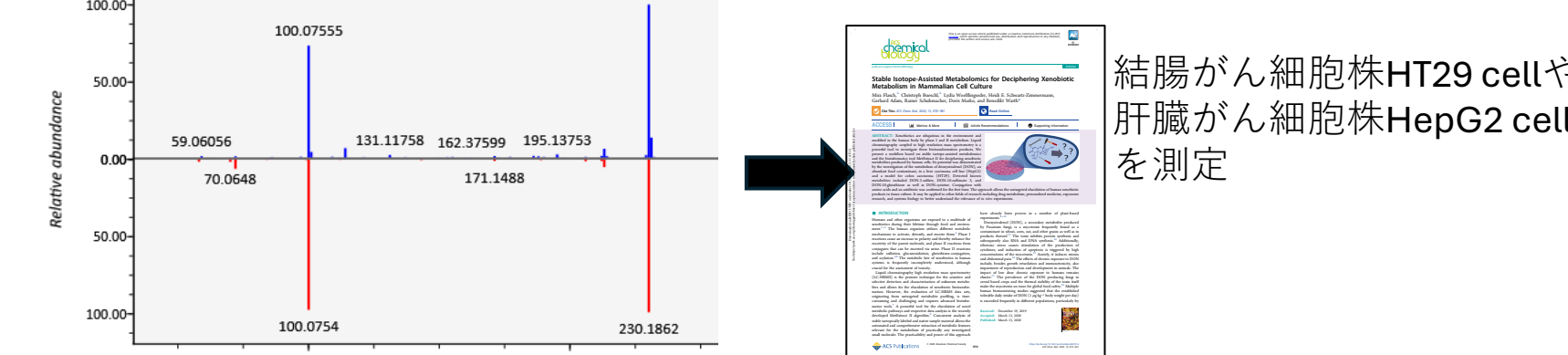
→がんの進展に関与する代謝物質である2-hydroxyglutaric acid (2-HG) の産生が増加する



HPLC: Agilent Technologies 1290 infinity LC (Agilent Technologies)
MS: Thermo Q Exactive plus (Thermo Fisher Scientific)
Column: HILIC-Z 2.1 × 150 mm (Agilent Technologies)
Column temp: 40°C
Solvent A: 20 mM ammonium formate +0.25% FA
Solvent B: ACN/200 mM Ammonium formate +2.5% FA =9/1
Gradient (%B): 0 min(100)-15 min(70)-20 min(10)-23 min (10) post time 7 min
Flow rate: 0.25 mL/min, Injection volume: 1 µL
Detection mode: Scan + DDA
Data analysis: MS-DIAL 5.5
過半数のサンプルで検出かつMS/MSの取得されたピークのみ解析



m/z:230.1860, RT 6.08 min, WT vs IDH1 mutant *p*-value = 0.0212
MetaboLightsのMTBLS1358で検出されたMSスペクトルと類似



MassBank Humanで公開中のスペクトル
MSBNK-SMB_Measured-HSA029P0230001

MassBank Humanを用いることで、62%のUnknownのMSスペクトルに追加情報を付加可能