

○ 田中聡¹, 吉沢明康¹, 草野麻衣子¹, 藤田雄一郎¹, 福田充^{2,3}, 宇都宮眞一¹, 梶原茂樹¹, 田畑剛², 高橋健太郎², 青島健², 小田吉哉², 二瓶義人⁴, 西岡孝明⁴, 田中耕一¹
¹島津製作所 田中最先端研究所 ²エーザイ 株式会社 ³アイバイオテック株式会社 ⁴奈良先端科学技術大学院大学

○ Satoshi Tanaka¹, Akiyasu C. Yoshizawa¹, Maiko Kusano¹, Yuichiro Fujita¹, Mitsuru Fukuda^{2,3}, Shin-ichi Utsumomiya¹, Shigeki Kajihara¹, Tsuyoshi Tabata², Kentaro Takahashi², Ken Aoshima², Yoshiya Oda², Yoshito Nihei⁴, Takaaki Nishioka⁴, Koichi Tanaka¹

¹Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology, Shimadzu Corporation ²Eisai Co., Ltd. ³BioTech Co., Ltd. ⁴Nara Institute of Science and Technology

1. Introduction

Mass++ は2006年にエーザイでのCRESTプロジェクトで開発が開始され、現在島津製作所で行なわれているFIRSTプロジェクトで継続開発されている質量分析用の解析フリーウェアである。一方 MassBank は、研究者がマススペクトルを共有する事を目的とした世界初の public repository で奈良先端科学技術大学院大学で開発されている。本研究ではこの2つを用いて脂質データベースの構築実験を行ない、MassBank の検索機能を Mass++ から呼び出してその結果を検証する事により、脂質を含む代謝物の新たな同定手法を提案する。

2. Mass++

Mass++ は最先端研究開発支援(FIRST)プログラムにより開発され、フリーで公開されている質量分析用解析ソフトウェアである。データ読込、表示、スムージング、ベースライン補正、同定、定量等さまざまな機能を持つ。

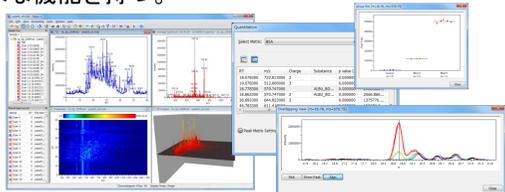


Fig. 1. Mass++

プラグイン構造を特徴としており、ソフトウェアを自由にカスタマイズできる。また C/C++, C++/CLI, C#.NET, VB.NET 等を用いて自由に機能の開発を行なえる。

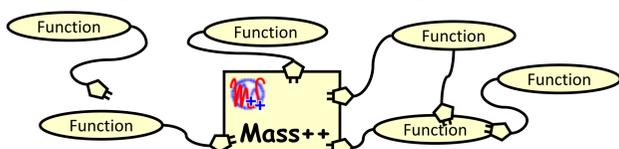


Fig. 2. Plug-in Structure

種々の読込機能がプラグインとして提供されており、いろいろなフォーマットのデータを読み込む事ができる。

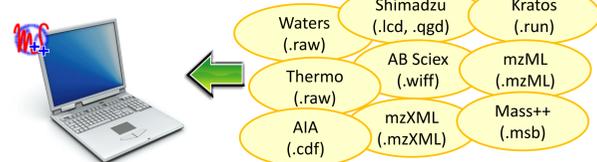


Fig. 3. Supported Data Formats

Mass++ は以下のサイトで公開されており、無償でダウンロードできる。

<http://www.first-ms3d.jp/achievement/software/mass2>

また Google Groups によるコミュニティも存在する。

<https://groups.google.com/group/massplusplus/>

2013年9月18日現在、Mass++ ユーザ数は1004 (JP: 365, EN: 639) である。

3. MassBank

MassBank は奈良先端科学技術大学院大学で開発されているマススペクトルの public database である。検索機能や表示機能等ブラウザ上でさまざまな機能を使用する事ができる。2013年9月10日現在 MassBank は 39,467 のスペクトルが格納されている。

また、インストーラも提供されており public database とは別に独自の MassBank を構築する事もできる。

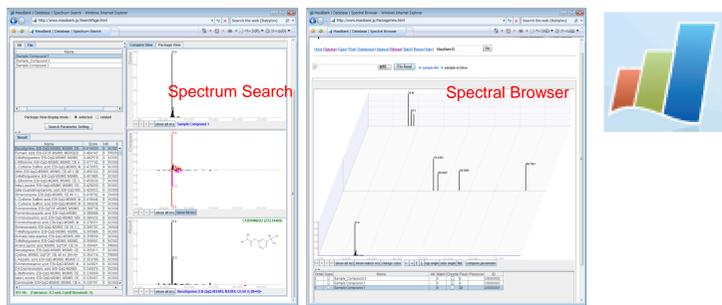


Fig. 4. Database Services in MassBank

MassBank は以下のサイトで公開されている。

<http://www.massbank.jp/>

4. Collaboration between Mass++ and MassBank

MassBank はスペクトルのデータを MassBank レコードと呼ばれるフォーマットで管理しており、Mass++ はこれを出力する機能をサポートする。

また、MassBank は SOAP API により直接検索機能呼び出す方法を用意しており、Mass++ はこれを利用して生データから直接 MassBank の検索を行なう事ができる。

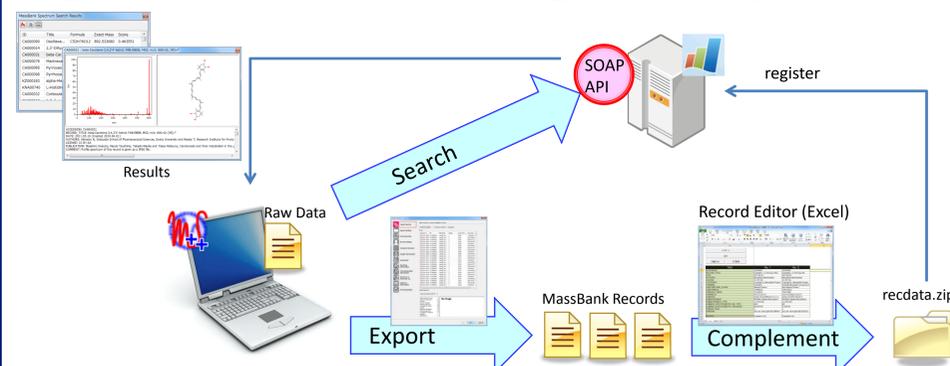


Fig. 5. Collaboration between Mass++ and MassBank

Acknowledgement

本研究は、内閣府/日本学術振興会・最先端研究開発支援プログラムの支援を受けています。

6. Example

Samples

脂質、ジグリセリド(DG), リゾホスファチジルコリン(LPC), ホスファチジルコリン(PC), トリグリセリド(TG)をMALDI-TOFMS でMS2測定する。マトリクスには DHB, CHCA を用いる。

Table. 1. Samples

Substance (Lipid)	Matrix
1,2-Dioleoyl- <i>sn</i> -glycerol; DG(18:1)	CHCA
1,2-Dioleoyl- <i>sn</i> -glycerol; DG(18:1)	DHB
1-Stearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine; LPC(18:0)	CHCA
1-Stearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine; LPC(18:0)	DHB
1,2-Distearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine; PC(18:0/18:0)	CHCA
1,2-Distearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine; PC(18:0/18:0)	DHB
1-Palmitoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl- <i>rac</i> -glycerol; TG(16:0/18:1/18:2)	CHCA
1-Palmitoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl- <i>rac</i> -glycerol; TG(16:0/18:1/18:2)	DHB



AXIMA Resonance (MALDI-TOFMS)

Create MassBank Records & Register

マトリクス DHB を用いて測定したサンプルからレコードを作成し、MassBank に登録する。



Fig. 6. Registering records into MassBank

下表は今回登録した代表的なサンプルである。

Table. 2. Registered Samples

Substance (Lipid)	Matrix	MS Type	Precursor
1,2-Dioleoyl- <i>sn</i> -glycerol; DG(18:1)	DHB	MS2	643.4
1-Stearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine; LPC(18:0)	DHB	MS2	524.3
1-Stearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine; LPC(18:0)	DHB	MS2	546.2
1-Palmitoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl- <i>rac</i> -glycerol; TG(16:0/18:1/18:2)	DHB	MS2	879.6

Search

マトリクス CHCA を用いて測定したサンプルのスペクトルを Mass++ で読み込みピーク検出した後、MassBank に対して類似スペクトルを検索する。(Spectrum Search)
 この時、検索に用いるスペクトルは MS/MS とし、検索パラメータの Tolerance は 0.3 Da とした。

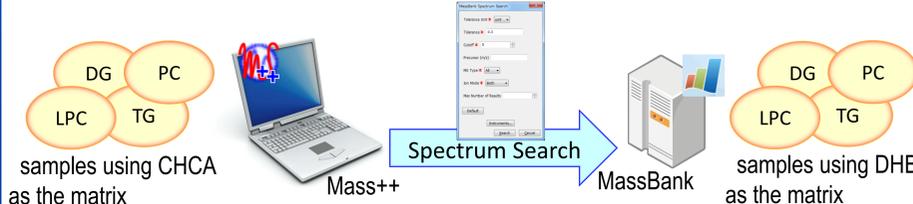


Fig. 7. Spectrum Search

Table. 3. Search Samples

Substance (Lipid)	Matrix	MS Type	Precursor
1-Stearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine; LPC(18:0)	CHCA	MS2	524.3
1,2-Distearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine; PC(18:0/18:0)	CHCA	MS2	790.6
1-Palmitoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl- <i>rac</i> -glycerol; TG(16:0/18:1/18:2)	CHCA	MS2	879.6

Results

以上の検索を行なったところ、右表のスコアでヒットした。LPC は Precursor Mass の異なる2つのスペクトルを登録したが、一致する Precursor のみが高いスコアでヒットした。PC は対応するサンプルが MassBank に登録されていないので高スコアでヒットしないという予想する結果となった。それ以外にも MS や異なる機器 (AXIMA Performance) で測ったデータも登録したがいずれも高スコアでヒットする事はなかった。

Table. 4. Hit Scores

Record Raw Data	DG (DHB) [643.4]	LPC (DHB) [524.3]	LPC (DHB) [546.2]	TG (DHB) [879.6]
LPC (CHCA) [524.3]	-	0.43	0.04	-
PC (CHCA) [790.6]	-	0.15	-	0.06
TG (CHCA) [879.6]	0.16	-	0.01	0.56

- : Not hit

Conclusion

MassBank の検索機能はこれまでの構築・検索テストで MALDI のマトリクスが異なる場合でも有効である事が確認できている。登録支援機能と検索用のインターフェースを備え、操作性に優れた Mass++ を入出力に用いることによって、有用なシステムが構築できる可能性がある。

References

- [1] Development of client tool for a mass spectra database S.Tanaka, *et al.*, ASMS 59th ThP383 (2011)
- [2] MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences. H.Horai, *et al.*, J. Mass Spectrom., 45, 703-714 (2010).
- [3] Peak Detection Method in Mass++ - A protein Analysis Platform in Mass Spectrometry J. Yao, *et al.*, AOHUPO (2012)