

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H03621

研究課題名(和文)代謝物理論マスペクトルライブラリの構築と普及

研究課題名(英文)Development and dissemination of theoretical mass-spectral libraries

研究代表者

有田 正規 (ARITA, Masanori)

国立遺伝学研究所・情報研究系・教授

研究者番号：10356389

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：様々な脂質構造についてフラグメンテーションの様式を観察し、それに基づく理論マスペクトルライブラリを構築した。配糖体やアシル化体を含む複合脂質について、構造の略記法をLipidMapsグループと共通化し、脂質サブクラスごとに典型的なプロダクトイオン情報を定めた。具体例として、スフィンゴミエリンのアシル化体や、ベータ位に水酸基のついた脂肪酸を含むセラミドなどを見出した。また実測のMS/MSスペクトルから相関の高いピークを抜き出してライブラリを構築する手法を開発した。この手法を用いて、オールイオン法と呼ばれる極めて複雑なMS/MSスペクトルから低分子化合物に相当するスペクトルを抽出できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでのメタボロミクス、リポミクスは実測のスペクトルをライブラリとして代謝物の同定を実施してきたが、実測のスペクトルは測定条件等により大きく変化することが知られている。そのためスペクトルから普遍的なプロダクトイオン情報を抜き出してライブラリ化する作業が重要になる。本研究では低分子代謝物と複合脂質についてフラグメンテーションの動向を解析し、理論マスペクトルを構築した。フラグメンテーションを知識として表現することでライブラリの多重化を防ぎ、代謝物を同定する作業の標準化に貢献する。

研究成果の概要(英文)：For various lipid structures, theoretical libraries were constructed by observing fragmentation patterns for each subclass. Their abbreviated names were consolidated with the international LipidMaps project and typical product ions were identified. As examples, acylated sphingomyelins and beta-hydroxylated ceramides became identifiable.

A method to create a spectral library by choosing highly correlated MS/MS peaks was developed. The method was applied to complex MS/MS spectra of all-ions fragmentation, resulting in clean spectra for small molecules.

研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：マスペクトル データベース ライブラリ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

代謝物は網羅的に計測できるわけではない。一回の質量分析で検出されるピーク数は数千に及ぶが、その中で同定できるのはわずか1割程度である。そうして見出される数百レベルの化合物数に対し、天然物の総数は数十万にのぼる。そして多くは微量成分である。より多くの化合物を同定するには、データベースの充実が欠かせない。それには、重要な天然物クラスに対して理論的にライブラリを作成することが極めて重要である。

2. 研究の目的

理論スペクトルはグリセロリン脂質において日常的に利用され、リピドミクスと呼ばれている。しかし、それ以外の代謝物カテゴリーで理論スペクトルは上手に構築できていない。本研究では社会的に重要な化合物クラスを対象に理論スペクトルを設計し、より多くの化合物同定を可能にする。

3. 研究の方法

統計的な推測に基づく開裂部位の予測

セラミドやフラボノイドは数百の規模で既存データベース上に MS/MS スペクトルが公開されている。それらの情報を収集して解析することにより、基本構造毎に統計処理に基づいて、開裂を起こす分子環境および開裂パターンを明らかにする。

量子化学計算に基づく開裂部位の予測

新規と予測される構造や既知スペクトルがほとんどない分子構造については、半経験的分子軌道計算ソフトウェア MOPAC を用いて検証する。つまり、予測される開裂や再配置が理論的に妥当かを、量子化学の面から裏付ける。検証結果に基づき開裂パターンを修正する作業を繰り返すことにより、精度の高い開裂パターンを明らかにする。

理論ライブラリの構築

各代謝物クラスにおける化学修飾や母核構造のパターンを網羅し、天然物として可能な構造バリエーションを推定する。そして組み合わせ的に分子構造を作成し、その理論マススペクトルを構築する。組み合わせを生物学的に現実的な範囲に納めることで、各クラスごとに多くとも数万以下に構造数を収める。構築した理論スペクトルは CC-BY ライセンスを付与して公開する。

4. 研究成果

理論スペクトルによる新規セラミドの同定

セラミドの構造を4種の長鎖塩基(スフィンゴシン(Sph)、ジヒドロ Sph、フィト Sph、6-ヒドロキシ Sph)と、4種の脂肪酸(通常、ヒドロキシ、ヒドロキシ、末端エステル型)の組み合わせ計16種で表記し、生体で存在が確認されている11種について実測値に基づく理論スペクトルライブラリを作成した。このうちヒドロキシ脂肪酸を含むセラミドは純品が存在しないため、量子化学計算によって MS/MS における開裂部位を予測し、実測のスペクトルと一致することを確認した。セラミドにヘキソースが付加した構造も観測されるため、実測される分子種については配糖体の理論ライブラリも構築した。

脂質クラスの構造略称標準の作成

リピドミクス技術で一斉同定可能な脂質クラス約130種(1. 脂肪酸 2. 中性グリセロ脂質 3. グリセロリン脂質 4. プレノール脂質 5. スフィンゴ脂質 6. ステロール脂質)について、LipidMaps データベースのグループと協議して構造の略名を定めた。

各脂質カテゴリーにおいて、アミノ酸や糖の付加体、エーテル結合型の構造も考慮し、生体内に存在するものについて理論スペクトルを作成した。例えばグルコシルセラミドの場合、MS/MS 解析によって鎖長が判明しているか、ガラクトシルセラミドと分離できているかといった情報により HexCer34:1;20、HexCer18:1;20/16:0、GlcCer18:1;20/16:0 といった記法を論文中で用いるようにする。(セラミドにおける水酸基の数を0によって表現している。)これにより分子種レベルの同定か、詳細な構造レベルの同定か、記法からも識別できるようになる。同様の記法はグリセロ脂質等ですでに利用されており、今回は階層的記載法をセラミドやカルジオリピンに延長する作業にあたる。

また、カルジオリピン、ビタミンA、ビタミンE、コエンザイムQ、リピッドA、ビタミンDもスペクトルの作成対象とした。胆汁酸と種々の植物ステロールにおける誘導体は主要な母核構造

のエステルとヘキソースホスファチジン酸付加体について考慮している。これまでコレステロールエステルやコレステロール配糖体など、コレステロールについては知られていた構造が、シトステロール、カンペステロール、プラシカステロールといった植物ステロールでも動物体内で存在することを明らかにできた。

理論スペクトルライブラリの公開

以上の情報は LipidBlast ライブラリの拡張版として公開し、MS-DIAL ソフトウェアで利用可能である。また理論ライブラリは LipidBank データベースのインターフェースから生成、ダウンロード可能とした。

脂質研究の国際コンソーシアム

脂質の国際コンソーシアム LSI を通してライブラリ構築を共同で進めると同時に、論文報告時のメタデータ記載法について国際標準化を呼びかける提言を論文として発表した。ライブラリに基づく具体的な測定としてヒト血漿サンプルを国際共同研究として測定し、血漿における脂質分布の標準づくりにも貢献した。ヒト血漿の具体的な測定もおこない、抱合体などの代謝物を効率よく同定する手法も検討した。

相関に基づく理論ライブラリの作成

また化合物同定に適した MS/MS スペクトルを実測データから構成するため、複数サンプルのスペクトルから相関の高いピークを抜き出してライブラリを構築する手法を開発した。オールイオン法と呼ばれる極めて複雑な MS/MS スペクトルから個々の化合物に相当するスペクトルを抽出することに成功し、CorrDec 法として発表した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 9件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Tsugawa Hiroshi, Ikeda Kazutaka, Takahashi Mikiko, Satoh Aya, Mori Yoshifumi, Uchino Haruki, Okahashi Nobuyuki, Yamada Yutaka, Tada Ipputa, Bonini Paolo, Higashi Yasuhiro, Okazaki Yozo, Zhou Zhiwei, Zhu Zheng-Jiang, Koelmel Jeremy, Cajka Tomas, Fiehn Oliver, Saito Kazuki, Arita Masanori, Arita Makoto	4. 巻 38
2. 論文標題 A lipidome atlas in MS-DIAL 4	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1159 ~ 1163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41587-020-0531-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tada Ipputa, Chaleckis Romanas, Tsugawa Hiroshi, Meister Isabel, Zhang Pei, Lazarinis Nikolaos, Dahl?n Barbro, Wheelock Craig E., Arita Masanori	4. 巻 92
2. 論文標題 Correlation-Based Deconvolution (CorrDec) To Generate High-Quality MS2 Spectra from Data-Independent Acquisition in Multisample Studies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 11310 ~ 11317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.0c01980	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Lipidomics Standards Initiative Consortium	4. 巻 1
2. 論文標題 Lipidomics needs more standardization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Metabolism	6. 最初と最後の頁 745 ~ 747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42255-019-0094-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tada Ipputa, Tsugawa Hiroshi, Meister Isabel, Zhang Pei, Shu Rie, Katsumi Riho, Wheelock Craig E., Arita Masanori, Chaleckis Romanas	4. 巻 9
2. 論文標題 Creating a Reliable Mass Spectral?Retention Time Library for All Ion Fragmentation-Based Metabolomics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 251 ~ 251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo9110251	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsugawa Hiroshi, Satoh Aya, Uchino Haruki, Cajka Tomas, Arita Makoto, Arita Masanori	4. 巻 9
2. 論文標題 Mass Spectrometry Data Repository Enhances Novel Metabolite Discoveries with Advances in Computational Metabolomics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 119 ~ 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo9060119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsugawa Hiroshi, Nakabayashi Ryo, Mori Tetsuya, Yamada Yutaka, Takahashi Mikiko, Rai Amit, Sugiyama Ryosuke, Yamamoto Hiroyuki, Nakaya Taiki, Yamazaki Mami, Kooke Rik, Bac-Molenaar Johanna A., Oztolan-Erol Nihal, Keurentjes Joost J. B., Arita Masanori, Saito Kazuki	4. 巻 16
2. 論文標題 A cheminformatics approach to characterize metabolomes in stable-isotope-labeled organisms	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Methods	6. 最初と最後の頁 295 ~ 298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41592-019-0358-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Lipidomics Standards Initiative Consortium	4. 巻 1
2. 論文標題 Lipidomics needs more standardization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Metabolism	6. 最初と最後の頁 745 ~ 747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42255-019-0094-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Burla B, Arita M, Arita M, Bendt AK, Cazenave-Gassiot A, Dennis EA, Ekroos K, Han X, Ikeda K, Liebisch G, Lin MK, Loh TP, Meikle PJ, Oresic M, Quehenberger O, Shevchenko A, Torta F, Wakelam MJO, Wheelock CE, Wenk MR	4. 巻 59
2. 論文標題 MS-based lipidomics of human blood plasma: a community-initiated position paper to develop accepted guidelines	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Lipid Research	6. 最初と最後の頁 2001-2017
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1194/jlr.S087163	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsugawa H, Ikeda K, Tanaka W, Senoo Y, Arita M, Arita M	4. 巻 9
2. 論文標題 Comprehensive identification of sphingolipid species by in silico retention time and tandem mass spectral library	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Cheminform	6. 最初と最後の頁 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13321-017-0205-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Lai Z, Tsugawa H, Wohlgemuth G, Mehta S, Mueller M, Zheng Y, Ogiwara A, Meissen J, Showalter M, Takeuchi K, Kind T, Beal P, Arita M, Fiehn O	4. 巻 15
2. 論文標題 Identifying metabolites by integrating metabolome databases with mass spectrometry cheminformatics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nat Methods	6. 最初と最後の頁 53-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nmeth.4512	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Arita M
2. 発表標題 Computational Mass Spectrometry
3. 学会等名 SLING workshop 'Mass spectrometry-based lipidomics of human blood plasma' (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Arita M
2. 発表標題 Prediction of Molecular Structures from their Spectra
3. 学会等名 The 4th International Conference on Plant Metabolism (ICPM 2017) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Arita M
2. 発表標題 Identifying Metabolites with Theoretical References
3. 学会等名 The 26th International KOGO Annual Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

metabolomics.jp lipidbank.jp

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田中 謙 (Tanaka Ken) (60418689)	立命館大学・薬学部・教授 (34315)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------