

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2017

課題番号：24619011

研究課題名(和文) エネルギー分解イオンモビリティ質量分析を用いたイオン種識別法の開発

研究課題名(英文) Ion characterization using energy-resolved ion-mobility tandem mass spectrometry

研究代表者

本郷 やよい (Hongo, Yayoi)

東京工業大学・地球生命研究所・研究員

研究者番号：40435681

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、エレクトロスプレーイオン化で分子構造特異的に出現するイオン種を洗い出し、同一分子で観測されるイオン種ごとのエネルギー分解イオンモビリティデータを獲得、集積した。その後、衝突解離エネルギー増加とともにイオンモビリティに現れるイオンの構造異性化が分子構造情報として利用できることを特に環状分子で示した。イオン構造が比較的安定なアルカリ金属付加イオンに対する実験では、衝突解離エネルギー増加に伴うイオンモビリティに現れる立体構造変化が明瞭に表れ、イオン構造特異的信息として利用できた。イオン種の気相安定性と分子構造に関連付けることで、新たな分子構造解情報を得るための手法となった。

研究成果の概要(英文)：New molecular structural characterization technique using an energy-resolved ion-mobility mass spectrometry (ER-IMS-MSn) was developed in the period. Data mining for the relationship between stability of the gas phase ion structures and ER-IMS MSn spectra was used to elucidate the structural characterization of cyclic molecules, such as depsipeptides. Ion isomerization during the collision activation experiments was obvious for relatively stable alkaline metal addition ions. So that, alkaline addition ions were suitable for the ion structural characterization. This technique enabled us to obtain additional structure information using mass spectrometry.

研究分野：分析化学

キーワード：質量分析 分子構造解析 イオン反応

1. 研究開始当初の背景

本研究の目的は**エネルギー分解イオンモビリティ質量分析**を用いてマスペクトル中に観測されるイオンのイオン種を識別する手法を開発することである。その背景は、質量分析の高い感度は微量生物試料中の化合物検出に欠かせなくなった一方、スペクトル中に構造未知化合物や複数の化合物に由来するイオンピークが含まれる場合には、検出ピークと分子構造との関連を知るうえでイオン種特定が欠かせないにも関わらず、これまでイオン種構造を知るための有効な手法が存在しなかったことにある。従来、精密質量から候補分子式推定を行う他なかったイオン種判を、イオンモビリティ質量分析の応用によって行う。

2. 研究の目的

質量スペクトル解析において、複数のイオン種が生成している可能性がある場合は、分子式推定に用いる構成原子の種類と数が定まらない。そのため、通常は候補分子式数が増えるとともに、質量スペクトル以外の構造情報なしには分子構造の絞り込みが困難になる。本研究では、エレクトロスプレーイオン化質量スペクトル中に検出される化合物のイオン種がプロトン付加分子か、アルカリ金属付加イオンか、或いは多量体イオンなどの可能性はあるか、などを判別する手法として、新たに、衝突エネルギーの変化に対するMS/MS スペクトルとイオン構造変化を同時に観測し、イオン種キャラクタリゼーションを行うことを試みた(**エネルギー分解イオンモビリティ質量分析**)。イオン種の特定は分子式の最終決定に不可欠であるだけでなく、イオン化条件変化がマスペクトルの再現性を低下させる可能性を検証するうえでも重要である。本研究は観測イオンのイオン種識別法を確立し、特に非共有結合を含む化合物や未知化合物に対する信頼性の高い分子量・分子式決定を目指した。

3. 研究の方法

構造別に種別した化合物(ペプチド、ステロイド類など)についてイオン化条件を制御しながら、観測された複数のイオン種についてエネルギー分解イオンモビリティ質量分析を行い、衝突誘起解離エネルギーに対するプリカーサーイオンの減少傾向(brake-down curve)を得るとともに、ドリフト時間をイオン種ごとに計測し、イオン種キャラクタリゼーションに有効な情報を抽出した。イオン種間でbrake-down curveやドリフト時間変化が観測される化合物種には本法が有効な化合物であると定義付け、適用範囲を検証した。最終的には構造決定が必要な天然由来化合物分析で本法の有効性を確かめた。

4. 研究成果

結果的に、本法はアルカリ金属付加イオンの検出と気相中異性化を起こしやすい構造の分子に有効であることが確かめられた。エレクトロスプレーイオン化で気相中イオン構造が比較的安定なアルカリ金属付加イオンでは、衝突解離エネルギー増加に伴うイオンモビリティに現れる立体構造変化が明瞭に表れ、イオン構造特異的情報として利用できた。その後、衝突解離エネルギー増加とともにイオンモビリティに現れるイオンの気相中での構造異性化が分子構造情報として利用できることを特に環状分子で示した。イオン種の気相安定性と分子構造に関連付けることで、新たな分子構造解情報を得るための手法となった。本法を含む質量分析を応用した構造解析は、ホムプシンBが10員環エーテルの分子構造から鎖状構造分子への構造訂正¹⁾された際、従来の質量分析法では識別ができなかった全合成研究過程中間体解析に応用が試みられた。提案構造と改定構造の両分子全合成における反応中間生成物のうち、エーテル結合を含む10員環構造の分子はエレクトロスプレーイオン化でナトリウムイオン付加分子として容易に検出されたが、同時にナトリウムイオン一つを共有した2量体イオンが出現した。また、合成副生成物として、2倍の20員環構造をもった副生成物が得られたが、これは10員環の2量体イオンと同質量である。さらに、解離イオンも同じイオン質量に検出されたため、通常のマスペクトルでは両者は識別ができなかった。そこで本法によるイオン種識別及び分子構造識別を試みた。図1に両者**エネルギー分解イオンモビリティ質量分析**のドリフトグラムを示す。

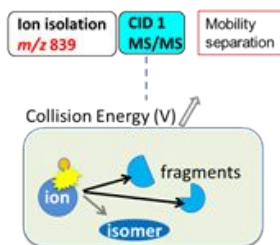
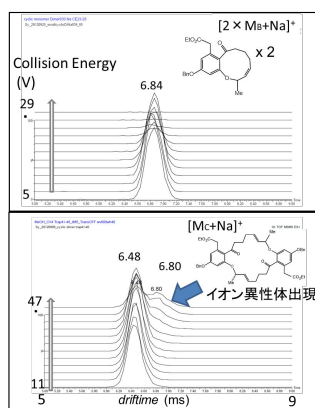


Figure1. 環状構造異性体イオンのエネルギー分解ドリフトグラムと実験概念図

20 員環構造分子は、環状構造の破壊に伴い、物理的によりかさ高い構造（大きな衝突断面積）を持つ新たなイオン異性体の出現が捉えられた。一方、2 量体イオンで検出された 10 員環構造分子はイオン解離によって単量体のナトリウム付加イオンへと解離することから、エネルギー分解ドリフトグラムを用いることで両者を明確に識別できた。

環状構造推定は実際の天然物研究への応用が期待される例である。次に、図に天然物スクリーニングで得られた環状デプシペプチドキノマイシン誘導体⁵（主な発表論文等-5）の脱プロトン化分子**エネルギー分解イオンモビリティ質量分析**のドリフトグラム結果を示す。当該化合物は通常のイオン解離で得られるペプチド断片フラグメントが重なるの多いアミノ酸配列を示し、一次構造をとらえることが難しかったため、環状構造であることが示唆された。NMR を含む構造解析に加え、衝突誘起解離エネルギーの上昇とともにイオン構造が異なるより大きな気相衝突断面積をもつ構造が現れた。このことは、構造中一か所に特定の解離しやすい部位を持ち、その部位での結合解離によってイオン構造が大きく拡大することを示唆した。これは最終的に得られた一か所のエステル結合を含む環状構造の結果と矛盾がない。このことは、NMR 実施以前に極微量の試料で、或いは液体クロマトグラフィーの使用によって分離精製操作前に環状構造が予想できる可能性を示す。

08096-0636-1 neg ERMIMS36_40V
9s_20191026_0226_1neg_101_010

4 TOP MASS 65
985.436, 985.626 @ 2000Da
7.943

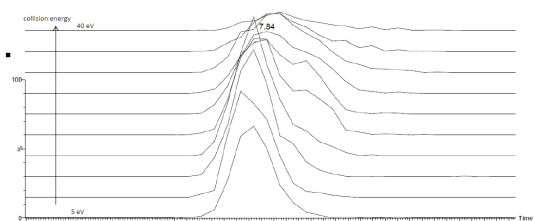


Figure2 環状デプシペプチド UK-63,598 脱プロトン化分子エネルギー分解ドリフトグラム

参考文献 1) Y.Izuchi, H.Koshino, Y.Hongo, N.Kanomata, S.Takahashi, Synthesis and structural revision of phomopsin B, a Novel polyketide carrying a 10-Membered Cyclic-Ether Ring, *Organic Letters* (2011), 13(13), 3360-3363.

5 . 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 6 件 査読あるもののみ記載)

1. A.C.Fahrenbach, C.Constantin, C.Tam, L. Li, Y.Hongo, M.Aono, J.W.Szostak, Common and potentially prebiotic origin for precursors of nucleotide synthesis and activation, *Journal of the American Chemical Society* (2017), 139(26), DOI:10.1021/jacs.7b01562
2. X.Sun, G.Hirai, M.Ueki, H.Hirota, Q.Wang, Qianqian, Y.Hongo, T.Nakamura, Y.Hirota, H.Takahashi, M.Sodeoka, *et al.*, Identification of novel secreted fatty acids that regulate nitrogen catabolite repression in fission yeast, *Scientific Reports* (2016), 6, 20856. DOI:10.1038/srep20856
3. S.Takahashi, A.Yoshida, S.Uesugi, Y.Hongo, K.Kimura, K.Matsuoka, H.Koshino, Structural revision of kynapcin-12 by total synthesis, and inhibitory activities against prolyl oligopeptidase and cancer cells, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (2014), 24(15), 3373-3376. DOI:10.1016/j.bmcl.2014.05.091
4. Y.Hongo, T.Nakamura, S.Takahashi, T.Motoyama, T.Hayashi, H.Hirota, H.Osada, H.Koshino, Detection of oxygen addition peaks for terpendole E and related indole-diterpene alkaloids in a positive-mode ESI-MS, *Journal of Mass Spectrometry* (2014), 49(6), 537-542. DOI: 10.1002/jms.3360
5. C.L.Lim, T.Nogawa, M.Uramoto, A.Okano, Y.Hongo, T.Nakamura, H.Koshino, S.Takahashi, D.Ibrahim, H.Osada, RK-1355A and B, novel quinomycin derivatives isolated from a microbial metabolites fraction library based on NPPlot screening, *Journal of Antibiotics* (2014), 67(4), 323-329. DOI:10.1038/ja.2013.144
6. Y.Q.Ye, C.Negishi, Y.Hongo, H.Koshino, J.Onose, N.Abe, S.Takahashi, Structural elucidation and synthesis of vialinin C, a new inhibitor of TNF- α production, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (2014), 22(8), 2442-2446. DOI:10.1016/j.bmc.2014.02.058

〔学会発表〕(計 18 件)

(国内)

1. 本郷やよい 基調講演：分子・原子を見る目 - 質量分析 - がとらえる地球・生命・化学, 「分析中部・ゆめ21」若手交流会・第16回高山フォーラム 2016年11月11日(金)12日(土) 主催(公社)日本分析化学会中部支部 高山市図書館「煥章館」(岐阜)
2. 本郷やよい イオンモビリティ質量分析法を用いた気相イオン分離と分子構造解析への応用(D2002), 第76回分析化学討論会 2016年5月29日、主催(公社)日本分析化学会、岐阜薬科大・岐阜大学(岐阜)
3. 本郷やよい DART-MSによるモノテルペン類香気の発散追跡, 第143回 関東談話会講演会 Ambient Ionization 2015年9月7日、主催 日本質量分析学会 関東談話会、日本電子(株)東京支店 大会議室(東京)
4. 本郷やよい 物質を捉える～質量分析が可能にする研究～, 第81回北陸質量分析談話会 2015年6月6日、主催 日本質量分析学会 北陸質量分析談話会、福井県立大学福井キャンパス 交流センター(福井)
5. 本郷やよい DART-MSを用いた発散香気成分のリアルタイム測定, 「臭気・香気」分析への挑戦～質量分析の役割と応用～、第1回TMS研究会、2015年1月23日、主催 日本質量分析学会 TMS研究会、化学会館ホール(東京)
6. 本郷やよい, 坂倉幹始, 塩田晃久, 関本奏子, DART質量分析による発散香気成分のリアルタイム測定, 第58回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 2014年9月22日和歌山大学(和歌山)
7. 本郷やよい, 越野広雪, 中村健道, 関連化合物との比較解析を用いたブラジル産イソギンチャク由来アシルアミノ酸 bunodosine 類のタンデム質量分析による構造解析, 第62回質量分析総合討論会、2014年5月16日、(大阪)
8. 本郷やよい 有機化合物のイオンモビリティ質量分析, 関東談話会勉強会「イオンモビリティ質量分析の原理と最新動向」2013年12月4日、主催: 日本質量分析学会 関東談話会・BMS研究会、財)微生物化学研究所(東京)

9. 本郷やよい エネルギー分解イオンモビリティ質量分析を用いたイオン異性体の検出と分子構造解析, 高分子分析研究懇談会第369回例会、2013年11月6日、主催: 社)日本分析化学会 高分子分析研究懇談会、五反田ゆうぼうと(東京)
10. 本郷やよい, 越野広雪, 中村健道, インドールアルカロイドのイオン構造が寄与すると考えられる positive-mode ESI-MS における $[M+H+O]^+$ と $[M+H+2O]^+$ の生成、第61回質量分析総合討論会 2013年9月11日、つくば poster
11. 本郷やよい 理研シンポジウム物質構造解析 2013:MS と NMR の基礎と実践-精密質量測定と分子式推定-, 2013年5月29日、理研鈴木梅太郎ホール、埼玉 oral
12. 本郷やよい, 中村健道, 高橋俊哉, 本山高幸, 林敏明, 廣田洋, 長田裕之, 越野広雪, ESI-MS 分析で観測される Terpendole イオンの酸化, 日本農芸化学会 2013年3月25日、仙台、oral
13. 本郷やよい イオンモビリティ質量分析による気相イオン異性化反応検出と分子構造解析への応用, 第258回 液体クロマトグラフィー研究懇談会、2012年12月17日、主催: 社)日本分析化学会液体クロマトグラフィー研究懇談会、オルガノ株式会社本社(東京)

(国外)

14. Yayoi Hongo, Hiroyuki Koshino, Shunya Takahashi, Takemichi Nakamura, Takae Takeuchi “Structure and energy dependent ion isomerizations of folates detected using ER-IMS/MSn” 20th International Mass Spectrometry Conference, Geneva, Swaziland, Aug.24-29, 2014, poster
15. Michiko Tajiri, Takae Takeuchi, Yayoi Hongo, Takemichi Nakamura, Kenji Hirose, Yoshinao Wada “Ion mobility mass spectrometry and MM conformational search of glycopeptides” 20th International Mass Spectrometry Conference, Geneva, Swaziland, Aug.24-29, 2014, poster
16. Takemichi Nakamura, Yayoi Hongo, Ken-ichi Harada “Utility of Energy-Resolved Tandem Mass Spectrometry in Structural Characterization of Small Organic Molecules” The 5th AOMSC & 33rd CMSS Annual Conference, July 11, 2014, Beijing, poster

17. Yayoi Hongo, Takemich Nakamura, Shunya Takahashi, Hiroyuki Koshino “Interpretation of MS/MS spectrum including ion isomerization; Characterization of folates using hybrid mass spectrometry, 2nd symposium of the RIKEN-Max Planck Joint Research Center April 16-17, 2013, poster

18. Yayoi Hongo, Takemichi Nakamura, Takae Takeuchi, Shunya Takahashi, Hiroyuki Koshino, “Energy-resolved ion mobility tandem mass spectrometry: A new approach for probing fragmentation pathways involving ion isomerization” 19th International Mass Spectrometry Conference, Kyoto, 2012, Japan, S36-1620, oral

6 . 研究組織

(1)研究代表者

本郷 やよい (Hongo, Yayoi)

東京工業大学・地球生命研究所・研究員

研究者番号：40435681