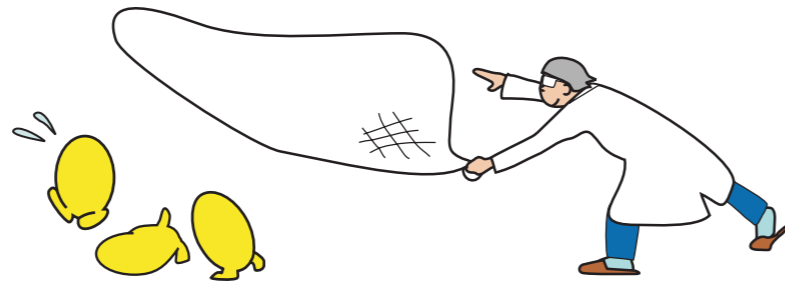


LC/QTOF hybrid MS で環境試料 ノンターゲット一括分析



2018年5月25日
山本 敦史
公立鳥取環境大学

質量分析計の質量分離に用いる原理は多様

高分解能

磁場型

四重極 (Quadrupole) 型

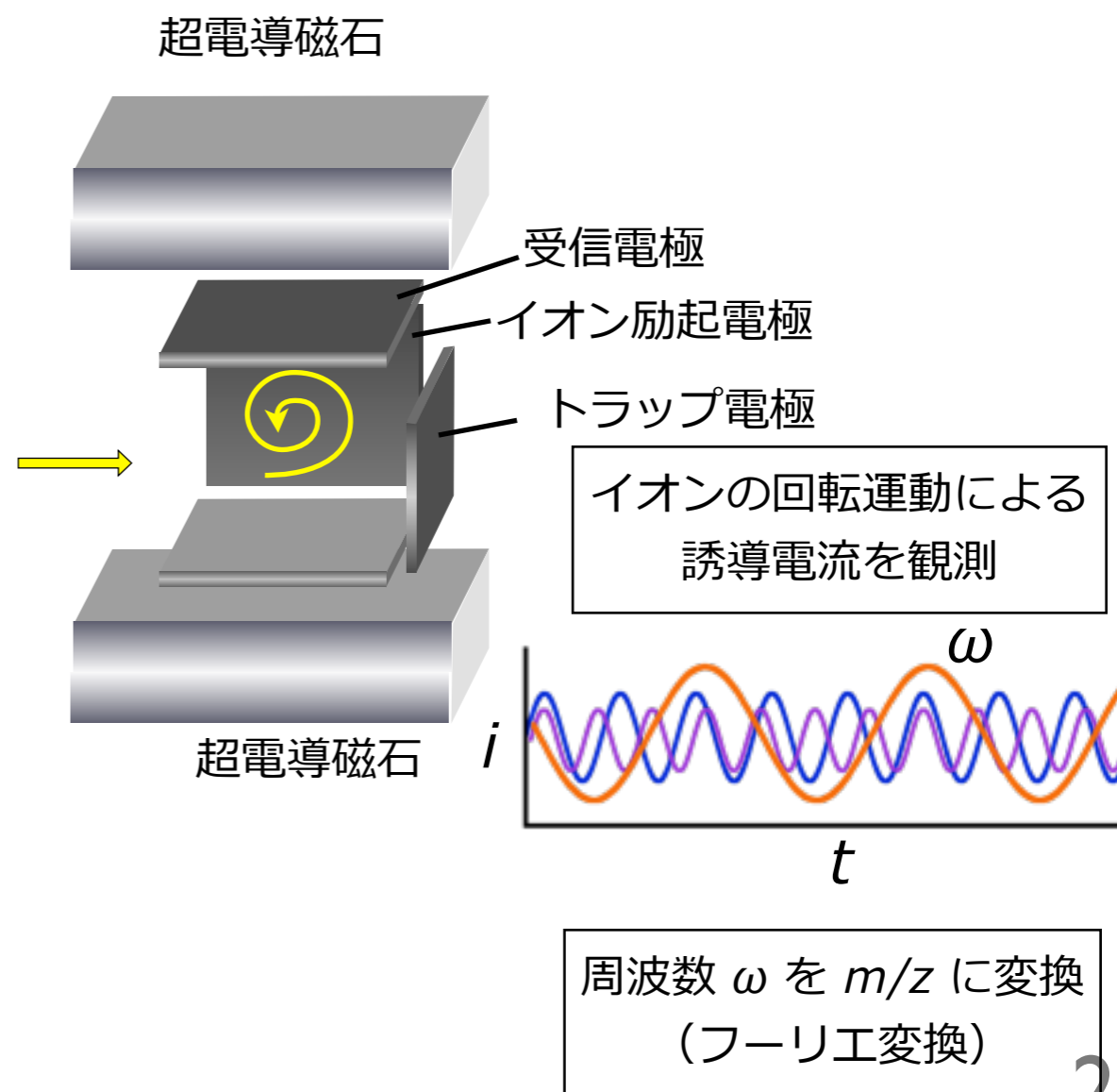
イオントラップ (IT) 型

高分解能

飛行時間 (TOF) 型

高分解能

フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴 (FT-ICR) 型

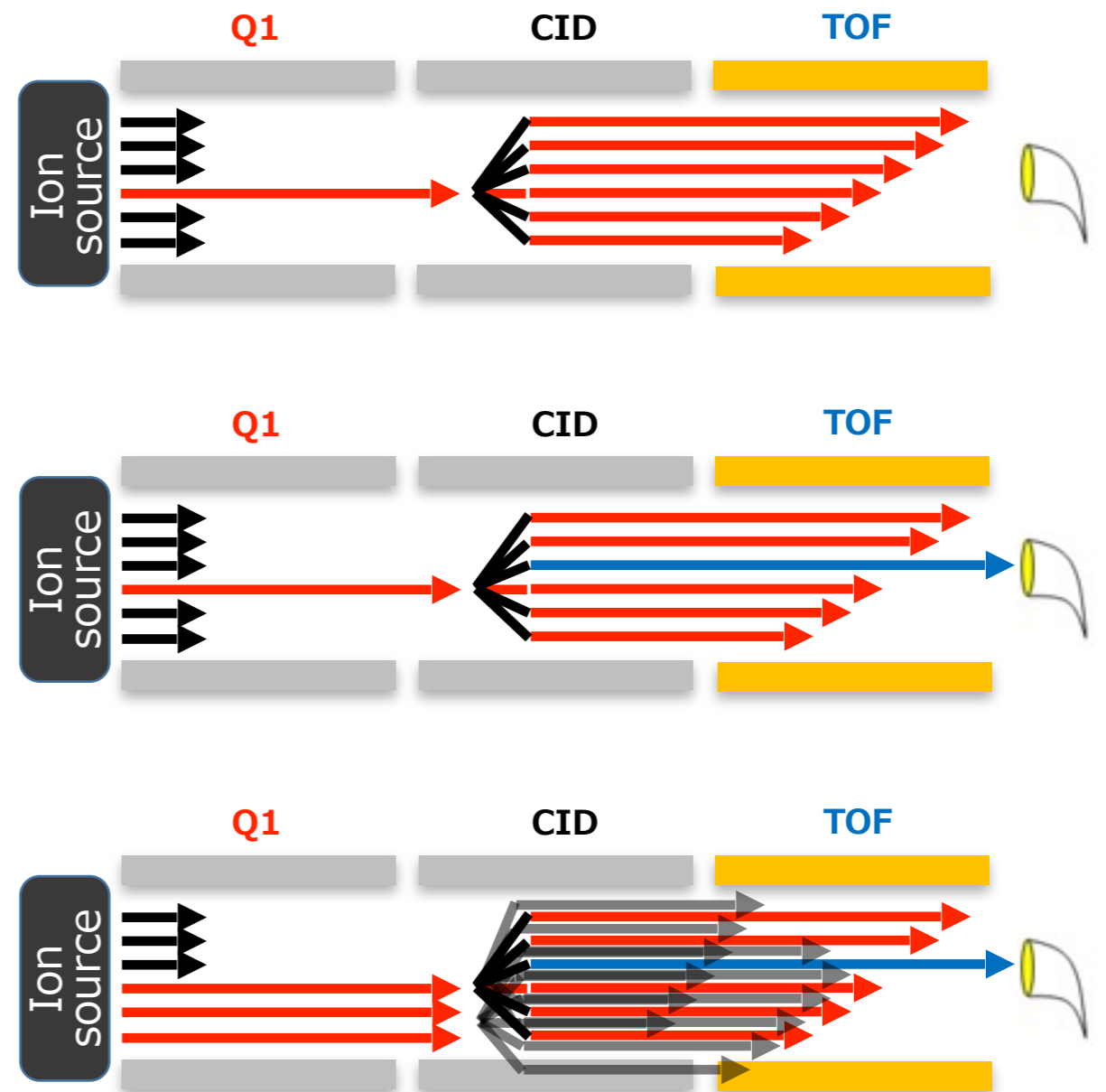


四重極型飛行時間型タンデム質量分析の測定モード

Data Dependent Acquisition
(DDA or IDA)

Parallel Reaction Monitoring
(PRM, MRM-HR)

Data Independent Acquisition
(DIA or SWATH)



QTOF SWATH による環境ノンターゲット分析

メリット

夾雑物との分離

簡便な前処理でも高い質量分解能を用いて質の高いデータを得られる

分子式の推定

精密質量から分子式の推定が可能

同位体組成

安定同位体自然存在比から含まれる元素組成の予測が MS, MS/MS とともに可能

とりこぼし

SWATH はすべての MS/MS 測定を行っているのでとりこぼしが少ない



X500R (SCIEX)

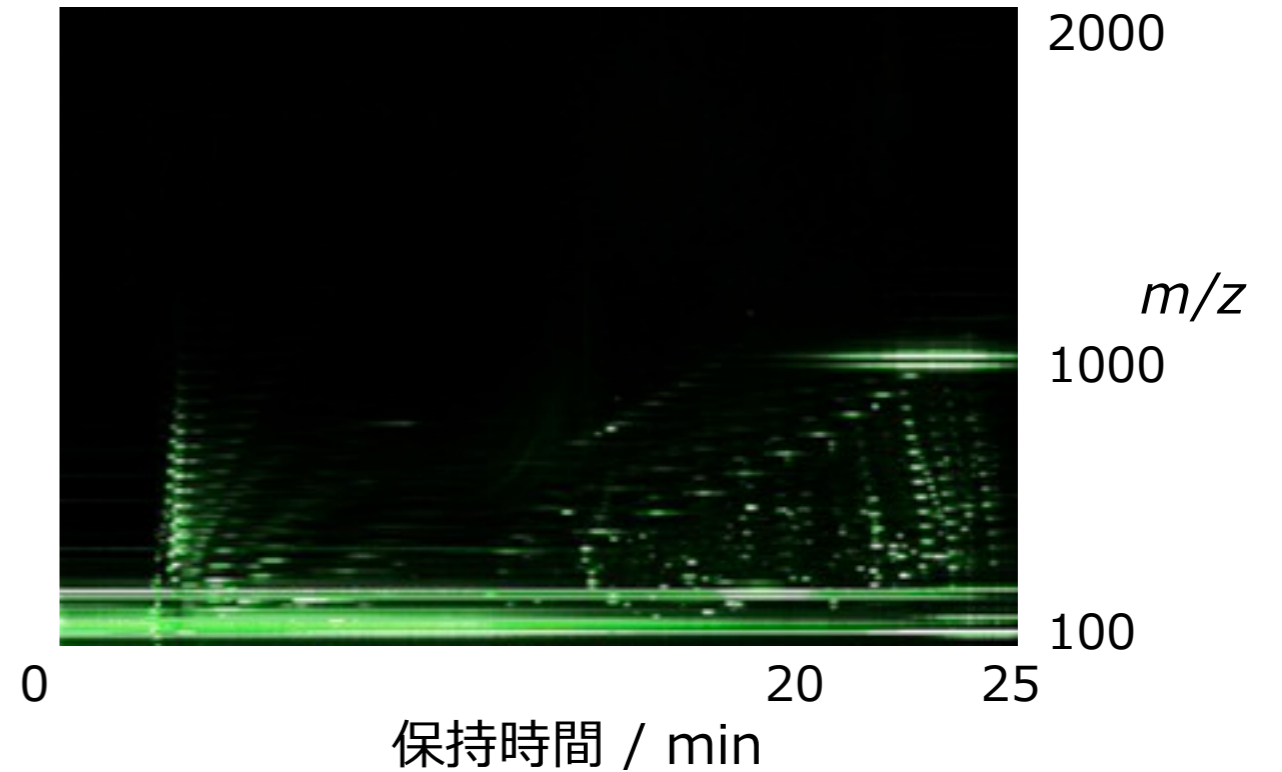
試料採取と抽出



河川水 500 mL

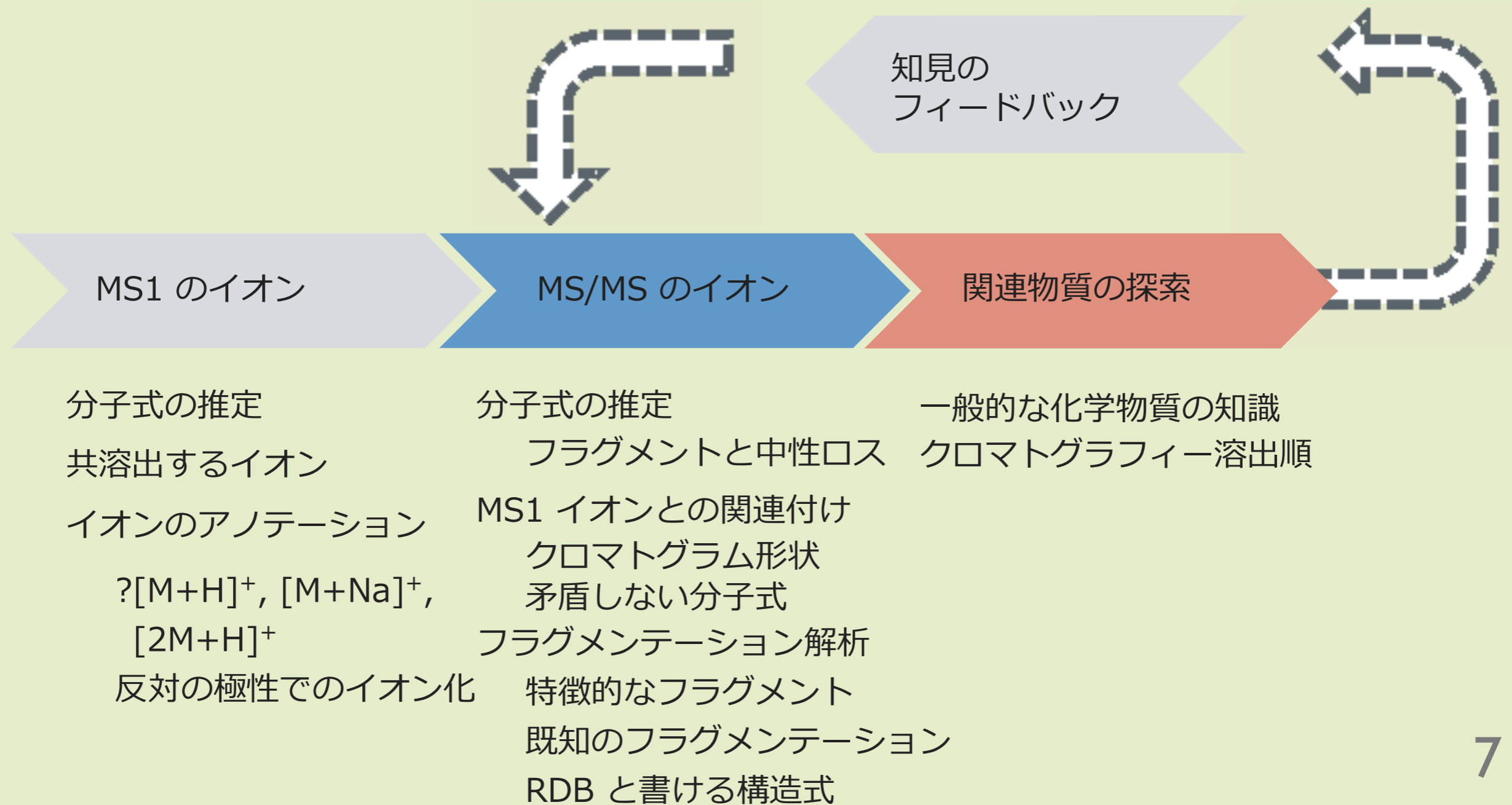
LCMS (QTOF SWATH)

理想はすべて捕まえて，すべて分析する！



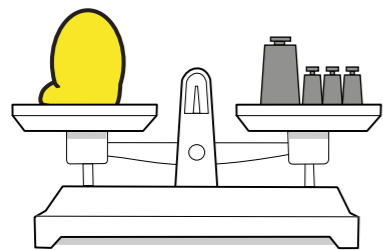
X
ESI でイオン化しない成分
イオン化阻害でみえない成分

ノンターゲット LCMS データ解析のすすめ方



環境中に存在する商業的に生産されている化学物質は明確な発生源があるものが多いため、質の高いデータが取れば大抵のものは解析できそう

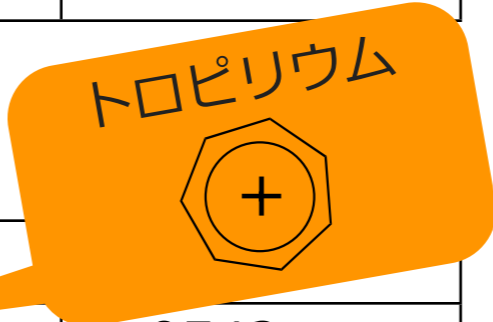
フラグメンテーションの解析例 1 (ESI +)



Accurate <i>m/z</i>	Formula	Exact mass
<i>m/z</i> 248.2376	C ₁₇ H ₃₀ N ⁺	161.0489



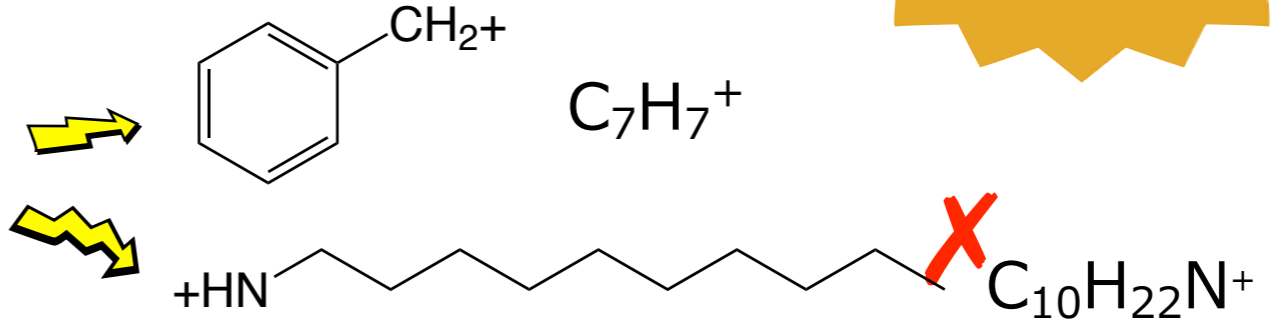
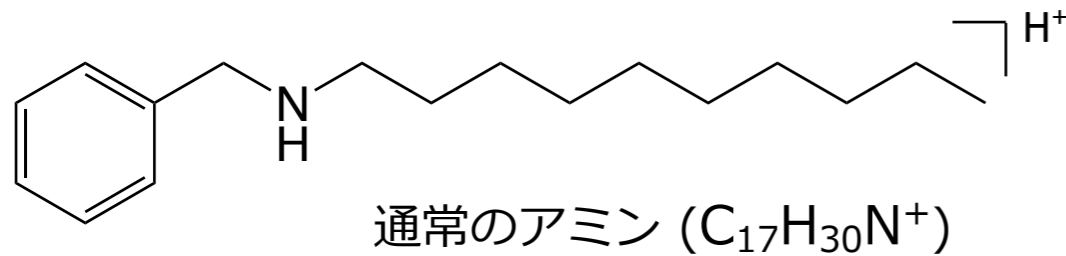
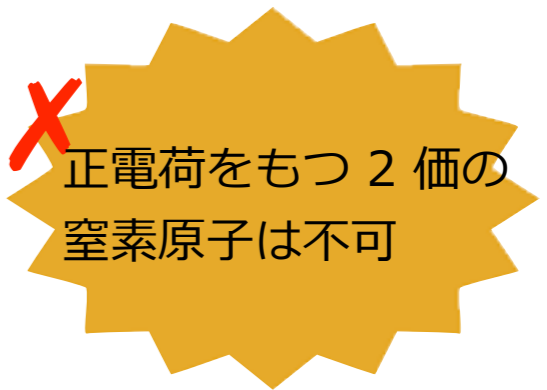
Accurate <i>m/z</i>	Formula	Exact mass
<i>m/z</i> 91.0546	C ₇ H ₇ ⁺	91.0542
<i>m/z</i> 156.1749	C ₁₀ H ₂₂ N ⁺	156.1747



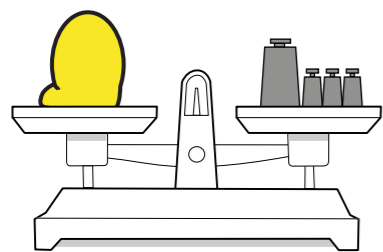
同一保持時間に共溶出する
イオンなし



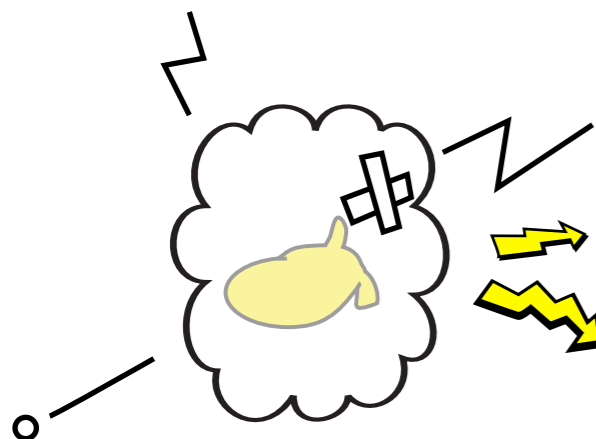
- ベンジル基
- トリル基
- ステロイド骨格
- アダマンタン骨格



フラグメンテーションの解析例 1 (ESI +)



Accurate <i>m/z</i>	Formula	Exact mass
<i>m/z</i> 248.2376	C ₁₇ H ₃₀ N ⁺	161.0489



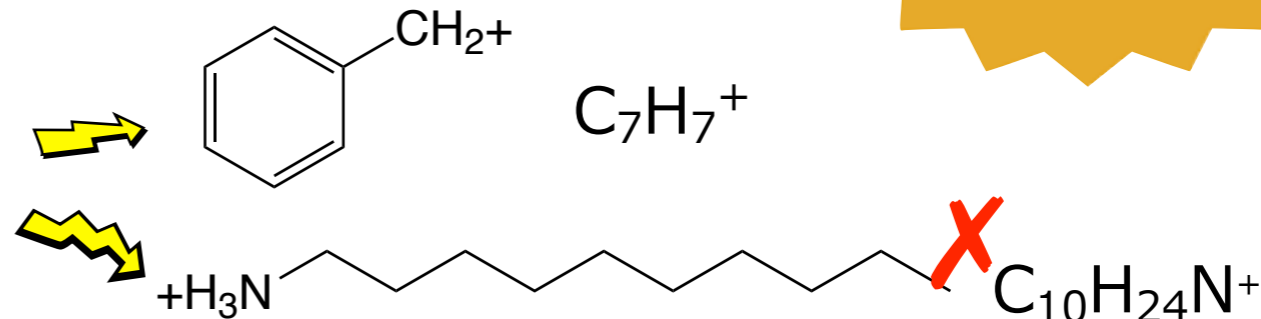
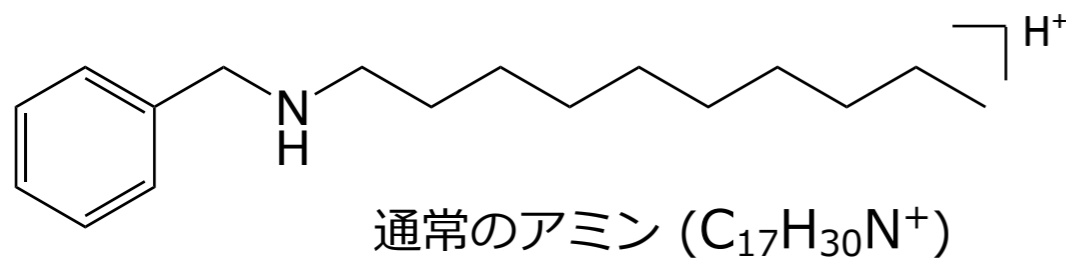
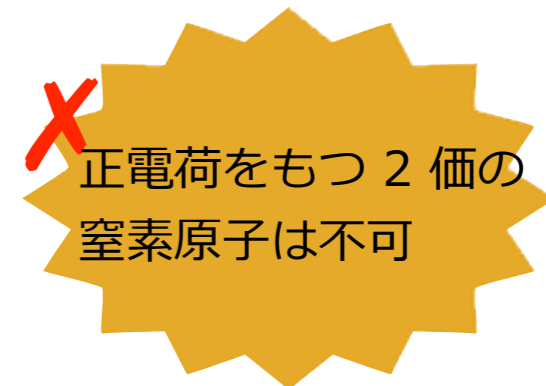
Accurate <i>m/z</i>	Formula	Exact mass
<i>m/z</i> 91.0546	C ₇ H ₇ ⁺	91.0542
<i>m/z</i> 156.1749	C ₁₀ H ₂₂ N ⁺	156.1747



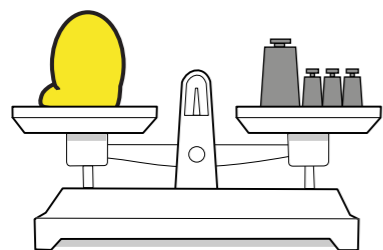
同一保持時間に共溶出するイオンなし



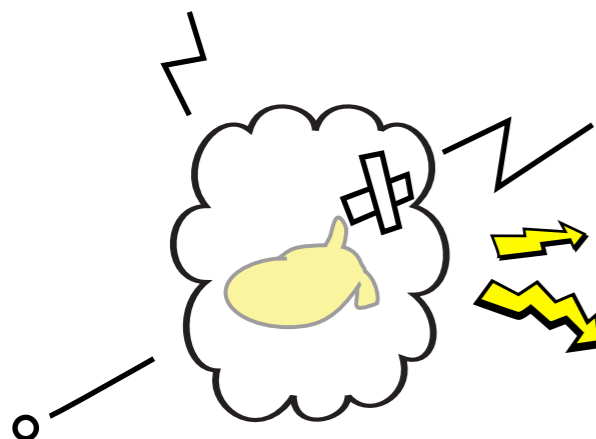
- ベンジル基
- トリル基
- ステロイド骨格
- アダマンタン骨格



フラグメンテーションの解析例 1 (ESI +)



Accurate <i>m/z</i>	Formula	Exact mass
<i>m/z</i> 248.2376	C ₁₇ H ₃₀ N ⁺	161.0489

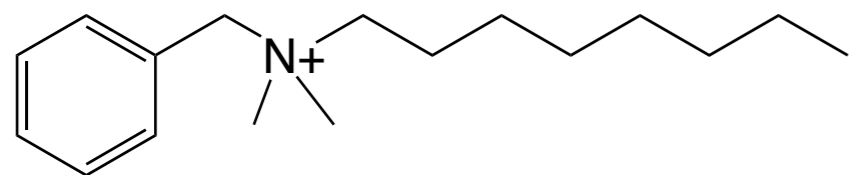
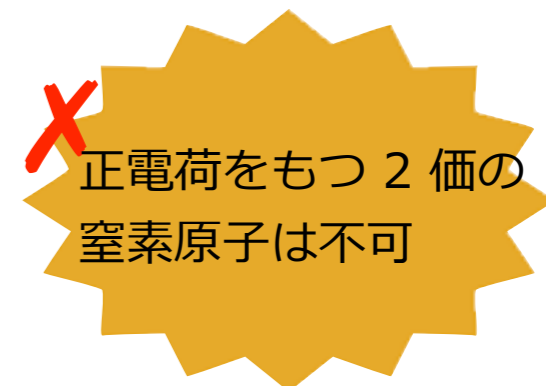


Accurate <i>m/z</i>	Formula	Exact mass
<i>m/z</i> 91.0546	C ₇ H ₇ ⁺	91.0542
<i>m/z</i> 156.1749	C ₁₀ H ₂₂ N ⁺	156.1747

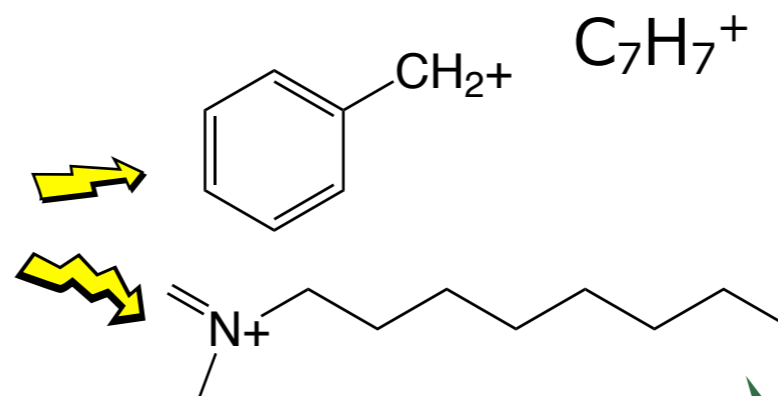


同一保持時間に共溶出するイオンなし

- ベンジル基
- トリル基
- ステロイド骨格
- アダマンタン骨格



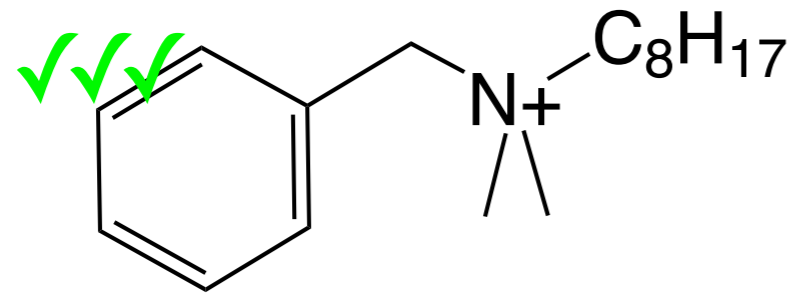
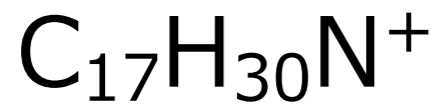
四級アミン (C₁₇H₃₀N⁺)



✓ C₁₀H₂₂N⁺

四級アミンのフラグメンテーションに伴う H₂ の脱離は既知

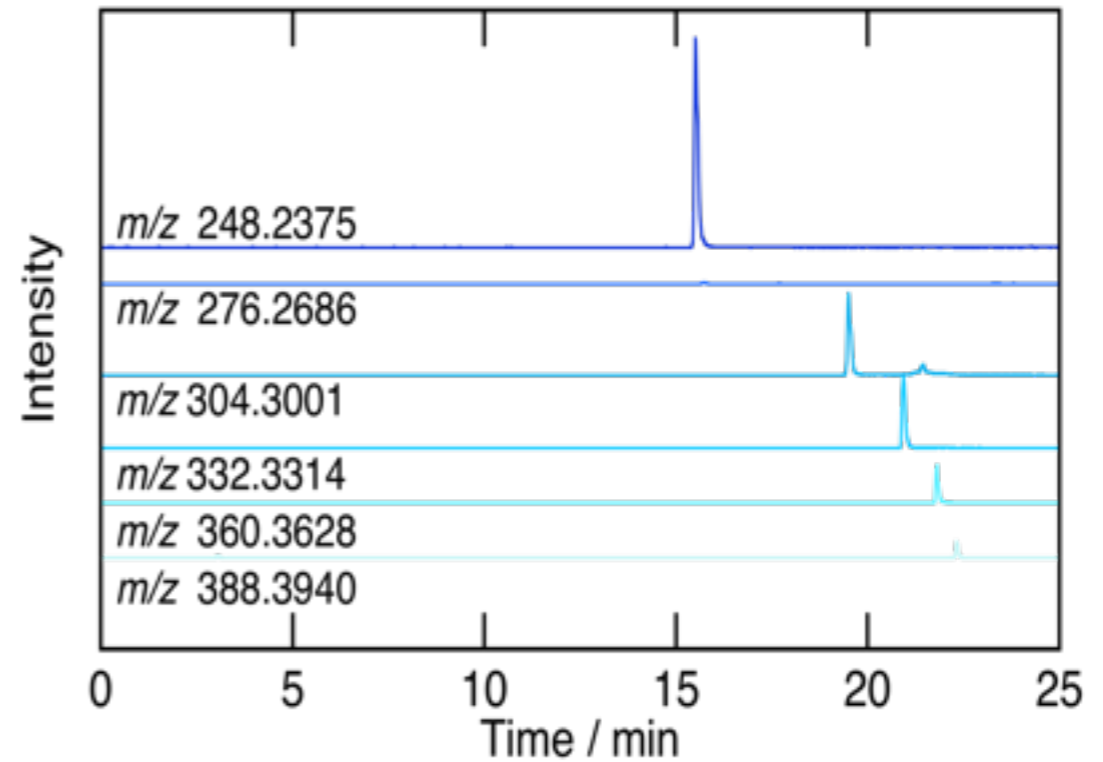
解析した物質の検証



(塩化) ベンザルコニウム

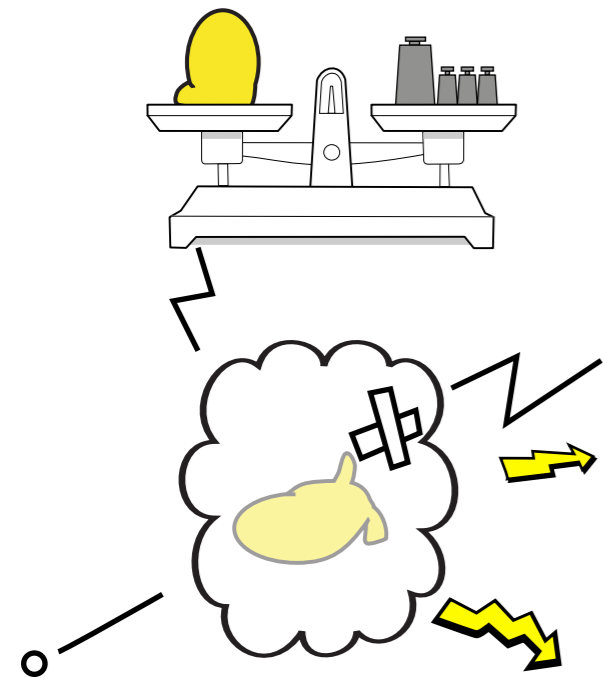
殺菌剤 (ハミガキ, ハンドソープなど)

矛盾しない同族体の検出



アルキル鎖長が 18 のものまで同一試料に含まれていた。

フラグメンテーションの解析例 2 (ESI +)



Accurate <i>m/z</i>	Formula	Exact mass
<i>m/z</i> 535.2889	C ₂₇ H ₄₄ O ₉ Na ⁺	535.2878

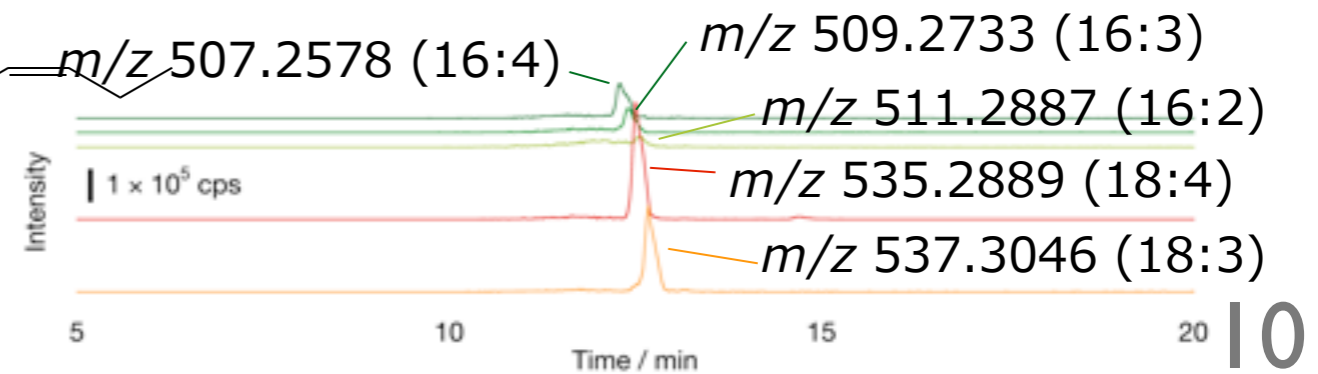
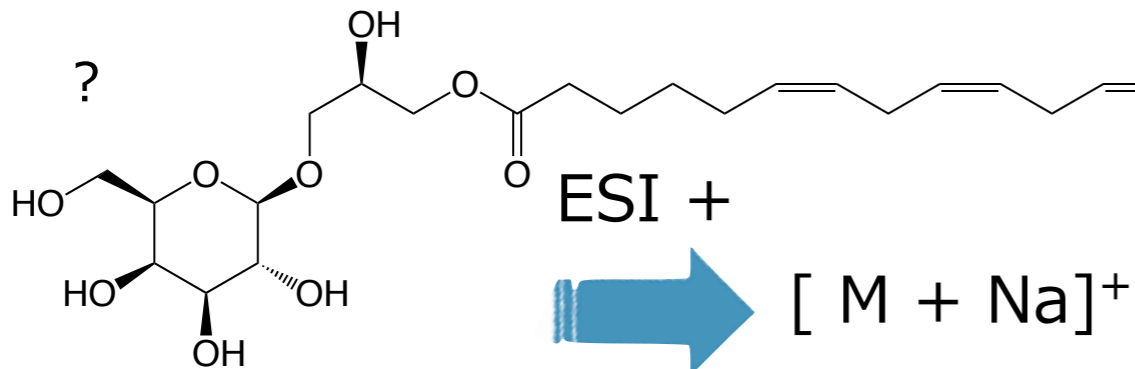
同一保持時間に共溶出するイオンなし

Accurate <i>m/z</i>	Formula	Neutral loss	Formula
<i>m/z</i> 352.2575	Na?	161.0489	
<i>m/z</i> 351.2537	C ₂₁ H ₃₅ O ₄ ⁺	162.0527	C ₆ H ₁₀ O ₅
<i>m/z</i> 260.2095	Na?	253.0969	
<i>m/z</i> 259.2059	C ₁₈ H ₂₇ O ⁺	254.1005	C ₉ H ₁₈ O ₈
<i>m/z</i> 242.1992	Na?		

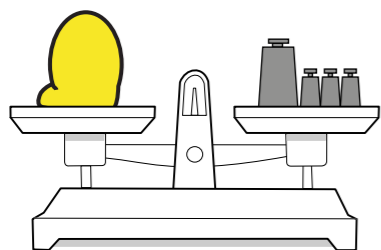
糖構造?

不飽和アシル基

モノグリコシルアシルグリセロール



フラグメンテーションの解析例 3 (ESI -)

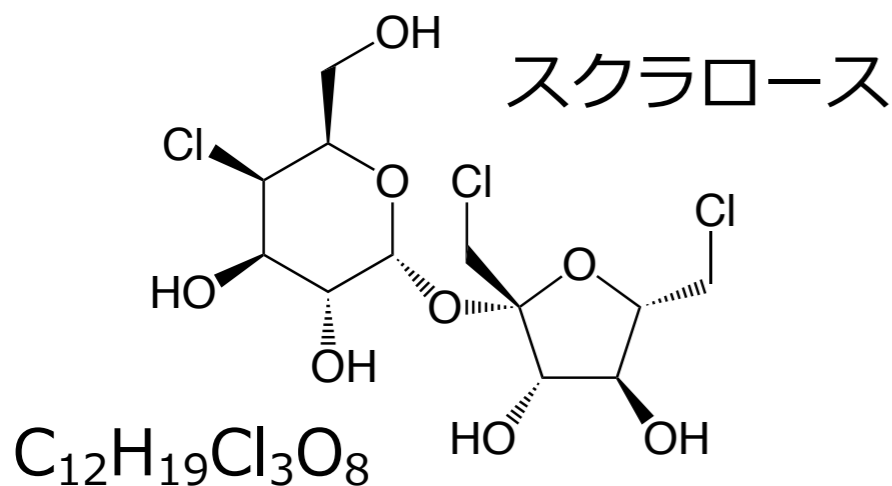


Accurate m/z	Formula	Exact mass
m/z 430.9845	$C_{12}H_{19}Cl_4O_8^-$	430.9840
m/z 455.0291	$C_{14}H_{22}Cl_3O_{10}^-$	455.0284
m/z 458.0036	$C_{12}H_{19}Cl_3NO_{11}^-$	458.0029

複数のイオンが共溶出

糖構造?

Accurate m/z	Formula	Neutral loss	Formula
m/z 395.0074	$C_{12}H_{18}Cl_3O_8^-$	35.9771	HCl
m/z 359.0301	$C_{12}H_{17}Cl_2O_8^-$	71.9531	2(HCl)
m/z 143.0354	$C_6H_7O_4^-$		



ESI -



- $[M + Cl]^-$
- $[M + CH_3COO]^-$
- $[M + NO_3]^-$

矛盾しないアダクト

データ連携基盤に何をいれるの？



オープンサイエンスへの 社会的要請

論文やそのエビデンスとしての研究データなどの研究成果を広く一般社会へ公開することで、分野を超えた新たな知見の創出や研究成果の幅広い活用、イノベーションの創出が図る

機器分析生データ

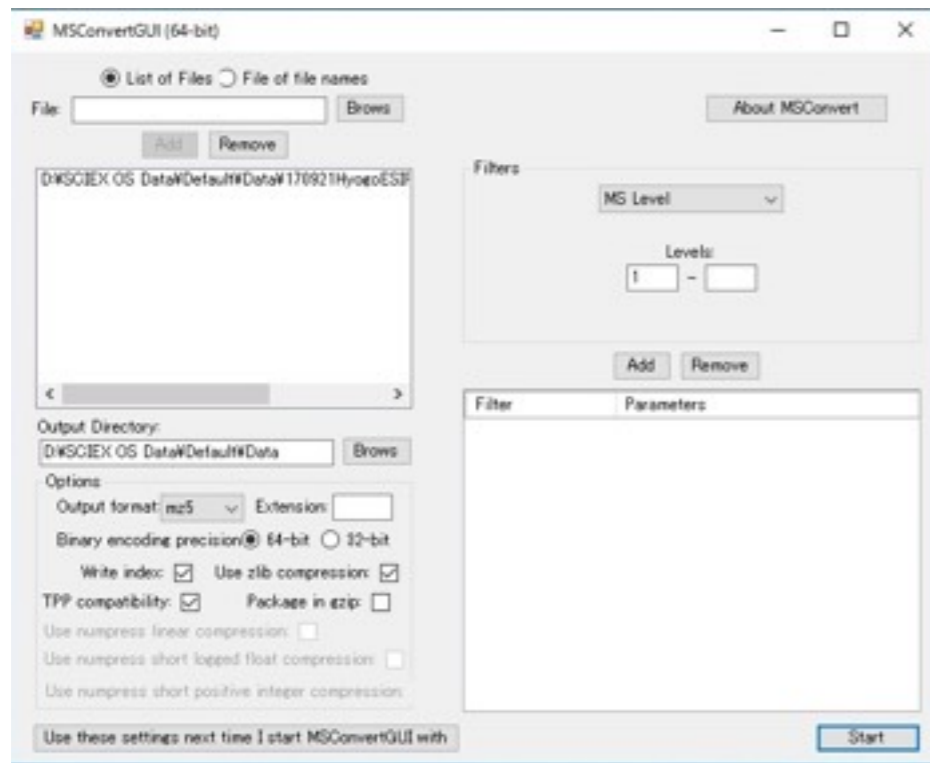
ファイルサイズ大きい！
ファイル形式も多様！

ピークデータ (ex MassBank) 地点・物質濃度データ

m/z とその強度
保持時間

時間変化
地点間差

ノンターゲット高分解能 MS データ



ProteoWizard は各社の MS が吐き出す raw, d, wiff 等のファイル形式に対応している。

どのように高分解能 MS データを共有していくか...

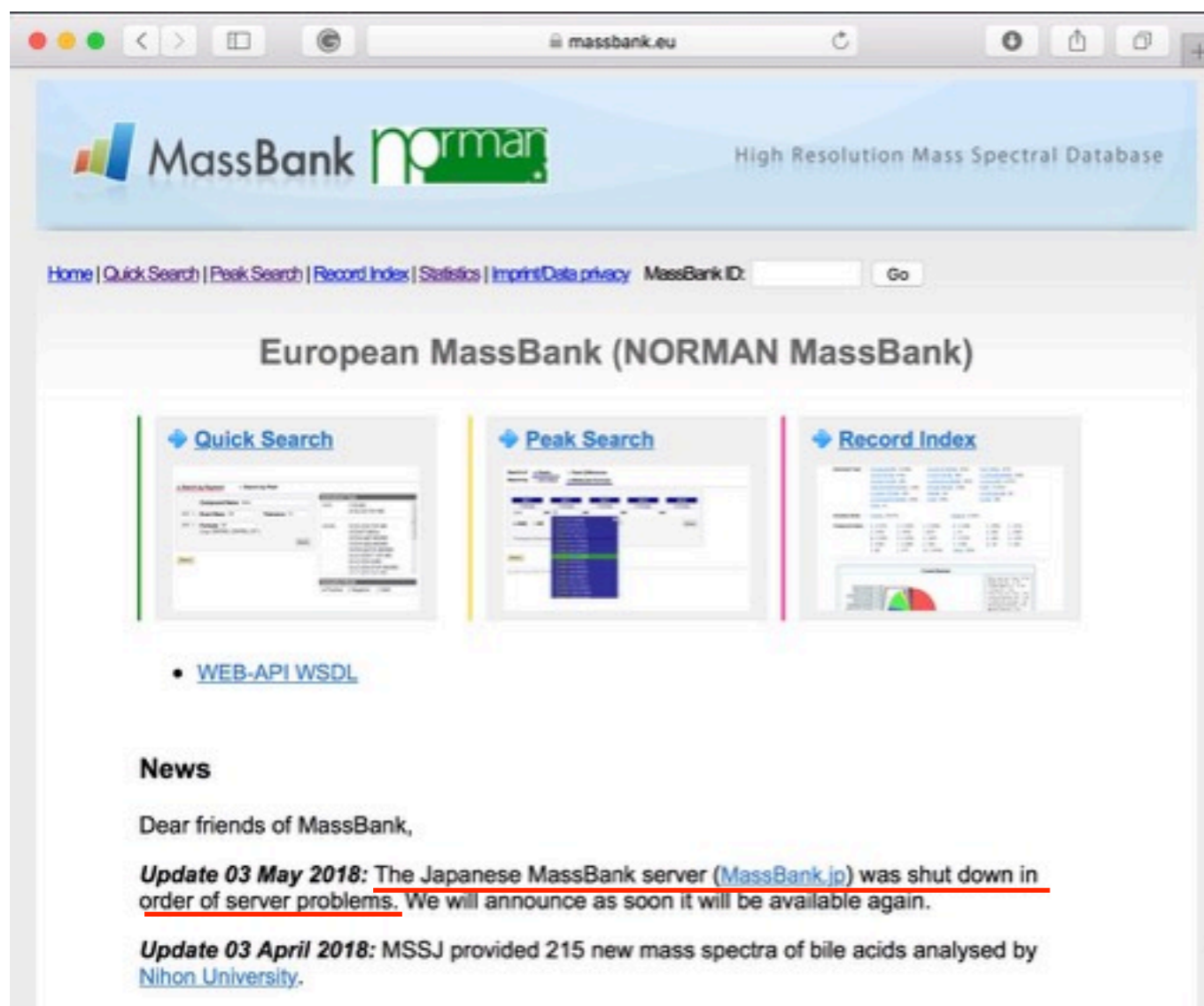
元ファイル 32 MB

おお、もう...

名前	更新日時	種類	サイズ
170921HyogoESIPos13HyogoBlk.wiff2	2017/09/21 22:43	WIFF2 ファイル	32 KB
170921HyogoESIPos14HyogoKiyotomi.wiff.scan	2017/09/21 23:06	SCAN ファイル	31,282 KB
170921HyogoESIPos14HyogoKiyotomi.wiff2	2017/09/21 23:06	WIFF2 ファイル	584 KB
170921HyogoESIPos14HyogoKiyotomi-Aq_Kiyotomi.mz5	2017/12/13 19:58	MZ5 ファイル	654,648 KB
170921HyogoESIPos14HyogoKiyotomi-Aq_Kiyotomi.mzXML	2017/12/13 19:33	MZXML ファイル	8,098,500 KB
170923HyogoESIPos01MeOH.wiff.scan	2017/09/23 11:51	SCAN ファイル	4,747 KB

mz5 650 MB, mzxml 8 GB

MassBank の現状



高機能化・普及を優先した高コスト化
(維持が困難に！)

分散サーバー, Java Applet からクラウドサーバー, Java Script への移行

Wiki による運用 (機能はそのまま移行されない)

MassBank.jp の検索機能の一部は現状すでに使えない

MassBank.jp は閉鎖中… MassBank.eu へリダイレクト

環境試料一括ノンターゲット分析のこの先

天然物から人工物までいろいろなものが見えて楽しい

現状どの程度物質をとりこぼしているか？

守備範囲の広いイオン化

多次元 LC, nanoLC

データ解析の自動化

イオンのアノテーション

フラグメンテーション解析

同族体・関連物質の探索



突発的な事故に対応する
環境モニタリング

ケミカルバイオロジーの
環境版のようなもの