

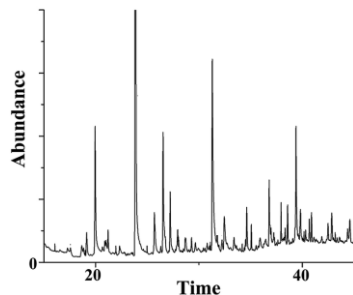
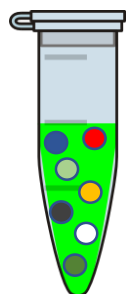
低分子化合物の迅速・正確な構造推定法

沖縄科学技術大学院大学
進化神経生物学ユニット グループリーダー
早川英介



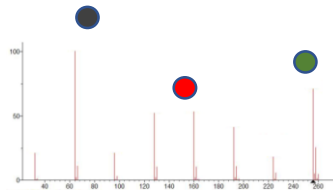
OIST

- 分析化学による定性分析：試料に含まれる化合物の構造を明らかにする。
- 様々な産業や研究で必須：
 - 食品成分（有用成分・農薬混入）
 - 臨床試料（バイオマーカー）
 - 環境分析（汚染物質の検出）
- 液体クロマトグラフィーと質量分析の組み合わせが広く普及

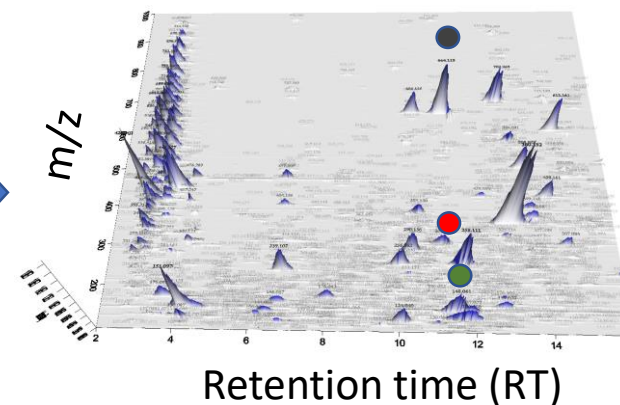


液体クロマトグラフィー

+

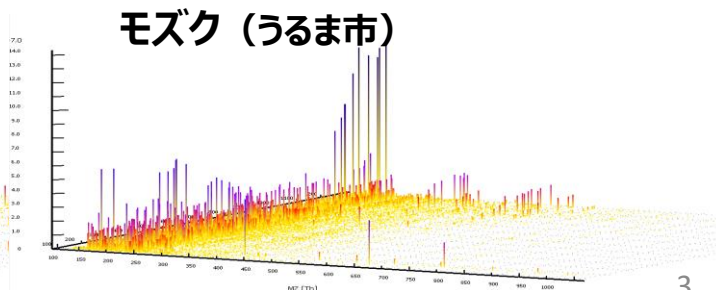
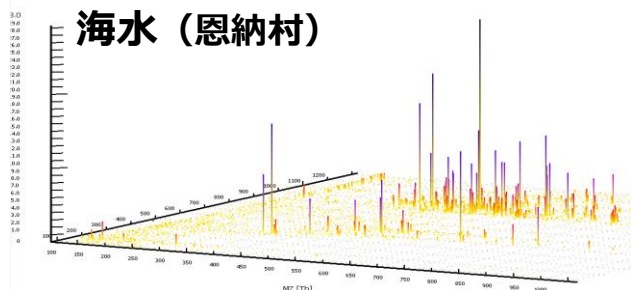


質量分析



- ターゲット分析
 - 特定の化合物のみ検出
- ノンターゲット分析
 - 試料中のあらゆる化合物を検出し構造を明らかにする
 - 試料中の化学組成を理解
 - 化学物質の動態を理解
 - 新規有用物質の発見：副生成物の同定
- 食品・臨床・環境を含む多分野でノンターゲット分析の需要が高まっている
 - ノンターゲット分析では質量情報しか分からない膨大な“未知化合物”が検出
 - 未知化合物の構造を迅速に明らかにする技術が求められている

ノンターゲット分析と 未知化合物群の例 (MS1)

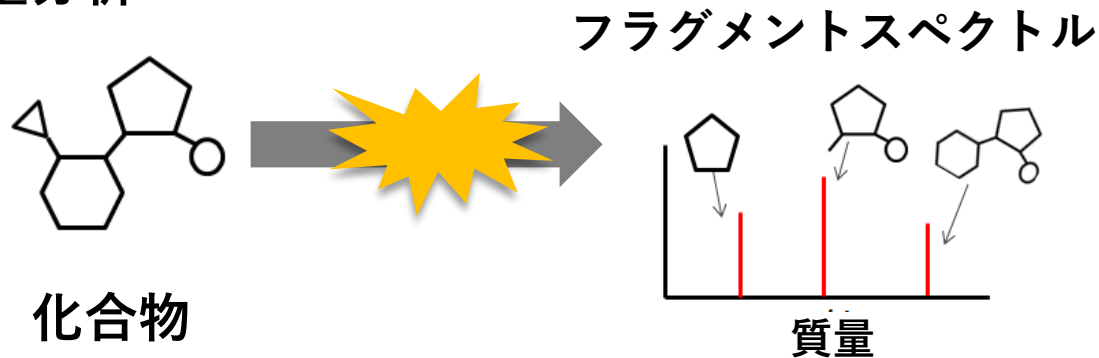




- **NMR**

- 化合物の単離・精製に膨大な手間
- 分析・データ解析に時間がかかる（1化合物/分析）

- **質量分析**

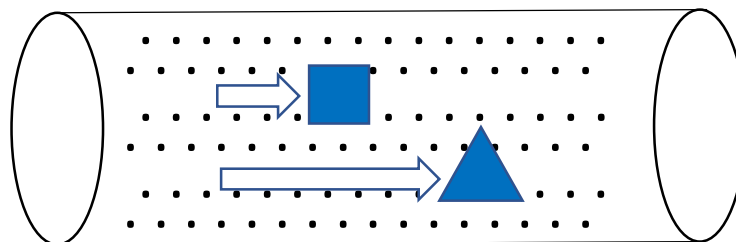


- 化合物とフラグメントの質量情報のみ
- 質量情報のみでは構造決定は極めて困難
 - 組成式までは分かっていても候補構造が膨大
 - 位置異性・立体異性は判別不可能



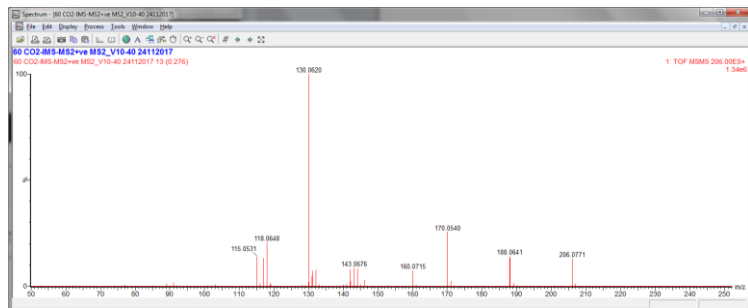
イオンモビリティ

- **イオンの立体構造を反映**した分析データ (Drift timeおよび衝突断面積) を取得する手法



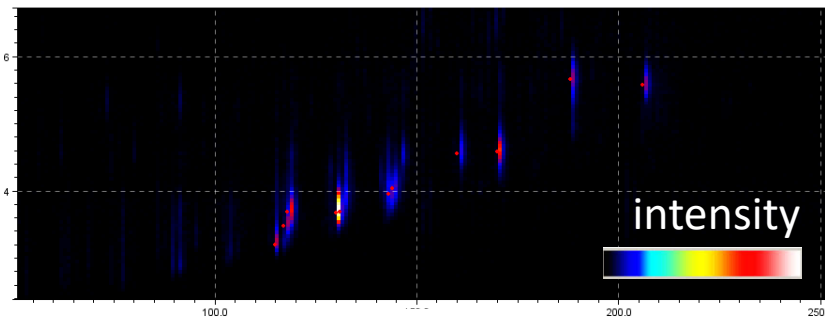
フラグメントイオンモビリティ

- 質量分析装置で**フラグメント化したイオン**のイオンモビリティデータを取得する手法



質量

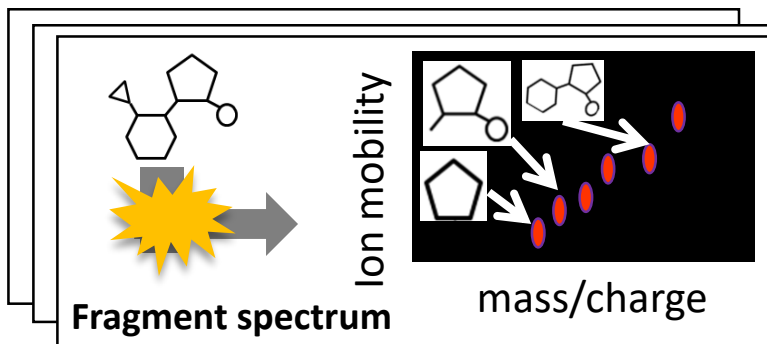
イオンモビリティ
(Drift time)



質量

フラグメントイオンモビリティによる構造決定プラットフォーム

フラグメントイオンモビリティ測定



システマティックなデータ処理フロー



- Peak detection
- Fragment structure annotation
- CCS calibration



フラグメントイオンモビリティDB

| Fragment | m/z | Drift time | CCS |
|----------|-----|------------|-----|
| | 120 | 5.2 | 140 |
| | 180 | 6.2 | 170 |
| ... | 220 | 7.1 | 190 |

C1CC2(C1)CCCC2
 m/z = 300
 Drift time = 8
 CCS = 240

データ解析パイプライン

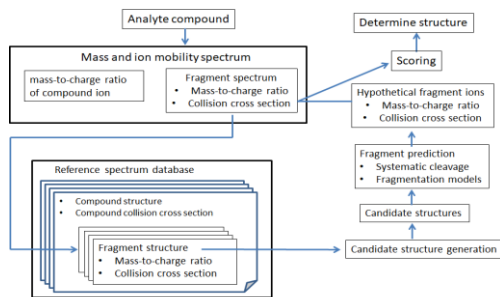


Figure 3-3b (when structure database is NOT used as candidate list)

IMS2DB Browse Search Statistics

Browsing IMS Fragments

Status Display only annotated fragments Include precursor records
 Ion Mode Positive Negative
 Apply Filter

m/z 355.2582, CCS 192.1 Å² from Deoxycholic acid

| Fragment Structure Candidate | Precursor Structure | Accession | FRG00001634 |
|------------------------------|---------------------|----------------|-------------|
| | | Fragment Form | [F-5H]- |
| | | Drift peak | 3.4089 |
| | | Source Record | SPC00290 |
| | | Ion Mode | Negative |
| | | Precursor Type | [M-H]- |
| | | Precursor M/Z | 391.2854 |

m/z 347.2903, CCS 190.6 Å² from Deoxycholic acid

| Fragment Structure Candidate | Precursor Structure | Accession | FRG00001633 |
|------------------------------|---------------------|----------------|-------------|
| | | Fragment Form | [F-H]- |
| | | Drift peak | 3.3541 |
| | | Source Record | SPC00290 |
| | | Ion Mode | Negative |
| | | Precursor Type | [M-H]- |
| | | Precursor M/Z | 391.2854 |

m/z 345.2738, CCS 190.2 Å² from Deoxycholic acid

| Fragment Structure Candidate | Precursor Structure | Accession | FRG00001631 |
|------------------------------|---------------------|----------------|-------------|
| | | Fragment Form | [F-3H]- |
| | | Drift peak | 3.3385 |
| | | Source Record | SPC00290 |
| | | Ion Mode | Negative |
| | | Precursor Type | [M-H]- |
| | | Precursor M/Z | 391.2854 |

m/z 345.2738, CCS 184.1 Å² from Deoxycholic acid

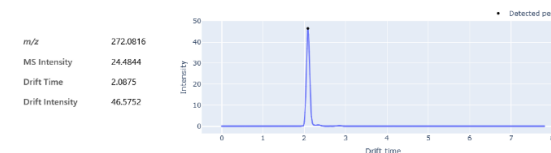
| Fragment Structure Candidate | Precursor Structure | Accession | FRG00001630 |
|------------------------------|---------------------|-----------|-------------|
|------------------------------|---------------------|-----------|-------------|

IMS2DB Browse Search Statistics

Fragment Record FRG00001524

m/z 272.0816, CCS 154.1 Å² from Glycine, L-gamma-glutamyl-S-[(2R)-2-hydroxy-1-oxopropyl]-L-cysteinyl- (ACI)

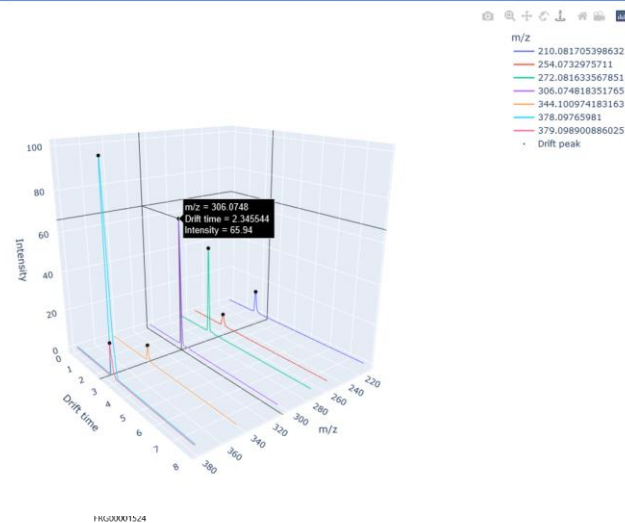
Arrival Time Distribution



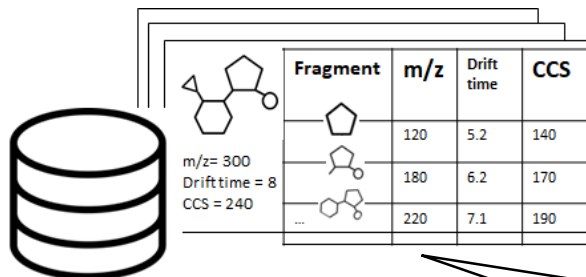
CCS Values

| CCS | Calibration Reference |
|-------|-----------------------|
| 154.1 | 77500037 |

Mobilogram



- 標準化合物を分析して得たフラグメント（部分構造）の質量およびイオンモビリティ情報
- 各種化学構造情報を統合



tyrosine

Chemical structure: NC(Cc1ccc(O)cc1)C(=O)O

Drift time vs Mass/charge plot:

| フラグメント | 質量 (m/z) | イオンモビリティ (Drift time) |
|--------|----------|-----------------------|
| | 119.04 | 3.812 |

3-(3-hydroxyphenyl)propionate

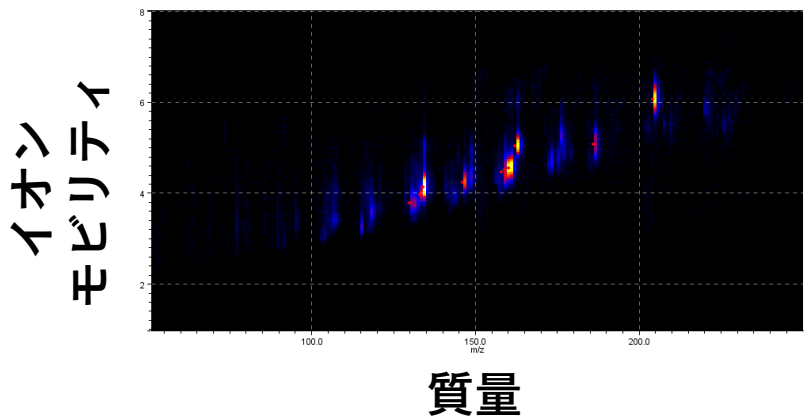
Chemical structure: CCC(=O)Oc1cccc(O)c1

Drift time vs Mass/charge plot:

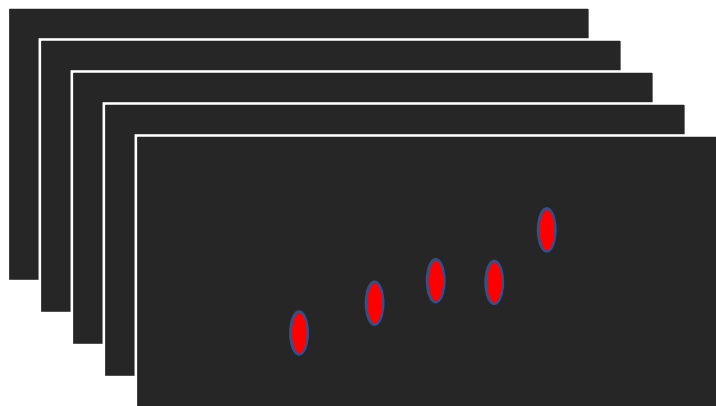
| フラグメント | 質量 (m/z) | イオンモビリティ (Drift time) |
|--------|----------|-----------------------|
| | 119.04 | 3.915 |

- 質量分析では判別不可能な位置異性・立体異性を決定可能
- 分析データをデータベース化および教師データとして使うことで網羅的なフラグメント・部分構造決定が可能

未知化合物スペクトル



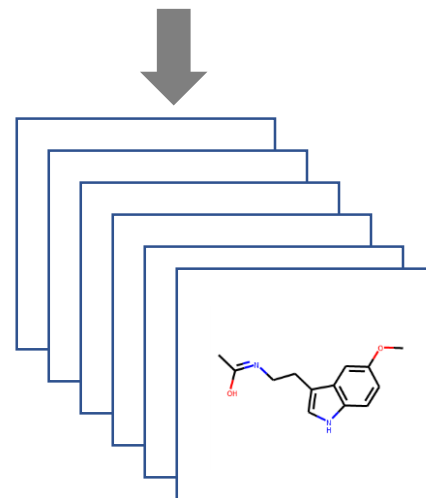
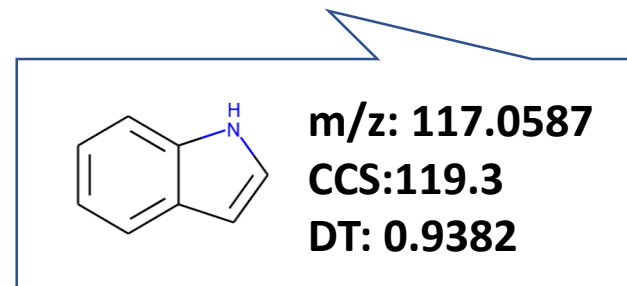
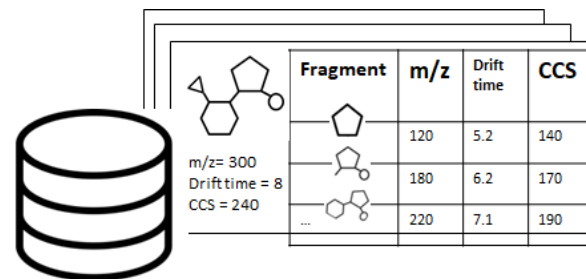
↑ スペクトルマッチング



In-silico フラグメンテーションによる仮想スペクトル

→ フラグメントサーチ

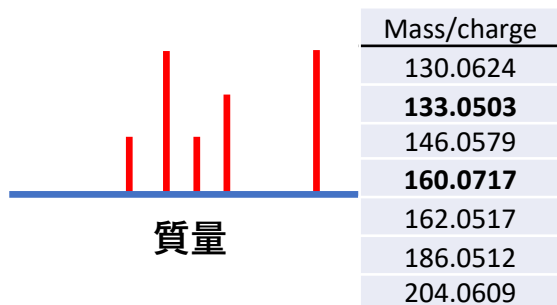
フラグメントイオンモビリティDB



フラグメント (部分構造) をシードとした候補構造



従来の質量分析



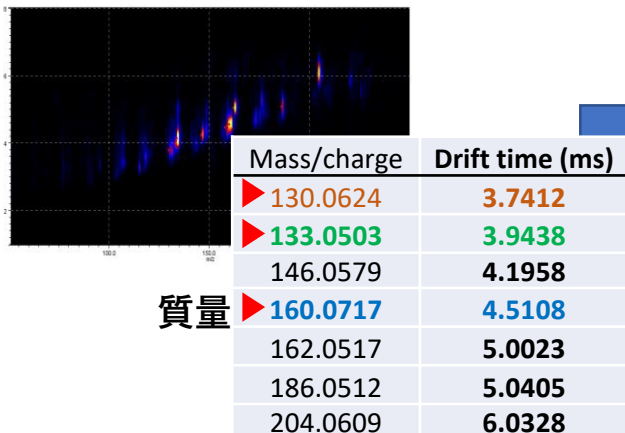
質量情報のみでは

- フラグメント
 - 化合物
- 膨大な可能性

構造決定不可能

本技術

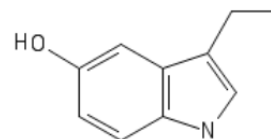
イオンモビリティ



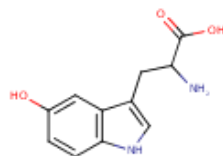
| Fragment | m/z | Drift time | CCS |
|----------|-----|------------|-----|
| | 120 | 5.2 | 140 |
| | 180 | 6.2 | 170 |
| | 220 | 7.1 | 190 |

m/z = 300
Drift time = 8
CCS = 240

Matching
Mass tol. < ± 0.002 m/z
Drift time tol. < ± 0.025 ms



フラグメント (部分構造) の決定



N-Acetyl-5-hydroxytryptamine



- 候補構造の取得・生成
- In silico フラグメンテーション



| | NMR | 質量分析 | 本技術 |
|-----------|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 感度 | 低い (>mg) | 高い(ng) | 高い(ng) |
| スループット性 | 低い (分取精製必須) | 高い (分取精製不要) (10-30min/混合試料) | 高い (分取精製不要) (10-30min/混合試料) |
| 位置異性・立体異性 | 可 | 不可 | 可 |
| 新規化合物の発見 | 可 | 不可 | 可 |

- NMRでは不可能な高感度・ハイスループットな構造決定
- 質量分析では不可能な高度な構造決定（未知・新規化合物）が可能
- 化合物のクラスを問わず、網羅的な構造決定が可能
- 定性分析が重要な食品・創薬・臨床・環境分野等の様々分野で有効な技術



データ解析の実施形態

- 市販の分析装置のデータで実施可能
- データ解析自体は独立したコンピューターで実施可能

技術移転・パッケージング

- 分析生データから解析結果までをサポートするツールのパッケージ
- スペクトルデータベースおよび解析プラットフォームのライセンス
 - オフライン稼働する解析システム
 - サブスクリプション型のオンラインツール



発明の名称 : 化合物の構造を同定するための方法およびシステム

出願番号 : 特願 2020-525704 (日本)
17/251,523 (米国)

出願人 : 沖縄科学技術大学院大学 (単独)

発明者 : 早川英介 (グループリーダー)

お問い合わせ先

沖縄科学技術大学院大学 (OIST)

技術移転セクション

TEL : 098-966-8937

E-mail : tls@oist.jp



OIST

OKINAWA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY GRADUATE UNIVERSITY
沖縄科学技術大学院大学