MassBankにおけるフラグメンテーションライブラリ
Fragmentation Library in MassBank

尾嶌　雄也[1,2]、二瓶　義人[1,2]、蓬莱　尚幸[1,2]、西岡　孝明[1,2]（[1]慶應義塾大学先端生命科学研究所、[2]JST-BIRD）

要　旨

メタボローム解析ではマススペクトルから生体内化合物を同定する技術の必要性が高まっている。MassBankではマススペクトルから化合物や化学構造を推定する機能を提供する準備をすすめている。その第一段階として、MS^2 で測定したマススペクトルの化学情報化をおこなう。

本発表では、マススペクトルの化学情報化をおこなって、測定した化合物ごとにフラグメンテーションライブラリを作成した結果について報告する。

We predicted the molecular formula of product ions and the chemical bonds cleaved in their precursor ions for the mass spectra of 453 known compounds measured on QqTOF-MS^2 in MassBank. The results are summarized in the Fragmentation Library of MassBank.

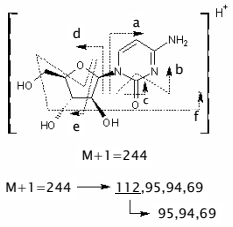
実験方法

m/z を化学構造情報へ変換するために、“Ojimatrix”を作成した。
このOjimatrixと、開裂スキーム・PPマトリックス・PPテーブルの3つを加えたものを “フラグメンテーションライブラリ”と定義した。

m/z（数値）
↓ “Ojimatrix”の作成 ← ①開裂スキームの作成 ②PPマトリックスの作成 ③PPテーブルの作成
化学構造情報：イオンや中性脱離分子の分子式/結合の開裂位置/Precursor-Product ion 関係/開裂パスウェイの数え上げ

①開裂スキームの作成

453の化合物について、QqTOF-MS^2（ESI, Positive mode, 5段階のCID条件）を用いて測定したマススペクトルを化合物ごとに重ね合せた統合スペクトル（merged MS）を対象として分子式および開裂位置の同定を行った（Fig.1）。



133:d (C5H9O4)
112:a (C4H6N3O)
95:a,-NH3 (C4H3N2O)
94:a+c (C4H4N3)
69:a+b,-NH3 (C3H3N2)
67:d+f (C5H7)
67:a+b,-NH3 (C3H3N2)
57:e,-2H2O (C3H5O)

*Prediction of Formula
- with 50ppm tolerance of *m/z*.
- taking account of mass shifts
- use MassFrontier (Thermo Fisher Scientific) in part

Fig.1. Example of dissociation scheme

全130,246ピーク（453スペクトル）中、3,925ピークについて分子式を推定（3.0%, 平均9ピーク/スペクトル）し、うち、1,890ピークについて開裂位置まで推定した。

②PPマトリックスの作成

推定した分子式から、全てのprecursor ion とproduct ion の可能なペアを表現した “PPマトリックス”を作成した（Fig.2）。
各セルには2つの分子式の差(中性脱離分子)を表した。

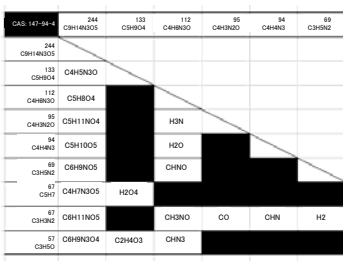


Fig.2. Example of PP-matrix(part)

③PPテーブルの作成

マトリックス中のペアのうち、precursor ion の1結合が開裂したと仮定した場合に、product ion が生成すると考えられるペアを並べた “PPテーブル” を作成した（Fig.3）。
Comment 欄には開裂位置（Fig.1のアルファベット）を表記した。

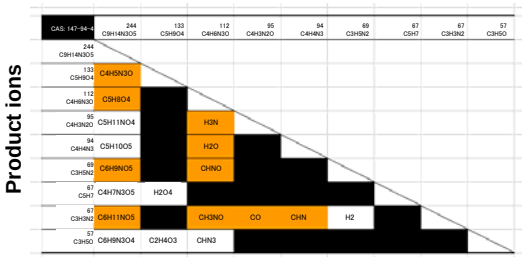
NAME: Cytosine arabinoside
CAS: 147-94-4

Precursor	Product	Comment
244 C9H14N3O5	133 C5H9O4	d
	112 C4H6N3O	a
	69 C3H5N2	a+b,-NH3
	67 C3H3N2	a+b,-NH3
112 C4H6N3O	95 C4H3N2O	
	94 C4H4N3	
	69 C3H5N2	
	67 C3H3N2	
95 C4H3N2O	67 C3H3N2	
94 C4H4N3	67 C3H3N2	

Fig.3. Example of PP-Table

結果

Precursor ions



*Orange color: pairs in PP-table

Fig.4. “Ojimatrix” of cytosine arabinoside

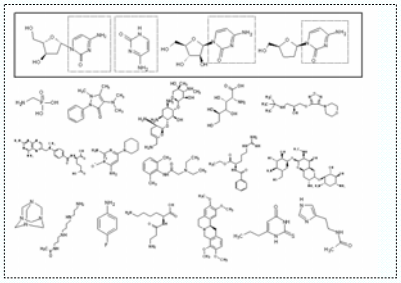
Table1. Summary of Ojimatrix

Target compounds	453
Target formulae (i.e. precursor and product ions)	4,378
Cells with neutral loss (not black)	19,426
Cells confirmed (orange)	5,726 (1,032 formulae)
Cells unconfirmed (white)	13,700

考察

フラグメンテーションライブラリの作成により、マススペクトルと化学構造との関係を解析することが可能である。

また、化学構造情報を用いることで高い検索精度が期待できる。Fig.5には、cytosine のプロトン化イオンピーク（分子式C4H6N3O, 精密*m/z* 112.052）を含む化合物の抽出を目的として、数値および分子式による検索を行い、その結果を示した。



In dashed box
･･･21 compounds found by numerical search

In solid box
･･･ 4 compounds found by formula search

Fig.5. Search results for the protonated ion of cytosine

実線枠内のcytosine骨格を含んでいる4化合物以外からは、cytosine のプロトン化イオンが生じる可能性は低い。
分子式による検索を用いて、false positive を抑えることができた。

フラグメンテーションライブラリの検索ツールとして “Peak Search Advanced” を開発している（Fig.6）。現段階では、イオンや中性脱離分子を数値ではなく分子式で検索することができる。分子式からの検索でヒットした化合物の共通部分構造と、イオンや中性脱離分子とを関連づけることができる。

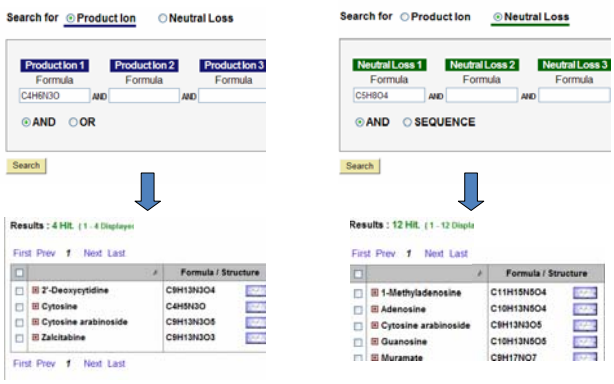


Fig.6. Peak Search Advanced