

ブルカー・ダルトニクス ユーザーズミーティング2011
**オミクスと創薬研究のための
最新質量分析技術**



東京会場

11月30日(水) コクヨホール(品川)



大阪会場

12月1日(木) メルパルク大阪(新大阪)

- ・講演: 13:00 ~ 17:30 (受付開始 12:30)
- ・情報交換会: 17:30 ~

- ・ご参加対象: ブルカー・ダルトニクス製品のユーザー様をはじめ、演題に係る研究・開発業務に携わられている方
- ・参加費無料

●ごあいさつ●

平素より格別のご高配を賜り厚くお礼申し上げます。このたびユーザーズミーティング2011を開催する運びとなりましたのでご案内申し上げます。

質量分析技術の進歩は目覚ましくまたその利用は現在多岐に亘り、毎年新しい技術とアプリケーションが紹介されています。その中で今回は特にプロテオーム、メタボローム、そして医薬品代謝物同定に関する最新の話題を中心にお届けいたします。

お忙しいとは存じますが、ご参加を心よりお待ちしております。

プログラム

13:00 ~ 13:30	ブルカー・ダルトニクス 2011年新製品のご紹介
13:30 ~ 14:15	Combining Flexibility and Ultrahigh Performance in Mass Spectrometry : 質量分析における柔軟性と超高性能の統合 Michael L. Easterling Ph.D. Bruker Daltonics, Inc. Billerica, MA (同時通訳付)
14:15 ~ 15:00	Challenges in Metabolomics and metabolism studies addressed by UHR-TOF-MS technology combined with unique software capabilities : UHR-TOF-MSテクノロジーとユニークなソフトウェアによるメタボロミクスと代謝研究における挑戦 Aiko Barsch Ph.D., Bruker Daltonics, Inc. (同時通訳付)
15:00 ~ 15:15	休憩
15:15 ~ 16:00	Hyphenation of NMR, MS and Chromatography. : NMR, MS, クロマトグラフィーのハイフネーション Manfred Spraul Ph.D., Bruker Biospin, Inc. (同時通訳付)
16:00 ~ 16:45	TOP-DOWN PROTEOMICS, A MULTI-PLATFORM PRIMER : トップダウンプロテオミクス, マルチプラットフォームの手引き Michael L. Easterling Ph.D., Bruker Daltonics, Inc. (同時通訳付)
16:45 ~ 17:15	抗体医薬プロテオミクス ~ProteinScape3.0 – GlycoQuest~ 岩崎了教 ブルカー・ダルトニクス株式会社
17:30 ~ 19:00	情報交換会



演目要旨

Combining Flexibility and Ultrahigh Performance in Mass Spectrometry

Michael L. Easterling Ph.D.
Bruker Daltonics, Inc. Billerica, MA

As a result of the ongoing expansion in the types of mass spectrometric tools and workflows available to the scientific community, one of the toughest challenges which faces the modern user is to properly outfit themselves with the systems needed to efficiently answer analytical questions. From selection of an appropriate sample cleanup mode to an ionization strategy, to a detection technique, and a variety of post processing options, the parameter space for technique selection is seemingly infinite. The power derived from this flexibility has created a unique opportunity for expansion in mass spectrometry to a variety of application areas that have not been conventionally considered.

Historically, Fourier transform ICR mass spectrometry has been viewed as an “event horizon” platform for the early adaptation or development of many tools used today in conventional mass spectrometry, to include; electron induced dissociation techniques, electrospray ionization, top-down MS, and HDX. Many of these tools developed for the life sciences either had their genesis in, or were refined on FTMS platforms. This tradition is carried on today with the incorporation of MALDI imaging and other advanced or emerging techniques into FTMS instrumentation where these technologies can utilize the unique capabilities and spectral figures-of-merit found in FTMS to answer questions in a fashion that complements other MS strategies. While many types of mass spectrometers can provide access to workflows attributed to FTMS, none can leverage the additional dimension of ultrahigh performance that makes FTMS the most powerful and flexible tool in the mass spec arsenal.

This talk will examine how ultrahigh performance can provide definitive molecular formula determination and identification for a variety of application focus areas. Specifically, we will look at high resolving power (>250,000 FWHM) mass spectrometry applied to a variety of workflows. In each case, the “extra” chemical information encoded in the isotopic peaks serves as a unique signature to the atomic composition of the target molecule. While methodologies based on analysis of the geometric features of unit-resolved isotopic distributions have become fashionable to overcome the degeneracy associated with mass based elemental assignment, they cannot definitively exclude the possibility of alternative atomic combinations or mixtures. Measuring the individual atomic contribution to each of these peaks can uniquely provide complete confidence formula elucidation, even for complex mass spectra

(訳) 質量分析における柔軟性と超高性能の統合

Michael L. Easterling Ph.D.
Bruker Daltonics, Inc. Billerica, MA

科学者が利用できる質量分析装置やワークフローの発展とともに、現在ユーザーが直面している最も困難なチャレンジの一つは分析課題に対して最も効果的に答えを与えることができる装置を選択することです。サンプルに対する適切なイオン化法とそれに合わせたサンプルクリーニングアップの選択から検出法や多様な解析方法の選択に至るまで、技術の要素の組み合わせは無限にあるようにさえ見えます。この高い柔軟性こそ質量分析計がこれまでに考えられなかったような多様で、かつ質量分析計でしか成しえない独自のアプリケーション分野を確立したそのパワーの源と言えるでしょう。

歴史的にフーリエ変換ICR質量分析は電子によるフラグメンテーション技術やエレクトロスプレーイオン化法、トップダウン分析、HDXなどといった今日普通に使われている多くの手法の開発初期に利用されてきた”事象の地平線”的なプラットフォームとして捉えられてきました。ライフサイエンスのために開発されたこれらの手法の多くはFTMSを使って開発、または改善されています。この伝統は今日においても引き継がれており、MALDIイメージングやその他の進歩的、あるいは革新的な技術がFTMSの装置に組み込まれています。FTMSはこうした革新的技術を実現するのに必要な極めて高いスペックをもつ装置であり、今では他の質量分析法に譲るような手法であっても初期の段階でそれらを開発して洗練するのに必要な高い性能を唯一持つ質量分析計であるとも言えます。

この講演では様々なアプリケーション分野において超高性能な装置が組成式や分子同定を行うにあたり高い信頼性を得るためにいかに重要であるかについて検証したいと思います。特に高分解能(250,000FWHM以上)質量分析の多様なワークフローへの応用例をご紹介します。いかなる場合にも同位体ピークの中には隠された化学的情報が標的分子の元素組成を一義に決めるための痕跡として埋め込まれています。整数質量の同位体分布の幾何学的なパターンを解析する方法論が質量数による元素組成解析に代わって流行ですが、この方法では想定外の元素が含まれている可能性や、あるいはピーク群に二つ以上の分子が含まれている可能性を排除できません。個々の元素がそれぞれの同位体ピークに対応するかを決定することが複雑なマススペクトルから疑う余地のない元素組成決定が可能となる唯一の方法です。



Challenges in Metabolomics and metabolism studies addressed by UHR-TOF-MS technology combined with unique software capabilities

Aiko Barsch Ph.D.,
Bruker Daltonics, Bremen, Germany

An MS system's performance in terms of mass accuracy, resolution, dynamic range, sensitivity and MS/MS performance are often pushed to their limits with complex samples originating from Metabolomics or drug Metabolism studies. The micrOTOF and maXis instrument series provide an unparalleled combination of the necessary MS performance features required to analyze these highly complex samples. When utilized in conjunction with tailored software solutions, this potent combination perfectly addresses the needs in Metabolomics and MetaboliteID for accurate and comprehensive small molecule analysis.

One crucial advantage of ultra high resolution UHR-TOF technology is the speed of analysis by coupling U-HPLC systems without compromising on the performance in terms of mass accuracy or resolution even at high acquisition rates. Overall, the sample throughput is increased addressing the need for handling of large sample numbers.

Presently, identification of unknown metabolites is often defined as the major bottleneck in Metabolomics and likewise represents a daily challenge in drug metabolism studies. With increasing molecular mass of a compound, the number of possible molecular formulae increases exponentially. Even a mass accuracy of 0.1 ppm is not sufficient for an unambiguous formula identification for m/z values above 500. The unique SmartFormula 3D software tool extends formula generation to higher m/z values by combining mass accuracy, isotopic pattern, adduct and neutral loss information from MS and MS/MS data. An interactive link between SmartFormula 3D results, mass spectra and molecular structures is provided by the Fragment Explorer. This integrated tool is based on well-known ChemDraw™ technology for chemical structures, and has been especially designed for faster interpretation of MS/MS data.

Several examples will be presented which highlight the different aspects and benefits of applying UHR-MS technology for metabolomics and metabolism studies.

(訳)

UHR-TOF-MSテクノロジーとユニークなソフトウェアによるメタボロミクスと代謝研究における挑戦

Aiko Barsch Ph.D.,
Bruker Daltonics, Bremen, Germany

メタボロミクスあるいは医薬品代謝物研究において、扱うサンプルが複雑であるために質量分析計はその質量精度、分解能、ダイナミックレンジ、感度あるいはMS/MS性能といった装置性能を限界まで発揮することを求められることがあります。micrOTOFやmaXisの各シリーズはこれらの極めて複雑なサンプルを分析するために必要な装置性能を他にはない組合せでご提供しています。それらを専用のソフトウェアと共に利用することで、この強力な組み合わせはメタボロミクスと代謝物同定における低分子の正確かつ包括的な解析を行うことを可能にします。

超高分解能UHR-TOFテクノロジーの決定的な利点はU-HPLCシステムと組み合わせた場合の分析スピードであり、高速スキャンであっても質量精度や分解能においてその性能が劣ることはありません。その結果サンプルループトが高く、多数のサンプルを取り扱うことができます。

現在、メタボロミクスにおいて未知代謝物の同定は主たるボトルネックとなっていることがしばしばあり、医薬品代謝物研究においても同様に日々挑戦されています。化合物の分子量が大きくなればなるほど候補となる組成式の数是指数的に多くなります。 m/z 500を超えると確実に組成式を同定するためには質量精度が0.1ppmでも十分とは言えません。SmartFormula 3Dは質量精度と同位体パターン、MSとMS/MSデータから得られるアダクトとニュートラルロス情報等を組み合わせより分子量の大きな化合物に対しても組成式の推定を可能にするユニークなソフトウェアツールです。SmartFormula 3Dから得られる結果、マススペクトル、分子構造はFragment Explorerによって相互に関連づけられます。この統合ツールは化学構造式作成で良く知られるChemDraw™テクノロジーに基いたものであり、特にMS/MSデータをより速く解析できるようにデザインされています。

メタボロミクスと代謝物研究において異なる見地と利点に焦点を当てUHR-MS技術を適用した例をいくつか紹介します。

Hyphenation of NMR, MS and Chromatography.
Manfred Spraul Ph.D.,
Bruker Biospin, Inc. Germany

NMR over the last years has strongly moved into mixture analysis, this can be either directly by looking into biofluids, food materials or extracts of any kind. Such NMR has developed into one of the main 2 technologies for metabolomics analysis, the other being mass spectrometry.

The strength of NMR is its unmatched reproducibility and transferability and its high dynamic range under full quantification. On the other hand MS has very high sensitivity and advantages when looking into large molecules in mixtures. Therefore the 2 technologies integrated for direct mixture analysis produce a lot of synergy. Therefore an integrated system has been developed, called the Metabolic Profiler, this system also contains a liquid handler for sample preparation and transfer. The system allows to measure NMR and LC-MS (preferably ultrahigh pressure LC) in a synchronized mode, this guarantees high quality results on integrated statistics like the heterostatistical correlation spectroscopy. Examples are given for biofluid and food analysis.

Another integrated system, which can be built up by expanding the Metabolic Profiler is the LC-SPE-NMR/MS system. In this case the task is to isolate compounds from a mixture to do structure confirmation or elucidation using NMR and MS. The system contains an LC-NMR interface, preferably a post column solid phase extraction unit. The system operates in such a way, that the MS (or MS + UV) information is used to decide on which peaks are interesting for post-column trapping and subsequent NMR analysis. With this technology NMR sensitivity can be boosted substantially, especially when transferring the trapped content into a small volume cryogenic probe. In addition multiple trapping allows to further enhance the NMR sensitivity. All this is possible under full automation. The system is introduced and examples are given.

(訳)

NMR, MS, クロマトグラフィーのハイフネーション
Manfred Spraul Ph.D.,
Bruker Biospin, Inc. Germany

近年混合物分析にNMRが用いられる機会が極めて多くなっており、生体試料や食品成分、その他あらゆる種類の試料からの抽出物を直接測定するといったことがまさにこれにあたります。メタボロミクス解析のために開発されてきた主要な2つの技術のうちの1つがNMRであり、もう1つが質量分析になります。

NMRの強みはその無類の再現性と転写性、そして定量分析におけるダイナミックレンジです。一方ではMSは極めて感度が高く、また高分子混合物を測定する際に有利です。従って2つのテクノロジーを混合物の直接分析に利用した場合、大いに相乗効果が生れます。このような理由から我々は統合システムを開発しMetabolic Profilerと名付けましたが、それは試料調製と送液のためのリキッドハンドラーも備えています。このシステムはNMRとLC-MS (願わくば超高压LC)をシンクロモードで測定することができ、これによって統合統計なヘテロスタティカル相関スペクトロスコピーが可能になります。生体試料と食品試料を例に説明致します。

Metabolic Profilerの機能を拡張させるもうひとつの統合システムとしてLC-NMR-MSがあります。この場合のタスクは、NMRまたはMSを用いて、構造確認もしくは構造解析を行うために、混合物から化合物を分離することにあります。このシステムはLC-NMRインターフェースと、ポストカラム方式の固相抽出ユニットを備えています。この場合、どのピークをポストカラムにトラップし、その後NMR解析を行うかを決定するのに、MSもしくはMS+UVの情報が使われます。このテクノロジーによりNMR感度は大幅に向上します。特にトラップされた成分が微量試料用クライオジェニックプローブで測定されるとより顕著です。さらにマルチトラッピングを行うことでなおよ一層のNMRの感度向上が見込めます。これらの操作はすべてフルオートメーションで行えます。このシステムの紹介と実例を紹介します。



TOP-DOWN PROTEOMICS, A MULTI-PLATFORM PRIMER

Michael L. Easterling Ph.D.
Bruker Daltonics, Inc. Billerica, MA

Although the idea of “top-down” processing intact proteins has been around for a some time, only recently have software and hardware advances allowed this thesis to be pursued as a viable workflow. While there are many differing opinions about the most efficient way to gather information from top-down protein work, the most conventional misconception is that it requires the use of high performance instrumentation. Indeed, almost any kind of mass spectrometer capable of interfacing either MALDI or ESI can be used to generate data from intact proteins.

The challenge for the modern mass spectrometrist is to determine what kind of “hammer” to apply to the problem at hand. “Lower end” analyzers such as ion traps that offer lower resolving power and mass accuracy have been given new life by recent advances in the combination of advanced ion fragmentation techniques such as electron transfer dissociation (ETD) and increased analytical performance, and are unquestionably capable of performing top-down quality control (QC) roles.

Time-of-flight instrumentation coupled with electrospray ionization (ESI) has recently seen architectural improvements that allow resolving powers in excess of 50,000 allowing charge state and, ergo, mass determination of larger proteins even under fast chromatographic conditions. MALDI-TOF has seen recent methodological advances that allow protein terminal sequencing that rivals standard Edmond sequencing techniques in terms of sequence coverage.

Finally, the MS arsenal is completed with Fourier Transform (FTMS) based instruments which remain the most flexible and evaluative form of analyzer for the top-down protein chemists. This discussion will focus on how each of these platforms play an integral role in advancing top-down strategies and how each can be used in an integrated whole protein strategy to complement bottom-up workflows.

(訳)

トップダウンプロテオミクス、マルチプラットフォームの手引き

Michael L. Easterling Ph.D.
Bruker Daltonics, Inc. Billerica, MA

インタクトプロテインのトップダウン分析というアイデアはこれまでも幾度となく論じられてきましたが、ソフトウェアとハードウェアの発展によりようやく近年になってから実用的なワークフローとして再度議論されるようになってきました。トップダウン分析から必要な情報を最も効率的に集める方法については多くの異なる意見が存在しますが、典型的な誤解はトップダウン分析には高性能の装置が必要ということです。いかにも説得力がありそうですが、実際MALDIあるいはESIイオン化法を備えていればほぼすべての質量分析計でインタクトプロテインからデータを得ることができます。

現代の質量分析学者にとってのチャレンジは、今ある問題に対しどの「ハンマー」を使うかを決める、ということでもあります。低分解能で質量精度も悪いイオントラップのような「もっとも低性能」の分析計においても、近年のETD(電子移動解離)のような新たなフラグメンテーション技術との組み合わせにより、新たな命を吹き込まれています。そしてこの装置には間違いなくトップダウンQCを行うだけの能力があります。

ESI-TOFの装置には近年構造的な改良が加えられ、50,000を超える高い分解能により価数を決めることができるようになり、そのおかげで高レートの液体クロマトフィー条件においてもより大きなタンパク質の質量を決定できるようになっています。MALDI-TOFでは新たな方法が登場してタンパク質末端のシークエンシングが可能となり、シークエンスカバー率という点においてエドマン分解法によるシークエンスに匹敵するものとなっています。

さらに、質量分析には最終兵器フーリエ変換型の装置FTMSがあります。FTMSはもっともフレキシブルな装置であり、タンパク質のトップダウン分析学者に評価されています。ここでは最新のトップダウン分析戦略においてこうしたプラットフォームの装置がどのように重要な役割を担うのか、タンパク質分析戦略においてそれぞれの装置がどのようにボトムアップ分析の限界を補うのか、という点に焦点を当てて議論します。



抗体医薬プロテオミクス ～ProteinScape3.0 – GlycoQuest～

岩崎了教
ブルカー・ダルトニクス株式会社

抗体医薬品のようなタンパク質医薬品の開発では、低分子医薬品とは異なり、構造決定に多くの時間を必要とします。現在医薬品として販売されている抗体医薬品の大半はIgG型が多いですが、1本鎖抗体、2価抗体、PEG価抗体、断片Fab、IgM抗体など多様な構造の抗体の開発も進められています。一般的なIgG型では、定常領域(Fc領域)と可変領域(Fab領域)に分かれています。その中でもFab領域の先端は多様な抗原と結合するためにアミノ酸配列が極めて多様であり、配列の決定を正確に行わなければいけません。また、Fc部には通常、糖鎖が結合しているため糖鎖の構造およびその結合部位の決定も正確に行わなければいけません。さらに、高次構造に関与するS-S結合の解析も行う必要があります。

今回我々は質量分析を駆使した抗体医薬プロテオミクスを支援するパイオインフォマティクスソフトウェアProteinScape3.0をご提案致します。従来のプロテオーム解析に対応したインターフェースに加え糖鎖解析モジュールを追加しました。

糖鎖解析モジュールGlycoQuestは弊社独自のアルゴリズムを搭載した糖鎖データベースサーチエンジンです。また、データベースはインターネット上に存在しているデータベースをすべて集約したGlycomeDBを使用しています。LC-MS/MSおよびLC-MALDIのデータセットからN型およびO型糖鎖の存在をサーチし、その後糖鎖部分をデータベースサーチを行い構造情報を取得します。さらにペプチド部分は、MASCOTサーチを同時に行うことによってタンパク質の同定およびラベルフリーあるいはSILC(安定同位体標識)試薬を用いた定量を行います。最終的に得られた糖鎖情報とペプチドの配列情報をProteinScapeで包括的に解析することが可能となります。

LC-MS/MSおよびLC-MALDI-TOF/TOFのデータを使用した実践の解析例を紹介します。

申込方法

●インターネットによるお申し込み

右記のURLよりお申込下さい。 <http://portr.in/daltonics/seminar/>

●FAX、e-mailによるお申し込み

以下の必要事項をご記入の上、下記受付までFAXまたはe-mailにてお申込下さい。

- ①ご希望の会場 ②お名前、フリガナ ③勤務先(会社名、部署名) ④ご住所(郵便番号)
⑤TEL/FAX番号 ⑥e-mailアドレス ⑦その他、ご意見ご質問等ございましたらご連絡下さい。

<お問い合わせ 受付>

ブルカー・ダルトニクス株式会社 担当:岡村真弓

TEL: 045-440-0471, FAX: 045-453-1827, Email: bdal.yokohama@bruker-daltonics.jp

会場のご案内

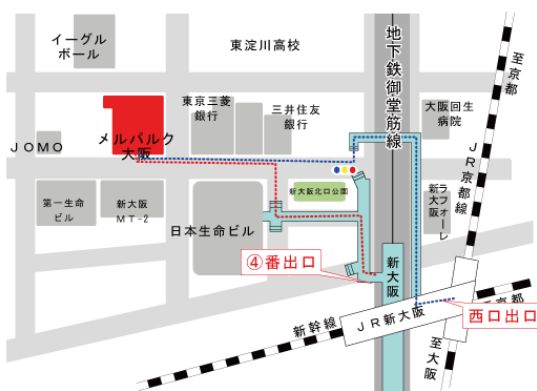
●東京会場: コクヨホール(品川)

東京都港区港南1-8-35

TEL: 03-3450-3712

<http://www.kokuyo.co.jp/showroom/hall/>

JR品川駅港南口(東口)から徒歩5分



《青点線》

新幹線中央出口又はJR線東改札口を出て右へ300m直進し、西口を右折します。歩道橋を点線に沿ってお越し下さい。(徒歩約8分)

《赤点線》

地下鉄ホームのA又はB階段を降り、4番出口より点線に沿ってお越し下さい。(徒歩約5分)

●大阪会場 メルパルクOSAKA

大阪府大阪市淀川区宮原4-2-1

TEL: 06-6350-2111

<http://www.mielparque.jp/osk/osk01.html>

JR新大阪駅徒歩8分

地下鉄御堂筋線新大阪駅下車徒歩5分

JR大阪駅からタクシー約10分

大阪国際空港からタクシー約20分

大阪南港からタクシー約30分

関西国際空港からJR特急約45分

または、タクシー約60分