[APPLICATION NOTE]

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

UNIFI の化学的解析機能：代謝物同定試験において信頼性が高く正確な結果を得るための in silico 解析機能

Stephen McDonald and Mark D. Wrona
Waters Corporation, Milford, MA, USA

アプリケーションの利点

MassLynx™ ソフトウェアの中で化学的解析の先駆けである MetaboLynx™ アプリケーションマネージャを基にして新しく開発されたソフトウェアツールは、ワークフローの中で擬陽性を著しく排除し、自動解析された結果の確信を得るためのさらに優れた代謝物同定の解析処理が可能です。

ウォーターズのソリューション

UNIFI™ 代謝物同定アプリケーションソリューション

キーワード

ネファゾドン、脱アルキル、マスディフェクトフィルター、元素組成、代謝物同定、化学的解析機能、MDF、Dotmatics

はじめに

これまで代謝物同定の解析処理をサポートする優れたシミュレーションツールを用いる利点について議論を行ってきました。[1] 強い科学的パートナーシップを通して作られた、これら革新的なソフトウェアアプリケーションは、素晴らしいワークフローソフトウェアの開発や商業展開を促進してきました。また、これらのパートナーシップにより、研究者の方々にスループットの高さを実感して頂いています。[2-4] ウォーターズは、この次世代のソリューションを用いて、核となる技術を基にして創薬の過程を後押しし続けます。

我々は、今どこへ向かおうとしているのか、これが皆さんへの次の質問です。

UNIFI 科学情報システムでは、与えられたツールをユーザーが定義したワークフローにシームレスに統合します。ソフトウェアの制限によって、あらかじめ定められた結果の出力をするのではなく、周辺ツールによって望んだ形態へと設定することができるようになりました。非常に迅速に結果を作成するだけでなく、代謝物同定研究の結果がさらに信頼と統制の取れたものとなります。

構造分析からバッチ処理

常に複数の薬物の研究に取り組む必要がある状態においては、特定の分析条件の決定、解析条件の設定やレポート方法といった仕事が進捗を阻害します。UNIFI ソフトウェアでは、全ての化合物を、一つのシンプルな分析リストにまとめることができます。ジェネリックなデータ取得と自動化された構造解析処理方法を使用して、ユーザーが特別な操作をすることなく全てのサンプルをリスト化、測定、解析処理されレポートが作成されます。この全てが裏側で起こっているため、薬物代謝研究は分析によって妨害されることがありません。

官能基の認識

分子を完全に理解するためには、その構造を理解する必要があります。ソフトウェアのアルゴリズムは、リスト化されたそれぞれの分子を調べ、官能基を認識すること (FGR) で、代謝物候補をはっきりと特徴づけます。正確な標準代謝様式をマニュアルで選択したり、2 次代謝物候補をマッピングするといった労力が不要になります。すなわちソフトウェアが計算を行うので、実際の薬物での代謝様式を用いて同定するだけでよいのです。一例を、図 1 に示します。FGR によって、解析結果が化学的に妥当性があるという確信を持つことができ、間違って報告された代謝推移を再帰属するということに時間を費やす必要がありません。

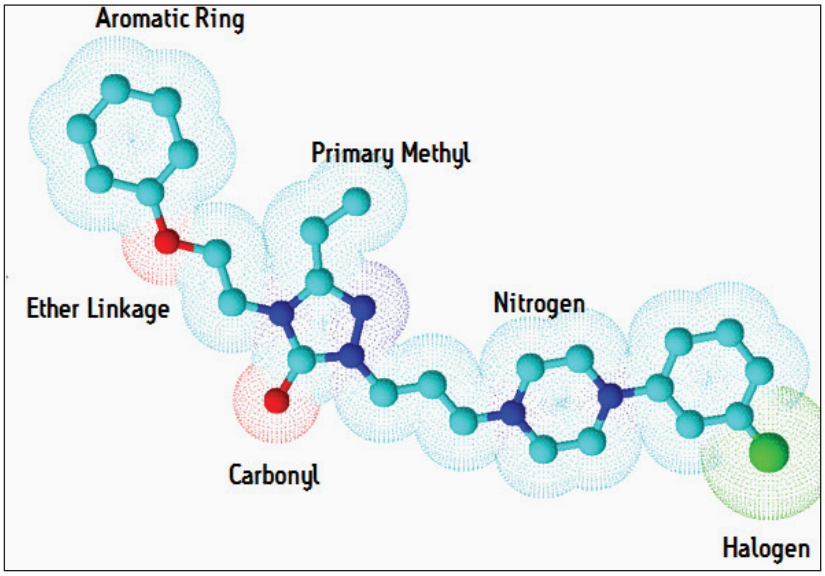

図 1. 官能基の認識例

予測エンジン

分子構造を理解することは、分子の代謝過程を決定し特徴づける第一歩でしかありません。この先の段階として、酵素的な開裂か衝突誘起解離かによって分子の結合開裂について考えることを必要とする場合、Hill 等 [5-6] によって発表された原理を基にして作られた Dotmatics の PrISE アルゴリズムが有用です。

図 2 および 3 に示すように、代謝物の同定も、新しいクラスターマスディフェクトと優れた組成演算ツールを駆使する事の両方をダイレクトに支援し、分子が生体内で代謝される様式をコンピューター上で予測します。同定の質や分子の代謝位置の推定において、より高い信頼を得ることができるようにデザインされたソフトウェアです。

未変化体と代謝物の両方に対して定義された構造を用いて自動的にフラグメントスペクトルの帰属を行う特性解析の目的は、同定が正しいという確信を得られることにあります。

図 4 に示すように、次の段階では、どこで代謝反応が起きているのかを決めるのにも UNIFI ソフトウェアが使用され、意思決定に必要な情報にすぐにアクセスできるようになっています。

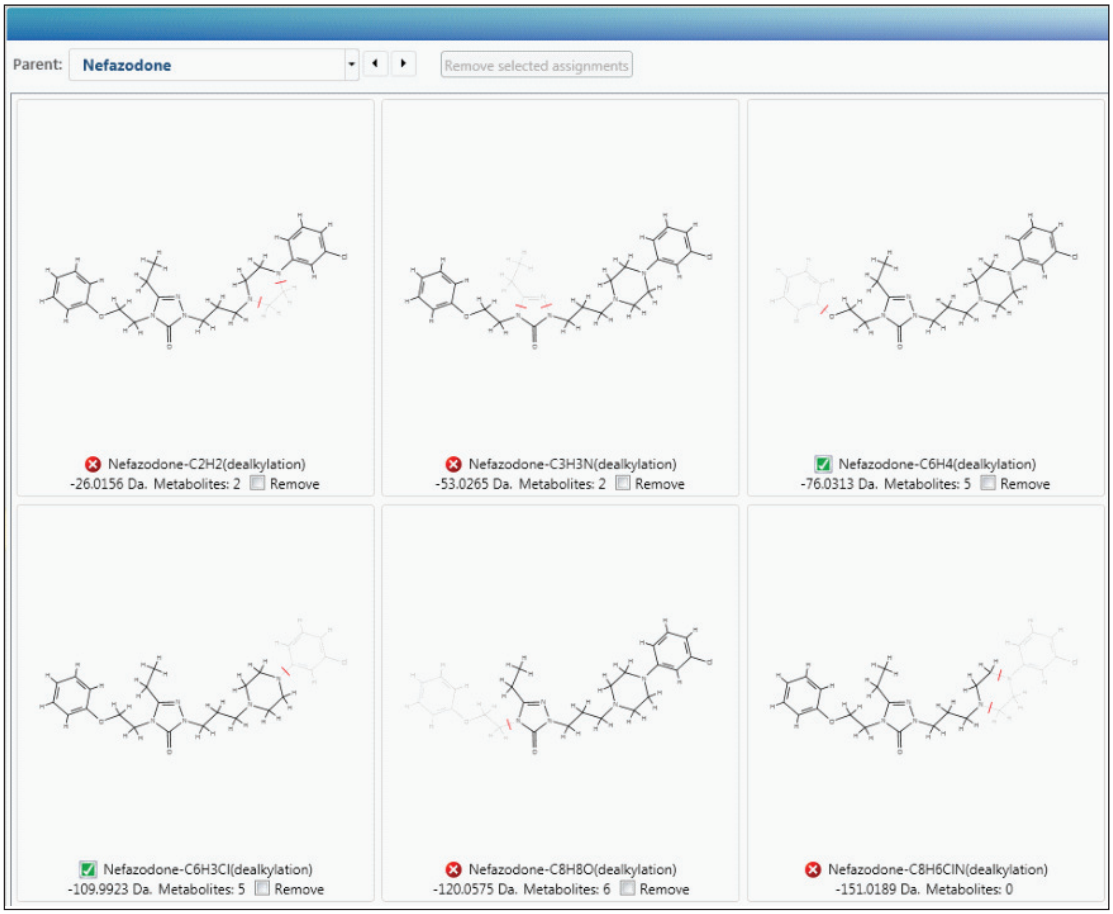

図 2. 酵素による開裂予測

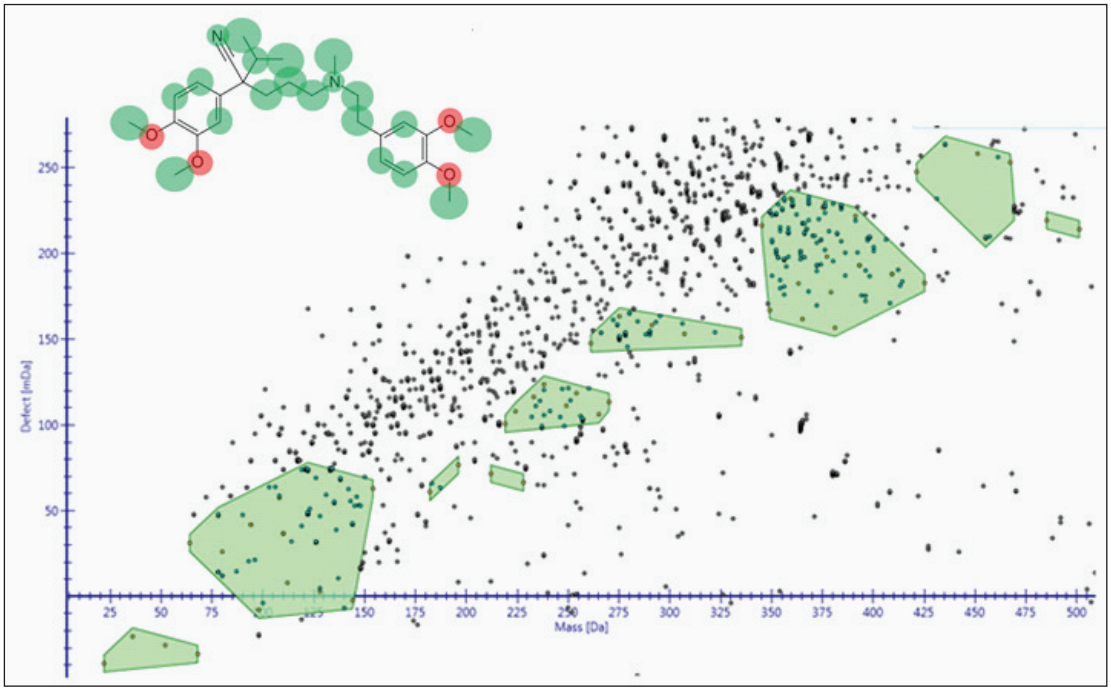

図 3. 結果に戻る際に、部分構造を基にした MDF が、特異性を改善するため対象物のより固有のマスディフェクトを考慮

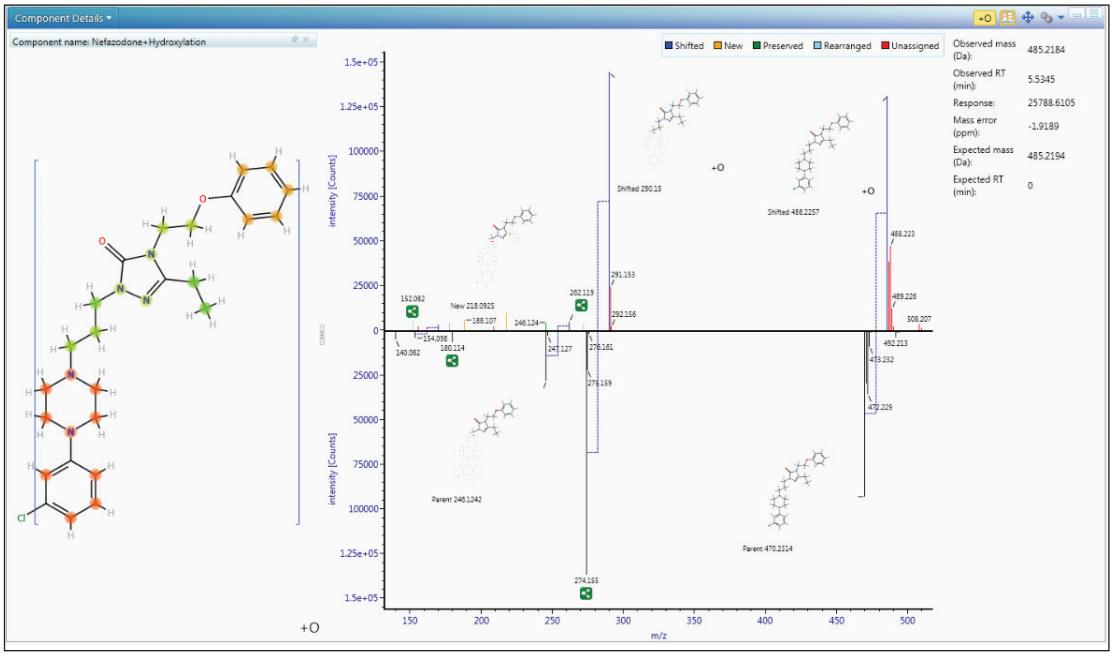

図 4. 汎用性のある MS^E データ測定を使用し、未変化体と代謝物の両方で得られたプロダクトイオンスペクトルの比較による代謝部位の自動推定

代謝の証拠

データが利用し難く分かりづらい表示であれば、述べてきた解析処理は有用とは言えません。UNIFI ソフトウェアの構造特性に関連した薬物の解析結果画面は、一画面中で、全ての情報を簡単に一覧でき、成分が代謝物であるという決定の根拠となる指標を示します。この画面は、主用な代謝物の迅速な同定だけでなく、共通のフラグメント、ニュートラルロスを確認すること、ひいては代謝推移のより明確な表示を加えることで代謝物の複雑な相関を推測するのにも使用することができます。

	Component name	m/z (Da)	Mass error (Da)	Observed RT...	Passed Neutral Loss...	Passed Mass Defect...	Passed Halogen Match...	Passed Fragment Search...	Identified High Energy Fragments	Detector counts
1	Nefazodone+Hydroxylation+Deethylation	458.1956	0.0003	3.79	☑	☐	☑	☐	42	191521
2	Nefazodone	470.2319	0.0002	5.99	☑	☑	☑	☑	12	42598
3	Nefazodone-C6H3Cl(dealkylation)	360.2396	0.0002	3.37	☑	☑	☐	☑	11	26509
4	Nefazodone-C10H11ClN2(dealkylation)+Hydroxylation	292.1653	-0.0003	3.64	☑	☑	☐	☑	9	18477
5	Nefazodone-C6H3Cl(dealkylation)+Hydroxylation	376.2346	0.0003	2.89	☑	☑	☐	☐	9	10612
6	Nefazodone-C6H4O(dealkylation)+2x(Hydroxylation)	410.1951	-0.0003	3.95	☑	☑	☑	☐	7	4834
7	Nefazodone-C15H19N3O2(dealkylation)+Hydroxylati...	211.0632	0.0000	3.13	☐	☑	☑	☐	6	3489

図 5. 構造特性に関連した薬物解析結果画面：代謝物候補と未変化体との化学構造の類似性を示しています。構造の特性解析は、成分が薬物に関連する構造を含むかを推測するのに役立ちます：代謝物候補と未変化体の両方のフラグメントスペクトルにおいて確認される共通のニュートラルロスやフラグメントイオン、マスディフェクトフィルターや同位体パターンの一致と精密質量による成分の整合性

結論

現在、取得しているデータは、情報量に富んでいます。成功への鍵は、この豊富な内容を充分に活用するためにLC/MS分析とシームレスに連動するツールの開発にあります。ウォーターズの強みは、非常に深いレベルでLC/MSデータを理解している所にあります。このことは、データから最も小さな関連部位でさえも引き出すことを可能にし、さらに重要なのは、完全であるという確信のある結果を提供することが可能だということです。創薬および開発過程において、前向きに意思決定するために得られた結果を使うことで、ご自分の本来の業務に集中することができます。

参考文献

1. Chemical Intelligence Waters Applications Note, Lit no. 720003943en
2. Russell J. Mortishire-Smith, Desmond O'Connor, Jose M. Castro-Perez, Jane Kirby; Accelerated throughput metabolic route screening in early drug discovery using high-resolution liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry and automated data analysis; Rapid Communications in Mass Spectrometry 2005; 18: 2659–2670.
3. Mark Wrona, Timo Mauriala,Kevin P. Bateman,Russell J. Mortishire-Smith, Desmond O'Connor; 'All-in-One' analysis for metabolite identification using liquid chromatography/hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry with collision energy switching; Rapid Communications in Mass Spectrometry 2005; 18: 2597–2602.
4. Philip R. Tiller1,Sean Yu,Jose Castro-Perez,Kerry L. Fillgrove, Thomas A. Baillie ; High-throughput, accurate mass liquid chromatography/tandem mass spectrometry on a quadrupole time-of-flight system as a 'first-line' approach for metabolite identification studies; Rapid Communications in Mass Spectrometry Volume 22, Issue 7, pages 1053–1061, 15 April 2008.
5. Alastair W. Hill, Russell J. Mortishire-Smith; Automated assignment of high-resolution collisionally activated dissociation mass spectra using a systematic bond disconnection approach; Rapid Communications in Mass Spectrometry 2005; 21: 3111–3118.
6. Laurent Leclercq, Russell J. Mortishire-Smith, Maarten Huisman, Filip Cuyckens, Michael J. Hartshorn, Alastair Hill; IsoScore: automated localization of biotransformations by mass spectrometry using product ion scoring of virtual regioisomers; Rapid Communications in Mass Spectrometry 2009; 1: 39–50.

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 札幌

Waters は Waters Corporation の登録商標です。
MassLynx、MetaboLynx、UNIFI および The Science of What's possibleはWaters Corporation の商標です。
その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2012 Waters Corporation. Produced in Japan. 2012年 08月 720004321 JA PDF