The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	液体クロマトグラフィー質量分析法を用いたノンターゲットメタボロミクスに資する化合物推定方法の開発
Author(s)	小倉, 泰郎
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/54002
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　小倉　泰郎　　）	
論文題名	液体クロマトグラフィー質量分析法を用いたノンターゲットメタボロミクスに資する化合物推定方法の開発

論文内容の要旨

本論文ではプロダクトイオンスペクトルの解析に基づく化合物推定方法の開発と，化合物データベースに掲載されていない化合物を対象とした化合物推定方法の開発についてまとめたものである．

第1章では，研究の背景と目的を示した．LC/MSを用いたノンターゲットに特有の化合物推定に関する困難さについて述べた．これを踏まえ，衝突誘導解離と高分解能質量分析により得られるマススペクトルに対して，化合物データベースを用いた化合物推定方法の開発を本研究の目的とした．

第2章では，候補化合物の合理性評価方法に関する検討結果を述べた．本研究では新たな候補化合物の評価方法と自動帰属方法を含む化合物推定方法を開発した．組成式の妥当性を示す新たな評価方法と市販ソフトウェアであるACD/MS managerとの組み合わせによる手法を開発し，緑茶の品質に寄与する20成分を対象とした化合物推定を実施した．さらに，負イオンを対象とした帰属率を向上させることを目的として網羅的な部分構造の探索による新たな帰属方法を開発した．また網羅的な自動帰属に適した評価方法として，開裂した結合を評価するスコアリングについて検討を行った．これらをまとめて新たな帰属ソフトウェアを開発し，ChemProphetと名付けた．ChemProphetを用いてベンチマークデータセットの化合物推定を行ったところ，既報の方法よりも良好な化合物推定結果を得ることができた．

第3章では，化合物データベースに含まれていない化合物の推定を目的としたシステム構築について述べた．尿中代謝物として重要なグルクロン酸および硫酸抱合体は化合物データベースに含まれていない代表的な化合物であるため，本研究ではこれらに注目し検討を行った．抱合体の化合物推定方法を開発する上で，CIDによって各抱合体に特有の脱抱合反応が起こることに着目した．さらにCIDによって脱抱合体の部分構造情報を得ることにより脱抱合体を推定した．さらにコンピューターによる計算によって抱合体構造を推定し，これらを候補として化合物推定を行うことで最終的に抱合体の化合物推定を行うことができた．これらの機能を実装し，グルクロン酸および硫酸抱合体の化合物推定が可能なシステムを構築した．モデル実験として抱合体の標準試料および緑茶投与マウスの尿中抱合体の分析を行い，開発したシステムの妥当性を確認することができた．

第4章では本研究で得られた成果と意義についてまとめ，今後の展望について記載した．

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　小倉　泰郎　）	
論文審査担当者	（職）　氏　名 主 査　教授　福崎　英一郎 副 査　教授　藤山　和仁 副 査　教授　村中　俊哉 副 査　教授　紀ノ岡　正博 副 査　教授　福井　希一 副 査　教授　渡邉　肇 副 査　教授　仁平　卓也

論文審査の結果の要旨

液体クロマトグラフィー質量分析を用いたノンターゲットメタボロミクスにおいて，化合物推定は大きな課題となっている。本論文では，プロダクトイオンスペクトルの解析に基づく化合物推定方法の開発と，化合物データベースに掲載されていない化合物を対象とした化合物推定方法の開発について述べている。

第１章では本研究の背景として，液体クロマトグラフィー質量分析を用いたノンターゲットメタボロミクスの意義，そのプロセスとして化合物を推定することの重要性，および既存の化合物推定方法や液体クロマトグラフィー質量分析に特有の課題について述べている。

第２章では，化合物データベースを用いた化合物推定方法について述べている。化合物推定方法は 3 つのステップ（候補化合物の取得，プロダクトイオンスペクトルの自動帰属，合理性を評価するためのスコアリング）に基づいており，自動帰属の方法やスコアリング方法について新規に開発した手法を用いている。また，緑茶抽出液に含まれる化合物推定を行った結果について報告している。品評会にてランク付けされた緑茶を LC/MS 法により測定し，ランクと相関の高い 20 成分の化合物推定を行ったところ，カフェインやカテキン類のほか有機酸エステルなどの候補化合物を示している。また，既報との比較を目的としたベンチマークデータセットを用いた化合物推定を実施し，既存の方法よりも良好な化合物推定結果を示している。これらの結果は，新たに開発した化合物データベースを用いた化合物推定方法の妥当性を示している。

第３章では，データベースに含まれていない化合物の推定方法について述べている。 膨大な情報を収載するデータベースであっても，予測される全ての化合物を網羅するには至っていない。そこで，尿中の代謝物として重要なグルクロン酸および硫酸抱合体を対象とした新たな化合物推定方法を提案している。この方法は質量分析計における衝突誘起解離(CID)によって各抱合体に特有の脱抱合反応が起こることに着目し，脱抱合反応と脱抱合体の化合物推定結果に基づいて抱合体構造を推定するものである。市販されている抱合体の標準試料および緑茶投与マウスの尿中抱合体を対象とした化合物推定を行い，既知の構造式やこれまでの報告と矛盾の無い結果を得ている。質量分析結果と化合物データベースを用いてこれらの化合物を推定した報告はなく，本研究で開発した手法の有用性を示している。

第４章では，本論文でなされた研究成果とその意義についてまとめており，その他の代謝物などを対象とした化合物推定への応用の可能性について述べている。

以上のように、本論文は液体クロマトグラフィー質量分析を用いたノンターゲットメタボロミクスの課題である化合物推定の新たな方法について提案を行い，標準試料を用いた妥当性の確認やモデル試料を用いた化合物推定の実例を示している。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。