

**第 74 回**  
**日本電気泳動学会シンポジウム**

~次世代オミックス研究を切り拓く  
最先端質量分析技術~

**要旨集**

## プログラム

- 13:00 ~ 13:05 **開会の挨拶**
- 13:05 ~ 13:35 **イメージング質量分析から得られる  
空間オミクスデータの多次元解析**  
華表 友暁 先生 (浜松医科大学 光医学総合研究所)
- 13:35 ~ 14:05 **ナノ LC/MS を基盤とした  
シングルセル定量マルチオミクス解析**  
和泉 自泰 先生 (九州大学 生体防御医学研究所)
- 14:05 ~ 14:35 **次世代プロテオームシーケンサーへの挑戦**  
金尾 英佑 先生 (京都大学 大学院薬学研究科)
- 14:35 ~ 15:05 **1 細胞質量分析による細胞内オルガネラ代謝物解析**  
水野 初 先生 (名城大学 薬学部)
- (休憩時間)
- 15:15 ~ 15:40 **新規イオン解離技術 (OAD) を用いた  
生体分子の高精度質量分析法**  
高橋 秀典 先生 (島津製作所 分析計測事業部)
- 15:40 ~ 16:05 **進化を続ける革新的データ非依存型取得：  
ZT Scan DIA による定量プロテオミクス**  
柴田 猛 先生 (AB Sciex, Application Support)
- 16:05 ~ 16:30 **超高感度トラップド・イオンモビリティが切り開く  
オミクス解析：  
シングルセルからイムノペプチドミクスまで**  
荒井 大河 先生 (Bruker Japan, Daltonics 事業部)
- 16:30 ~ 16:35 **閉会の挨拶**

## イメージング質量分析から得られる空間オミクスデータの多次元解析 Multidimensional Analysis of Spatial Omics Data Obtained from Imaging Mass Spectrometry

○華表 友暁<sup>1,2)</sup>、許 荔荔<sup>1)</sup>、瀬藤 光利<sup>1,3)</sup>

- 1) 浜松医科大学 医学部 細胞分子解剖学講座
- 2) 浜松医科大学 光医学総合研究所 国際マスイメージングセンター/光量子技術開発部門  
量子イメージング研究分野
- 3) 浜松医科大学 光医学総合研究所 国際マスイメージングセンター/光トランスレーショナ  
ルリサーチ部門 マスイメージング研究分野

### 要旨

空間オミクスであるイメージング質量分析 (MSI) は、試料表面上を質量分析で 2 次元スキャンし、空間情報と質量情報の同時計測が可能な技術である。我々は瀬藤光利センター長のもと、国際マスイメージングセンターを拠点として MSI の共用支援、ならびに医学への応用研究・開発に携わってきた。MSI では数千から数万もの計測点 (ピクセル) でマスペクトルデータを取得することからデータ量は膨大なものとなる。この MSI のビッグデータを活かしたイメージング解析手法を開発することで、組織染色や免疫染色などの従来の組織形態学的手法では観察できない生体構造を抽出し、治療標的領域の同定や治療効果の評価といった医学応用へ展開していく研究構想を持っている。

本講演では、情報エントロピーの概念をマスペクトルデータ解析に取り入れ抽出した特徴量、ならびに空間情報に対する粗視化により抽出した特徴量、深層学習により抽出した特徴量、について多次元的にイメージング解析を行なった成果について紹介したい。また、生成 AI 技術を用いたマスペクトル情報を保持した状態での MSI の高解像度化についても報告する。空間オミクスによって個別の分子がイメージング可能なだけでなく、オミクスデータが持つ特徴的な情報もイメージング可能なことを広く知っていただける機会になれば幸いである。

なお、本研究に関して開示すべき利益相反状態は無い。

1. Yamada H, Xu L, Eto F, Takeichi R, Islam A, Mamun MA, Zhang C, Yao I, Sakamoto T, Aramaki S, Kikushima K, Sato T, Takahashi Y, Machida M, Kahyo T, Setou M. Changes of Mass Spectra Patterns on a Brain Tissue Section Revealed by Deep Learning with Imaging Mass Spectrometry Data. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2022 Sep 7;33(9):1607-1614.
2. Xu L, Kikushima K, Sato S, Islam A, Sato T, Aramaki S, Zhang C, Sakamoto T, Eto F, Takahashi Y, Yao I, Machida M, Kahyo T, Setou M. Spatial distribution of the Shannon entropy for mass spectrometry imaging. *PLoS One.* 2023 Apr 6;18(4):e0283966.
3. Xu L, Zhang C, Oyama S, Machida M, Kahyo T, Setou M. Coarse-graining of perplexity for the spatial distribution of molecules. *Phys Rev E.* 2024 Jan;109(1-1):014402.

**Keywords :** Mass Spectrometry Imaging, Spatial Omics, Information entropy, Deep Learning, Generative AI

## ナノ LC/MS を基盤としたシングルセル定量マルチオミクス解析 Single-cell quantitative multi-omics analysis based on nano LC/MS

○和泉自泰<sup>1)</sup>

1) 九州大学生体防御医学研究所

近年の 1 細胞 RNA シーケンス技術の発展に伴い、1 細胞トランスクリプトームデータが実用的に取得可能となった。そして、得られたデータから、細胞の多様性や不均一性が環境適応や疾患発症の過程において重要な役割を担っていることが明らかとなってきている。したがって、トランスクリプトーム解析と同様に、1 細胞レベルでのプロテオームおよびメタボローム解析の実現に対する期待感と関心が日増しに高まっている。一方、タンパク質や代謝物は、PCR 等による増幅操作を実施できないため 1 細胞レベルでの観測は容易ではない。そのため 1 細胞メタボロミクス・プロテオミクスの発展には、さらなる革新的な技術開発が必要である。これまで我々の研究グループでは、1 細胞プロテオミクス・メタボロミクスを達成するためにフューズドシリカキャピラリー内での試料損失を低減させたインライン試料前処理法とナノ液体クロマトグラフィータンデム質量分析による 1 細胞解析システムを開発してきた。しかし、従来法では、感度とスループットの点において、個々の細胞機能や細胞動態の理解を深める手法としては不十分であった。そこで、本研究では、「1 細胞サンプリング技術」、「マルチオミクス解析のための 1 細胞試料調製法」、「超高感度分析系の開発」、の 3 つの要素技術を構築し、これらの技術を連動させることでシステム全体の自動化とともにスループットや定量性の改善を図った。本講演では、開発したナノ LC/MS を基盤としたシングルセル定量マルチオミクス解析法（メタボロミクス・リポドミクス・プロテオミクス）およびその応用例について紹介する。

なお、本研究に関して開示すべき利益相反状態は無い。

1. Hata K, et al., In-line sample processing system with an immobilized trypsin-packed fused-silica capillary tube for proteomic analysis of a small number of mammalian cells. *Anal. Chem.*, 92(4), 2997-3005 (2020).
2. Nakatani K, et al., An analytical system for single-cell metabolomics of typical mammalian cells based on highly sensitive nano-liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Mass Spectrom.*, 9(1), A0080 (2020).
3. Nakatani K, et al., Unified-hydrophilic-interaction/anion-exchange liquid chromatography mass spectrometry (unified-HILIC/AEX/MS): A single-run method for comprehensive and simultaneous analysis of polar metabolome. *Anal. Chem.*, 94(48), 16877-16886 (2022).
4. Torigoe T, et al., Predicting retention time in unified-hydrophilic-interaction/anion-exchange liquid chromatography high-resolution tandem mass spectrometry (unified-HILIC/AEX/HRMS/MS) for comprehensive structural annotation of polar metabolome. *Anal. Chem.*, 96(3), 1275-1283 (2024).

**Keywords** : Single-cell analysis, Metabolomics, Lipidomics, Proteomics, High-resolution tandem mass spectrometry

## 次世代“プロテオーム”シーケンサーへの挑戦

### Challenges for Next Generation “Proteome” Sequencer

○金尾 英佑<sup>1, 2)</sup>

1) 京都大学大学院薬学研究科

2) 医薬基盤・健康・栄養研究所

#### 要旨

2022 年、ヒトゲノムの完全解読が *Science* 誌で報告された<sup>1)</sup>。今日に至るまで、ゲノムサイエンスの勃興は、生命医学研究に飛躍的な進歩をもたらし、網羅的な生体分子群解析によって生命現象を追求する“オミクス”の地位を揺るぎないものにした。一方で、遺伝子プロファイルと生命システムの表現型の間には、巨大なブラックボックスが存在しており、これを紐解く鍵は、遺伝子から翻訳されるタンパク質が握っている。実際に、タンパク質は細胞機能の直接的な担い手とされているが、対応する遺伝子とタンパク質の発現量は必ずしも相関しておらず、同じ遺伝子から翻訳されるタンパク質でも、翻訳後修飾やシェディングによって、その姿・機能を刻一刻と変化させている。すなわち、ゲノムだけでは説明ができない生命現象や疾患メカニズムの本質を捉える上で、タンパク質の総体である“プロテオーム”の解明は、ポストゲノム時代の必須課題である。

次世代シーケンサー (NGS; Next Generation Sequencer) がゲノムサイエンスの躍進を支えたように、高速・高感度を両立した計測技術が、プロテオーム研究にパラダイムシフトをもたらすことは疑いようがない。液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析 (LC/MS/MS) によるボトムアッププロテオミクスは、MS の発展に伴う目覚ましい進化を遂げてきたが、前処理技術や LC の技術開発の遅れが、計測の性能限界を規定している。本研究では、サンプルロスの抑制に有効なスポンジ状前処理材料や、分離の高速化・MS の高感度化において益がある新たな分離技術を開発し、メソドロジー・材料化学の観点から抜本的に見直すことで、プロテオミクスの新たな計測基盤を創出することに挑戦した<sup>2,3,4,5)</sup>。なお、本研究に関して開示すべき利益相反状態は無い。

1. S. Nurk et al. “The complete sequence of a human genome” *Science*, **2022**, 376, 44.

2. A. Tomioka et al. “One thousand samples per day capillary-flow LC/MS/MS for high-speed, high-sensitivity and indepth proteomics” *BioRxiv* **2023** (DOI: <https://doi.org/10.1101/2023.06.05.54368>)

3. E. Kanao et al. “High-Recovery Desalting Tip Columns for a Wide Variety of Peptides in Mass Spectrometry-based Proteomics” *BioRxiv* **2024** (DOI: <https://doi.org/10.1101/2024.07.19.604362>)

4. E. Kanao et al. “Rapid and Highly Efficient Purification of Extracellular Vesicles Enabled by a TiO<sub>2</sub> Hybridized Spongy-like Polymer” *Anal. Chem.* **2023**, 95, 14502.

5. H. Nishida et al. “Centrifugal Gel Crushing Tips for Gel-Based Proteome Analysis” *Anal. Chem.* **2023**, 95, 50, 18311.

**Keywords:** Proteomics, Liquid chromatography, Spongy monolith

## 1 細胞質量分析による細胞内オルガネラ代謝物解析

### Live single-cell mass spectrometry for organelle metabolomics

○水野 初<sup>1)</sup>

1) 名城大学 薬学部

分析技術の進歩により、近年は1細胞レベルでの分子分析が可能となり、1細胞メタボロミクスに関連する研究も多く報告されている。私たちはこれまで、生きている細胞1個を顕微鏡で観察しながら、細胞現象の発現の際に起こる細胞内分子変化を検出するため、1細胞ダイレクト質量分析法(Live Single-cell MS)を開発した。さらに細胞現象のより詳細な解析のため、細胞内に存在する様々なオルガネラに局在する分子の分析するための、細胞内オルガネラ局在分子分析法の開発を行っている。

本方法は、顕微鏡観察下で分析対象とする細胞1個を選択し、その細胞内の特定のオルガネラを金属コーティングしたガラスキャピラリー(先端口径2~3 $\mu\text{m}$ )内にマイクロマニピュレーターを用いて採取し、そのまま質量分析することで、オルガネラに局在する代謝物の検出が可能になった。さらに、サンプリングの精度や再現性を上げるため、共焦点顕微鏡による細胞イメージングを行いながら、蛍光染色したオルガネラを選択的に自動でサンプリングできる装置を横河電機とともに開発した。

本発表では、1細胞質量分析法による細胞内の内因性代謝物や薬物などの外因性代謝物の細胞内局在解析のほか、質量分析の高感度化について紹介する。

**Keywords** : Single-cell, Organelle, Metabolomics, nanoESI, Mass spectrometry

## 新規イオン解離技術 (OAD) を用いた生体分子の高精度質量分析法

Detailed Structural Analysis of Biomolecules Using a Novel Ion Dissociation Technique (Oxygen Attachment Dissociation)

○高橋 秀典

株式会社 島津製作所

### 要旨

我々はこれまでに、生体分子の高精度質量分析に貢献する新規イオン解離技術「酸素付着解離 (OAD, Oxygen Attachment Dissociation)」を開発してきた[1]。本方法により、従来の衝突誘起解離 (CID) では得られなかった化合物の構造情報が得られるようになった。OAD は酸素ラジカル照射により、プリカーサーイオンの部分構造に基づいた選択的なイオン解離を誘起し、四重極飛行時間型質量分析計 (TOF-MS) と OAD ラジカル源を組み合わせた「OAD-TOF システム」に実装される (図 1)。

OAD は従来困難であった脂質やその他の有機化合物における炭素間二重結合 (C=C) 位置の帰属にも有効である。分子構造中の C=C 位置の違いは生体分子の生物学的機能や化学的性質に大きな影響を与えるため、その構造決定は、製薬研究、食品科学、リピドミクスを含む様々な分野で重要である。例えば、オメガ 3 脂肪酸における C=C 位置は、動脈硬化のリスク低減などの健康効果に関連していることが知られている。

電子捕獲解離 (ECD) [2] など電子照射を用いたイオン解離技術と比較して OAD には独自の特徴がある。ECD は主にペプチドやタンパク質の分析に使用されるが、OAD は脂質や複素環式化合物のような低分子化合物の分析に有効である。OAD は解離反応に中性ラジカルを使用するため、1 価イオンを含めて正イオンおよび負イオンに適用も可能である [3]。発表では本手法の原理及びアプリケーション例について報告する。

なお、本研究に関して開示すべき利益相反状態は無い。

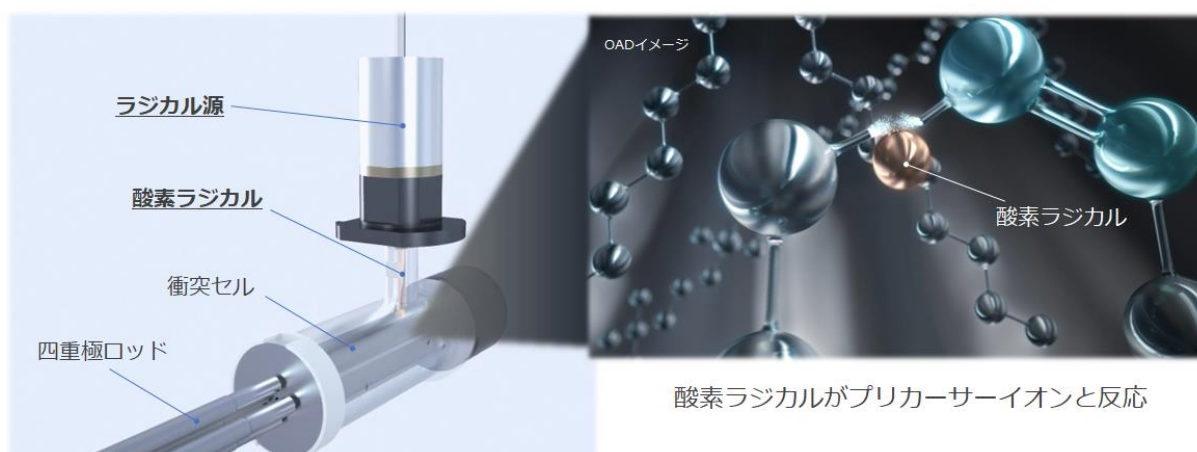


図 1. OAD 装置概要

- [1] H. Takahashi et al., Anal. Chem. 90, 7230 (2018).
- [2] Zubarev, R. A.; et al. J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 3265.
- [3] Shimadzu Corporation, OAD-TOF System Brochure (2023).

**Keywords:** Radical Induced Dissociation, Ion Fragmentation, Lipid, Metabolomics

## Continuing the data independent acquisition revolution: ZT Scan DIA for quantitative proteomics

進化を続ける革新的データ非依存型取得：ZT Scan DIA による定量プロテオミクス

○柴田 猛<sup>1)</sup>

1) 株式会社エービー・サイエックス アプリケーションサポート

### 要旨

2011年に発表された SWATH (Sequential Window Acquisition of All Theoretical Mass Spectra) (1) は、質量分析におけるデータ非依存型取得 (Data Independent Acquisition: DIA) の革新をもたらしました。従来のデータ依存型取得 (Data Dependent Acquisition: DDA) が特定のイオンを選択的に分析するのに対し、SWATH は広範なプリカーサーイオンを網羅的に解析し、膨大な数のタンパク質・ペプチドや代謝物を包括的に同定・定量することを可能にしました。この技術により、質量分析におけるスループットと解析精度が飛躍的に向上し、オミックス研究の分野で重要な役割を果たしてきました。現在ではそのワークフローはメタボロミクス、環境スクリーニング、食品検査、法医学および医薬品分析など、さまざまな用途に使用されています。

さらに、Zeno SWATH DIA を導入し、Zeno trap という新しい蓄積・パルス装置を用いて MS/MS データの感度を大幅に向上させることを実現しました。この技術進化は、質量分析の感度と精度をさらに高め、より詳細で信頼性の高いデータ取得を可能にしています。

本講演では、DIA の解析深度と標的法の精度を組み合わせた新規の DIA 法である ZT Scan DIA をご紹介します。ZT Scan DIA は、プリカーサーイオン全体にわたる高品質な MS/MS データの迅速な取得を基盤とし、四重極スキャンからのデータを追加することで、定量測定 of 深度と精度をさらに強化しています。またスキャン速度を上昇させることで LC 分離の時間を短縮でき、スループットを向上させることができます。この技術により、臨床研究や精密医療の分野で、より複雑な生体試料に関する理解を深めることが期待されます。

なお、本研究に関して開示すべき利益相反状態は無い。

1. Gillet, L.C. et al. Targeted data extraction of the MS/MS spectra generated by data independent acquisition: a new concept for consistent and accurate proteome analysis. *Mol. Cell. Proteomics* 11, O111.016717(2012).

**Keywords** : MS Spectrometry, proteomics, Data Independent Acquisition,



**超高感度トラップド・イオンモビリティが切り開くオミックス解析：  
シングルセルから免疫ペプチドミクスまで**

**Innovative omics analysis with ultra-sensitive trapped-ion mobility:  
from single cell proteomics to immunopeptidomics**

大城 理志<sup>1)</sup>、○荒井 大河<sup>1)</sup>

1) ブルカー・ジャパン株式会社 ダルトニクス事業部

近年開発されている超高感度質量分析計により、個々の細胞のタンパク質発現を網羅的に解析するシングルセルプロテオミクス分析を詳細に行うことが可能となってきた。質量分析計の感度が向上することで、ごく限られた量のサンプルから情報を得ることが可能となり、現在注目されている主要組織適合性複合体 (MHC) に提示されるペプチド配列を網羅的に解析する免疫ペプチドミクスにおいてもより多くの情報を得ることが可能となってきた。また、質量分析計におけるイオンの分離機構もオミックス解析に影響する要素であり、同一の  $m/z$  であっても衝突断面積の違いでイオンを分離することができるイオンモビリティがオミックス解析の高深度化を実現している。

本講演では、独自のイオンモビリティ機構をもつ超高感度型の timsTOF Ultra 2 によるシングルセルプロテオミクス、免疫ペプチドミクス等の最新の分析事例について紹介する。

なお、本発表に関して開示すべき利益相反状態は無い。

**Keywords** : Trapped ion mobility, Ultra sensitivity, Single cell proteomics, Immunopeptidomics, timsTOF Ultra2