

# 製造管理を手早く簡単に！ MALDI-TOF MSで解析から スクリーニングまでをトータルサポート

株式会社島津製作所 分析計測事業部

## こういうところで悩んでいませんか？



分析

- ・操作が簡単な装置で測定したい。
- ・幅広い質量範囲を分析したい。
- ・前処理に時間をかけたくない。
- ・サンプル分子を壊さずに質量分析をしたい。




解析

- ・良品、不良品を簡単に判別したい。
- ・判別モデルを作るのは難しそう。
- ・不良品で共通する特徴を簡単に探したい。

**SHIMADZU**


## こういうところで悩んでいませんか？



分析


- ・ 操作が簡単な装置で測定したい。
- ・ 幅広い質量範囲を分析したい。
- ・ 前処理に時間をかけたくない。
- ・ サンプル分子を壊さずに質量分析をしたい。

それならMALDI-8020で、簡単・迅速・大量に分析！



解析

- ・ 良品、不良品を簡単に判別したい。
- ・ 判別モデルを作るのは難しそう。
- ・ 不良品で共通する特徴を簡単に探したい。



eMSTAT Solution™で、簡単に作れます！

3


**SHIMADZU**

## MALDI-8020とeMSTAT Solutionでできること


**➡ 製造管理に必要な情報を、簡単に手早く入手できます！**

完成品や原料等のサンプル

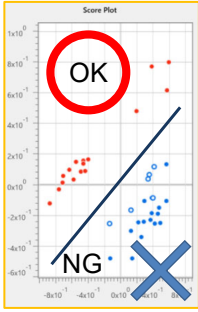
前処理



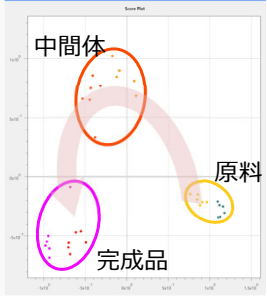
測定



解析

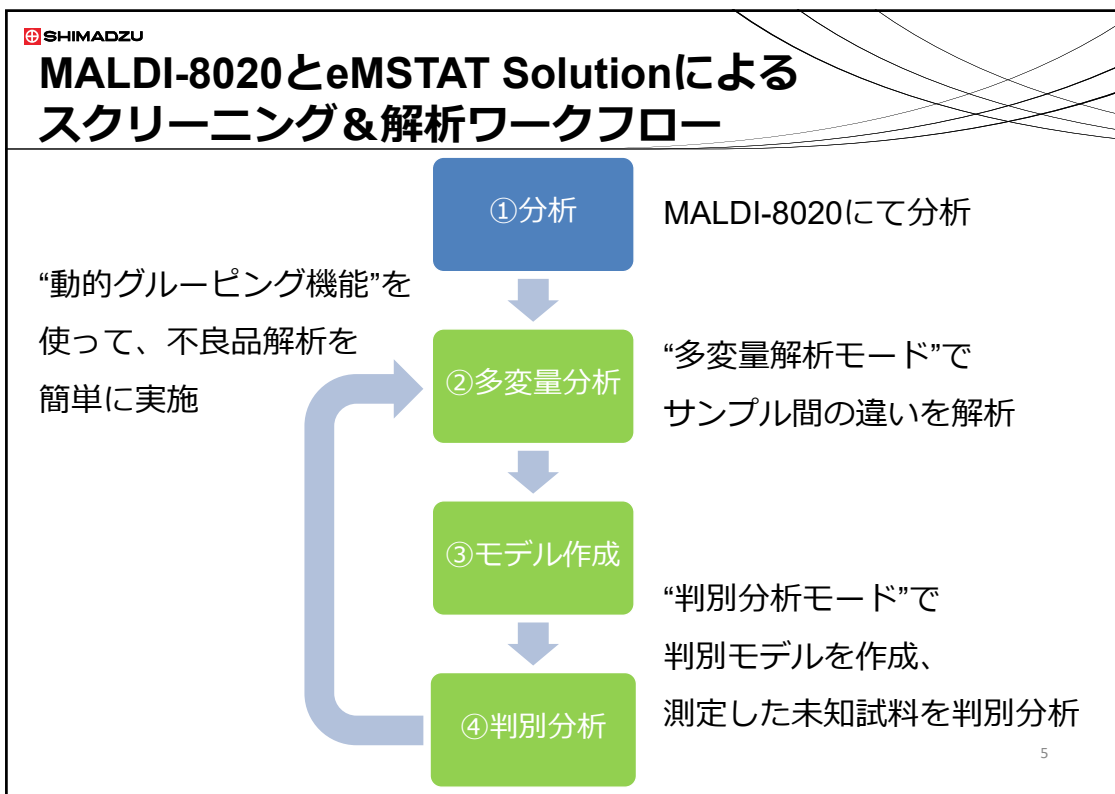


⇒不良品の判別



⇒プロセス管理

4



SHIMADZU

## 卓上型MALDI-TOF MS MALDI-8020

### MALDI-8020の特長

- ☎ コンパクトかつ高い静音性
- 🔧 容易かつローコストなメンテナンス性
- 📱 簡便な操作性の分析ソフトウェア
- 📅 用途に合わせた管理が可能

6

SHIMADZU

## 簡便な操作性の分析ソフトウェア

### MALDI Solutions™の特長

- 直感的な操作感
- 測定パラメータ／波形処理パラメータ等を保存可能
- MSスペクトルの画像データを簡単に編集可能



The screenshot shows the MALDI Solutions software interface. It includes a top toolbar with icons for various functions. The main panel is divided into several sections: 'Mass range' (500-30000), 'Tuning' (Linear), 'Spots' (Manual, Accumulate, Profiles), 'Data quality' (checkbox), 'Monit...' (dropdown), 'Load', 'Save', 'Stage' (directional buttons), 'Laser power' (85), and 'Fire' button. There are also buttons for 'Open door', 'Close door', 'Operate', 'Standby', 'Clear', 'Stop', 'Resume', and 'Pause'. A status bar at the bottom shows 'Vacuum State: Standby (32)' and 'Loaded acquisitions: 1'. A small image of a laser spot is visible on the right side.

7

SHIMADZU

## MALDI-TOF MSの特長

### 広い質量範囲

- MSなら1~数十万、MS/MSなら1~数万

### 簡単な前処理

- 多少汚いサンプルでもマトリックスと混ぜるだけで測定準備完了

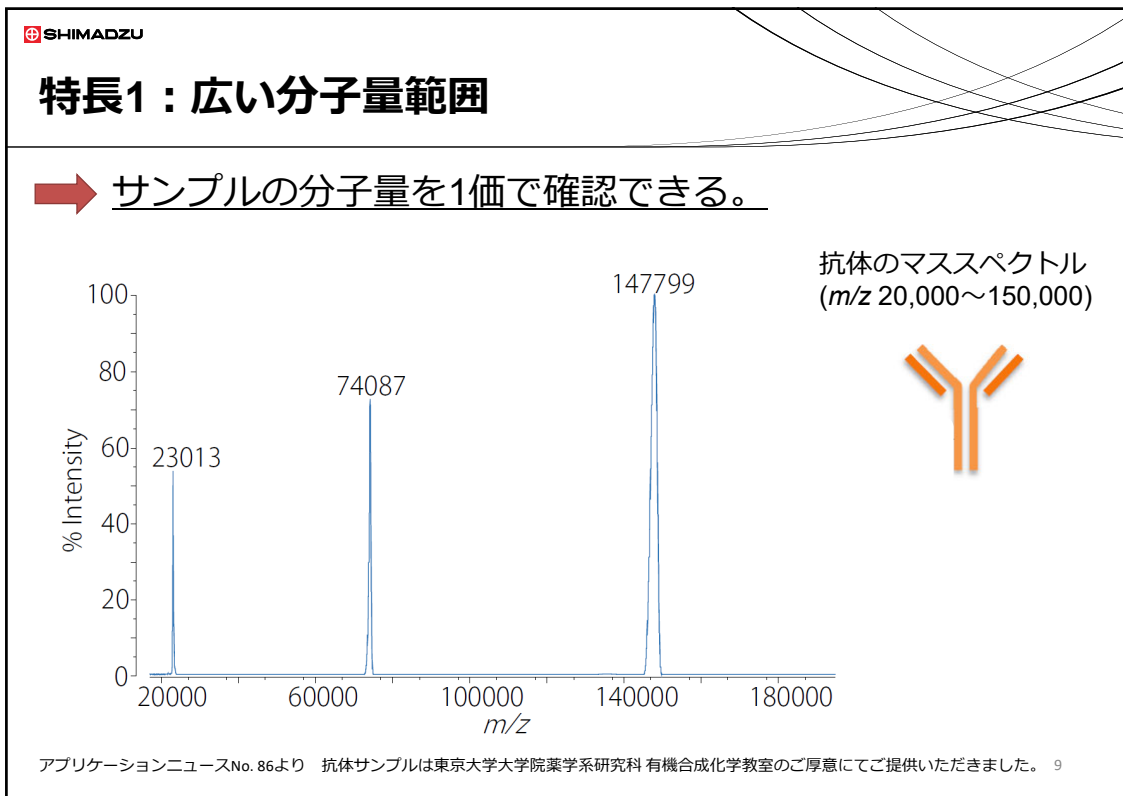
### ソフトなイオン化

- 大きな分子もそのままの大きさに測定可能

### 短い測定時間

- 1サンプル当たり2~3分で測定完了

8



**SHIMADZU**

### 特長2：簡単な前処理

➡ サンプルとマトリクスを混ぜて、乾燥させるだけ

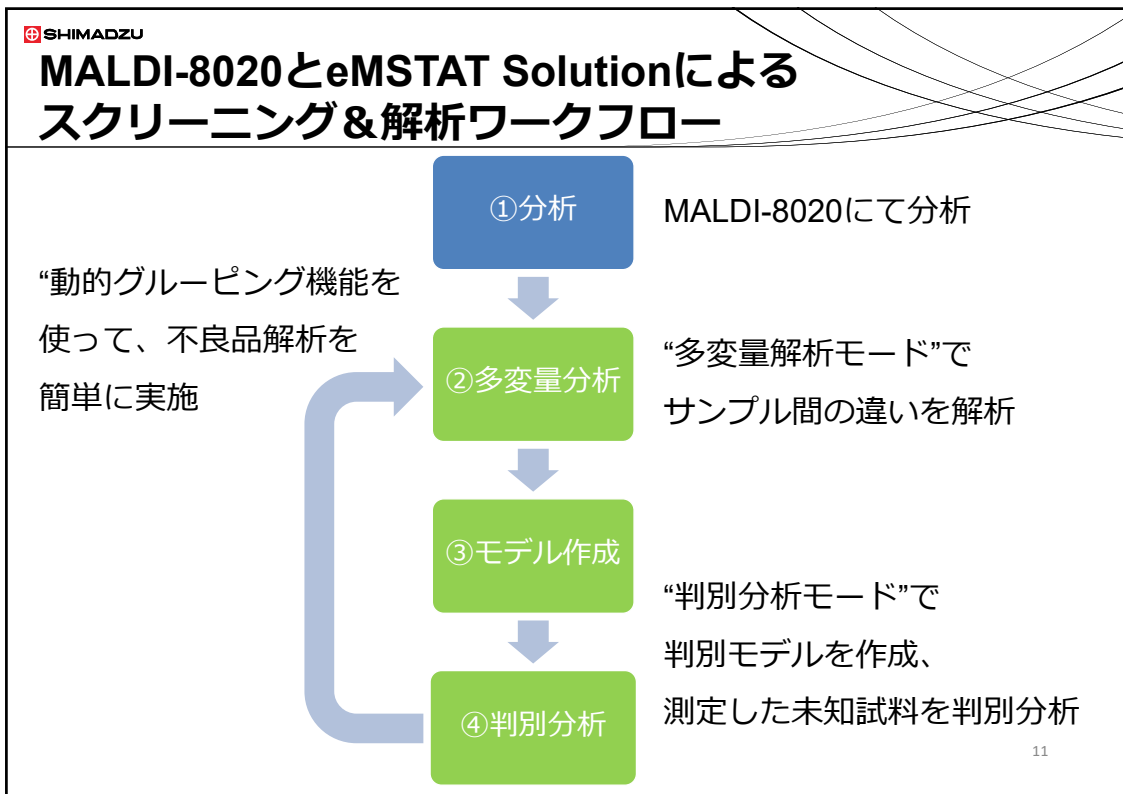
サンプルの種類	マトリックス例
ペプチド	CHCA
タンパク質	シナピン酸等
ポリマー	ジスラノール等
核酸	HPA等
糖鎖	DHB等

➡ サンプル前処理はとても簡単

- ✓ 培養物（菌体コロニー、細胞培地上清）
- ✓ TFA等で溶解したポリマー
- ✓ 反応液（酵素消化物、抽出物）

そのまま  
or  
遠心をして浮遊物を除く

10



**SHIMADZU**  
**eMSTAT Solutionの特長**

**多変量解析モードの特長**

- ・ 数パラメータを選択するだけで簡単に多変量解析
- ・ マーカーピークを探しやすいインターフェース
- ・ グルーピングの変更も容易

Analysis Parameters

Univariate Analysis

2 Groups

t-test

U-test

3 Groups or more

ANOVA

Multiple comparison

None

Bonferroni

BH

Multivariate Analysis

PCA

PLS-DA

3つの条件を選択するだけ

12

**SHIMADZU**

## eMSTAT Solutionの特長

**判別解析モードの特長**

- 多変量解析のデータを元に、判別分析モデルを構築可能
- 設定すべきパラメータは4つだけ
- 判定結果がScore Plotにプロットされ、視覚的に確認しやすい

13

**SHIMADZU**

## MALDI-8020とeMSTAT Solutionによるスクリーニング&解析ワークフロー

“動的グルーピング機能を使って、不良品解析を簡単に実施”

```

graph TD
    A[①分析] --> B[②多変量分析]
    B --> C[③モデル作成]
    C --> D[④判別分析]
    
```

①分析 MALDI-8020にて分析

②多変量分析 “多変量解析モード”でサンプル間の違いを解析

③モデル作成 “判別分析モード”で判別モデルを作成、

④判別分析 測定した未知試料を判別分析

14

## ヨーグルトの発酵管理

### サンプルの作成

3種類のヨーグルト（牛乳ヨーグルト2種、豆乳ヨーグルト1種）と牛乳を1:9の割合で混合し、各温度で発酵させました。

### 各サンプルの発酵後の性状

	直前に調製	4℃	24℃	40℃
Aヨーグルト(牛乳)	液状	液状	液状	半固形
Bヨーグルト(豆乳)	液状	液状	半固形	半固形
Cヨーグルト(牛乳)	液状	液状	液状	半固形

※各条件3サンプルずつ調製、1サンプルにつき2ウェル測定。合計6データを取得しました。

今回は上記サンプルデータを用いて、以下3点の機能について説明します。

機能①Aヨーグルトの発酵度合の“多変量解析”

機能②AおよびCヨーグルトの“判別分析”

機能③“動的グルーピング”による新規グルーピングの作成

15

## サンプルの前処理

各サンプルを 0.1% トリフルオロ酢酸で10倍に希釈

サンプルプレート上に0.5 uL滴下

軽く乾燥させたサンプルにマトリックス(CHCA)を滴下

乾燥



➡ わずか**4ステップ**でサンプルの前処理が完了。

1サンプル当たりの作業時間は**約3分**！

16



**SHIMADZU**

### 機能①Aヨーグルトの発酵度合の“多変量解析”

Aヨーグルトで発酵させたサンプルを用いて、温度の違いによる発行度合いの変化を解析

The screenshot displays the eMSTAT software interface. On the left, the 'Sample Tree' lists 'Aヨーグルト' and '牛乳' with sub-items for different fermentation temperatures (A, 4, 24, 40). The 'Analysis Parameters' section shows 'ANOVA' selected for univariate analysis and 'PCA' for multivariate analysis. The main window features a 'Sample Graph' (mass spectrum) and a 'Peak Matrix' table with 813 peaks. The 'Display Analysis Result' section includes a 'Score Plot' and a 'Loading Plot'.

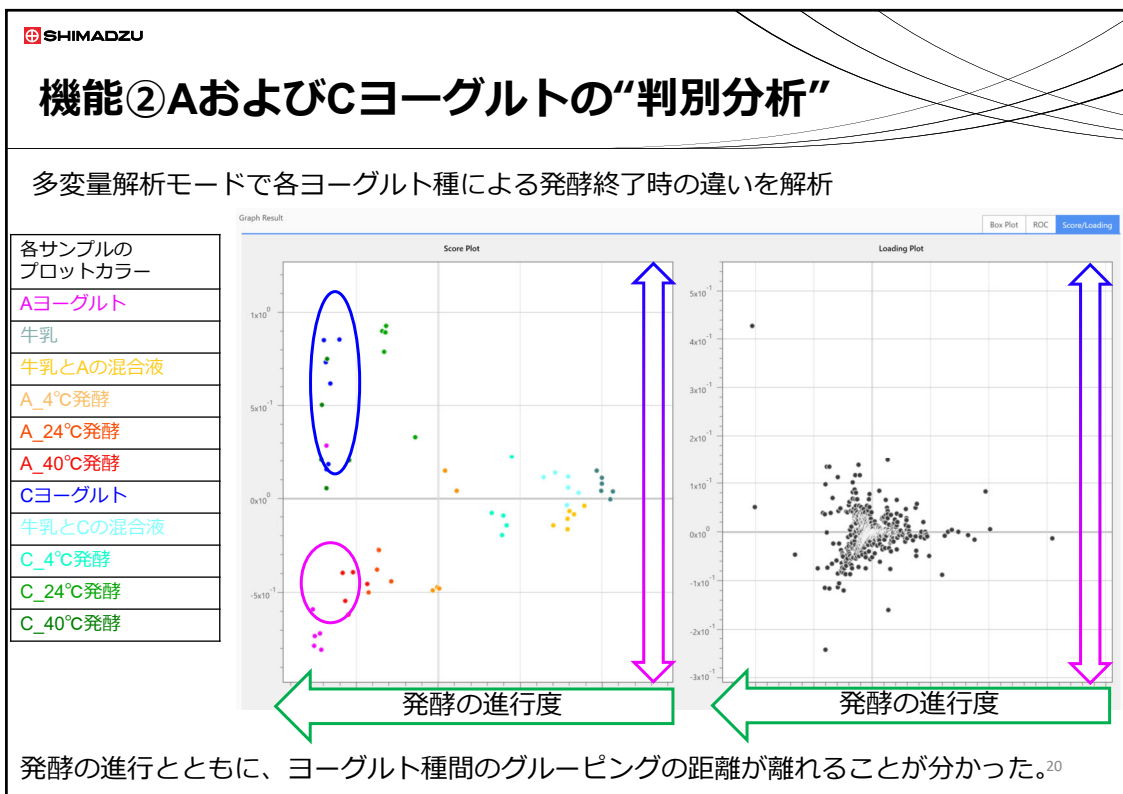
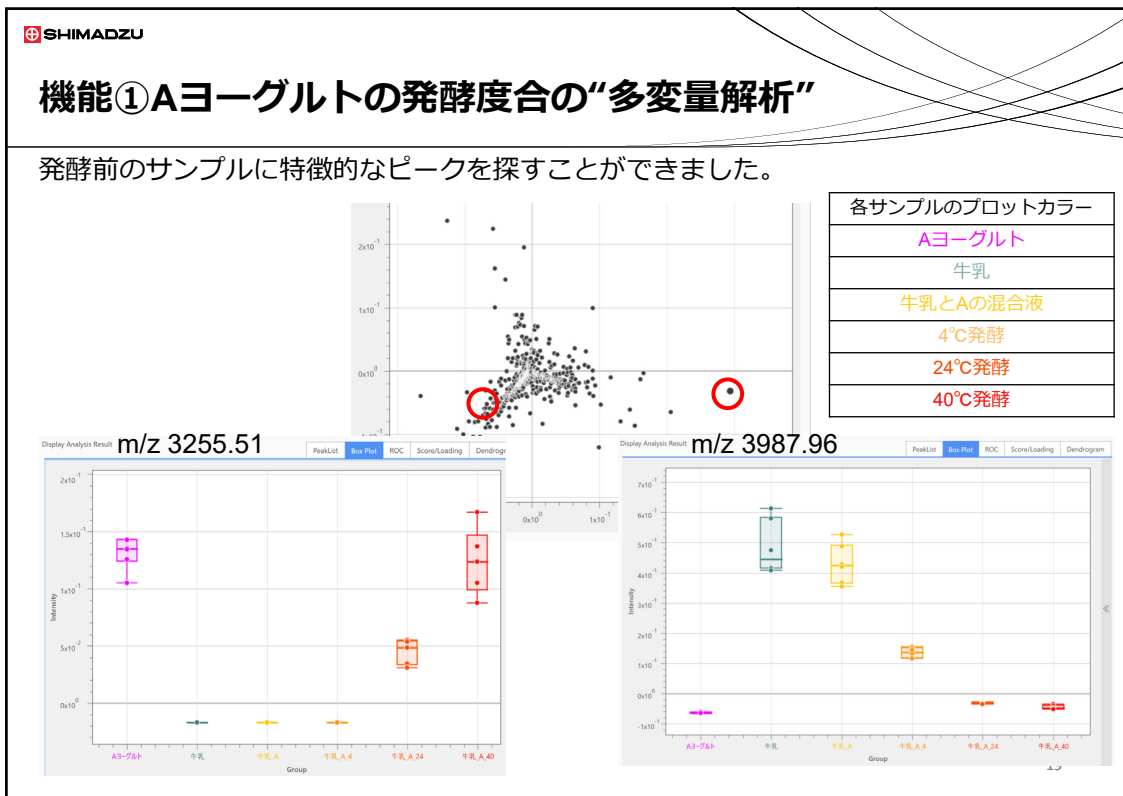
Peak Matrix	ANOVA	Aヨーグルト	牛乳(6)	牛乳
2275.1216	4.1014E-05	6	0	0
2263.7111	2.1438E-07	6	4	5
2258.6244	0.0002972	6	6	6
2183.4558	2.3109E-21	6	0	0
2406.6358	1.5253E-17	6	0	0
2767.0398	9.1234E-22	6	6	6
2194.9787	2.1843E-11	6	0	6
2893.8445	2.56E-12	6	0	0
2747.6242	3.482E-14	6	0	0
2732.2867	2.1293E-15	6	0	0
2177.4728	8.6445E-15	6	0	0

**SHIMADZU**

### 機能①Aヨーグルトの発酵度合の“多変量解析”

Aヨーグルトで発酵させたサンプルを用いて、温度の違いによる発行度合いの変化を解析

This slide provides a detailed view of the 'Score Plot' and 'Loading Plot' from the previous slide. A legend on the left identifies the plot colors for different samples: Aヨーグルト (dashed purple), 牛乳 (solid blue), 牛乳とAの混合液 (solid yellow), 4°C発酵 (solid orange), 24°C発酵 (solid red), and 40°C発酵 (solid red). The 'Score Plot' shows distinct clusters for each sample type, with a green arrow indicating the direction of '発酵の進行度' (degree of fermentation). The 'Loading Plot' highlights two specific peaks at m/z 3255.51 and m/z 3987.96, also with a green arrow indicating the direction of '発酵の進行度'.



## 機能②AおよびCヨーグルトの“判別分析”

多変量解析モードで使用したデータを用いて判別分析のモデルを作成します。

## 機能②AおよびCヨーグルトの“判別分析”

モデル作成に必要な条件を設定します。

判別する各グループ
Aヨーグルト
牛乳
牛乳とAの混合液
A_4℃発酵
A_24℃発酵
A_40℃発酵
Cヨーグルト
牛乳とCの混合液
C_4℃発酵
C_24℃発酵
C_40℃発酵

**機能②AおよびCヨーグルトの“判別分析”**

ヨーグルト種の違いと発酵の進行度の違いを判別することができました。

Select	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Name	Pos_milk_A_4_	Pos_milk_A_24_	Pos_milk_A_40_	Pos_milk_C_4_	Pos_milk_C_24_	Pos_milk_C_40_
Group	牛乳_A_4	牛乳_A_24	牛乳_A_40	牛乳_C_4	牛乳_C_24	牛乳_C_40
Score	50	99	99	99	99	99

未知サンプルが Score Potting上のどこにプロットされるのかを確認できます。

**機能③“動的グルーピング”による新規グルーピングの作成**

Bヨーグルトで発酵したものを、未知サンプルとして作成したモデルで判別。

Name	Pos_milk_B_	Pos_milk_B_	Pos_milk_B_	Pos_milk_B_	Pos_milk_B_	Pos_milk_B_	Pos_milk_B_
Group	牛乳_C_4	牛乳_C_4	牛乳_C_4	牛乳_C_4	牛乳_C_4	牛乳_C_4	牛乳_C_4
Score	21	22	15	15	28	25	35

- 結果のScoreが低い。
- プロットされている位置も判別されているグループと遠い／他のグループの方が近い。

➔ これまでになかったサンプルグループとして登録する必要が出てきた。

**SHIMADZU**

### 機能③“動的グルーピング”による新規グルーピングの作成

Bヨーグルト(豆乳ヨーグルト)で発酵させたサンプルのデータも一緒に解析

各サンプルのプロットカラー

- Aヨーグルト
- 牛乳
- 牛乳とAの混合液
- A\_4°C発酵
- A\_24°C発酵
- A\_40°C発酵
- Cヨーグルト
- 牛乳とCの混合液
- C\_4°C発酵
- C\_24°C発酵
- C\_40°C発酵
- 牛乳とBの混合液
- B\_4°C発酵
- B\_24°C発酵
- B\_40°C発酵

AC(牛乳ヨーグルト)とB(豆乳ヨーグルト)の違いが分かりにくい

25

**SHIMADZU**

### 機能③“動的グルーピング”による新規グルーピングの作成

ヨーグルト種と培養温度によってグルーピングされた情報を保持したまま、別のグルーピングを作成できます。

各グループがどのような要素を持っているのか、+/-で選択。今回はACとBの特長を探したいため、A,Cを使用したサンプルはACの欄に+をBを使用したサンプルはBの欄に+を入れた。

Group Name	milk	soy	AC	B
Aヨーグルト	+	-	+	-
Cヨーグルト	+	-	+	-
牛乳	+	-	-	-
牛乳_A	+	-	+	-
牛乳_B	+	-	-	+
牛乳_A_4	+	-	+	-
牛乳_A_24	+	-	+	-

新しいグループ名とその要素を指定

Group Name	milk	soy	AC	B
牛ヨーグルト種	+	-	+	-
豆ヨーグルト種	+	-	-	+

26

**SHIMADZU**

### 機能③“動的グルーピング”による新規グルーピングの作成

新しいグルーピングに置きなおすことができました。

The screenshot displays the Shimadzu software interface for multivariate analysis. The top panel shows a mass spectrum plot with intensity on the y-axis (0 to 6x10<sup>5</sup>) and m/z on the x-axis (2000 to 9000). Below the plot is a peak matrix table for 1218 peaks. The table has columns for m/z, Annotat, t-test, and dynamic grouping counts for 'キヨグル種' (Kiyoguru) and '豆ヨグル種' (Mameyoguru). The '動的グルーピング' (Dynamic Grouping) menu is highlighted with a red box on the left. To the right, there are two plots: a 'Score Plot' and a 'Loading Plot', both showing data points for different groups.

m/z	Annotat	t-test	キヨグル種	豆ヨグル種	Pos. A. 0	Pos. A. 0	Pos. A. 0	Pos. A. 0
3957.6382		1.859E-06	0	15	---	---	---	---
3026.0785		0.0058785	0	13	---	---	---	---
2383.1548		0.0027472	0	9	---	---	---	---
2097.7439		0.17402	0	9	---	---	---	---
2949.9186		0.0041642	0	8	---	---	---	---
3554.0758		0.0044659	0	8	---	---	---	---
2281.6200		0.0063033	0	8	---	---	---	---
2323.1139		0.0092358	0	7	---	---	---	---
2606.8087		0.0059918	0	7	---	---	---	---
3269.2125		0.0065398	0	7	---	---	---	---
4697.2705		0.053863	0	6	---	---	---	---
3209.7037		0.012517	0	6	---	---	---	---
2182.3367		0.023156	0	6	---	---	---	---
3806.2856		0.01372	0	6	---	---	---	---
4215.6562		0.017933	0	6	---	---	---	---
3805.4462		0.024714	0	5	---	---	---	---
2707.6672		0.029868	0	5	---	---	---	---
2728.3831		0.050265	0	5	---	---	---	---

27

**SHIMADZU**

### 機能③“動的グルーピング”による新規グルーピングの作成

ACヨーグルトとBヨーグルト間で特長が異なるピークを探すことができました。

The screenshot shows a detailed view of the peak matrix table and a box plot. The table highlights specific peaks with a red box, showing their t-test values and counts for '牛ヨグル種(48)' and '豆ヨグル種(21)'. The box plot on the right compares the intensity of these peaks between the two yogurt types, with '牛ヨグル種' (Cow Yogurt) on the x-axis and '豆ヨグル種' (Bean Yogurt) on the x-axis. The y-axis represents intensity on a scale from -1x10<sup>-1</sup> to 4x10<sup>-1</sup>.

m/z	t-test	牛ヨグル種(48)	豆ヨグル種(21)
2329.1241	9.879E-13	48	1
2367.2122	8.1971E-11	46	9
5158.8347	4.6499E-09	28	1
2112.7439	9.2033E-09	48	21
2149.6739	2.6113E-08	30	4
4440.4759	3.5954E-08	27	0
2975.9829	1.6306E-07	38	9
3874.1802	4.4236E-07	24	3
2718.5740	4.5964E-07	5	19
3722.2703	7.0452E-07	3	19
3027.7111	1.2392E-06	34	9
3265.6052	1.6759E-06	1	16
2758.7279	1.8458E-06	20	0
3957.6382	1.859E-06	0	15
3870.9666	2.0272E-06	22	0
3801.8593	2.1375E-06	25	3
3419.9450	2.4899E-06	28	4
2356.8774	4.1014E-06	38	10

28

**SHIMADZU**

### 機能③“動的グルーピング”による新規グルーピングの作成

新しいグルーピングでの判別モデルを作成し、判別分析を行いました。

Select	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Name	Pos_milk_B_4_	Pos_milk_B_24_	Pos_milk_B_40_	Pos_milk_C_40_	Pos_milk_C_24_	Pos_milk_A_40_
Group	豆ヨーグル種	豆ヨーグル種	豆ヨーグル種	牛ヨーグル種	牛ヨーグル種	牛ヨーグル種
Score	99	100	100	100	100	100
2000.5412	52793.469	52614.165	5580625.6	1564175.2	---	112074.97
2001.6861	---	---	---	---	---	---
2002.8313	---	---	---	---	---	---
2003.9137	---	---	---	---	---	---
2005.0591	---	---	---	---	---	---
2007.4399	---	1777013.5	---	---	10582321	---
2008.5918	---	---	2896799.2	31115797	---	1026043.5
2009.7077	279411.84	---	---	---	---	---

➡ スコアが改善され、豆乳ヨーグルトと牛乳ヨーグルトを分けられるような判別モデルを作成できました。

29

**SHIMADZU**

### MALDI-8020とeMSTAT Solutionでできること

➡ **製造管理に必要な情報を、簡単に手早く入手できます！**

完成品や原料等のサンプル

前処理

測定

解析

⇒不良品の判別

⇒プロセス管理

30