

# 第59回質量分析総合 討論会 発表概略説明

主に創薬・診断への貢献を目指した、島津製作所と様々な共同研究機関との研究開発の進展をご紹介します

ここ約1年の間、島津製作所 **最先端研**、**質量分析研** は、様々な共同研究機関の方々と共に、主に創薬・診断に貢献する質量分析システム(前処理・イオン化・ハードウェア・ソフトウェア)を構築するため、高性能化につながる数多くの個別ツールを開発しました。また、実際のがん関連タンパク質の幾つかに対し、世界で初めて翻訳後修飾解析を行いました。

これら総計17件の成果を、9月/13日(火)~15日(木) 大阪千里で開催される「第59回質量分析総合討論会」で発表します。

**最先端研** 田中**最先端**研究所との共同(12件): 京都大(薬)、広島大学、エーザイ(、奈良先端大学)、等  
**質量分析研** 田中耕一記念**質量分析**研究所との共同(5件): 奈良女子大、FHCRC、東京大医科研、等  
全部で17件の発表です。発表内容を通して、最も強調できるポイントから順に並べると、以下のようになります。

## 1. 高感度化

翻訳後修飾を含めた化合物を高感度化する手法を開発 **最大1000倍**の高感度化を達成

## 2. 翻訳後修飾の解析

**がん関連タンパク質**: 数種の翻訳後修飾を**解析** メカニズム解明やバイオマーカー候補選定に貢献

## 3. 解析ソフトの開発

タンパク質解析の高速化・高度化に貢献する**フリーソフト**を 9月13日公開予定

以下、個別の発表に対する概略説明を列記します。

### 9月13日: 1日目

#### **最先端研** **1P-09** 微量滴下による MALDI-MS の高感度分析

(○島津製作所 田中**最先端**研究所)

○日置雄策・福山裕子・濱名周子・岩本慎一・田中耕一

ごく**微量**の溶液を**滴下**可能な既製品と 従来からのマトリックスを用い、高感度化に関して様々な最適化を行った結果、**標準ペプチド**で 10amol(従来法と比較し**最大 100 倍**)の**高感度**で測定できることを解説。

### **最先端研 1P-12** 3-AQ/CHCAを用いたAQラベル化法によるHER2のN型糖鎖プロファイリング

(○島津製作所 田中最先端研究所 1・京都大学大学院薬学研究科 最先端創薬研究センター2)

○金城薫 1・渡辺真 1・寺澤和哉 2・内村浩正 2・清水一治 2・辻本豪三 2・田中耕一 1

**乳がん関連物質**として良く知られている **HER2** は糖タンパク質の一種であるが、その糖鎖構造は未知と考えられている。HER2から糖鎖を切り出し、田中耕一記念**質量分析研究所**：**質量分析研** で開発した**超高感度AQラベル化**を用いることにより、**N型糖鎖の種類と存在比が細胞株によって大幅に異なる**ことが示された。

### **質量分析研 1P-35** MALDI質量分析における液体マトリックス3-AQ/CHCAを用いた細胞膜貫通型メタロプロテアーゼMT1-MMPのO-結合型糖鎖修飾の解析

(○東京大学 医科学研究所 腫瘍細胞社会学分野 1・東京大学 医科学研究所 疾患プロテオミクスラボラトリ 2・株式会社 島津製作所 田中耕一記念質量分析研究所 3)

○周尾卓也 1・越川直彦 1・星野大輔 1・峰岸知子 1・近藤裕子 2・尾山大明 2・関谷禎規 3・岩本慎一 3・田中耕一 3・清木元治 1

**がん細胞の浸潤・転移に関わる** MT1-MMP タンパク質は、生理機能を発揮する上で糖鎖による修飾が重要であると考えられているが、糖タンパク質糖鎖解析の困難さから その詳細は不明であった。本解析では、液体マトリックスを用いた新規の質量分析法により、**実際にがん細胞から回収したMT1-MMP糖鎖修飾部位 および糖鎖成分を明らかにした**。

### **質量分析研 1P-36** MALDI-DIT MSと解析ソフトウェアを用いた糖ペプチド自動分析システム

(○島津製作所 1・Fred Hutchinson Cancer Research Center 2・Ventana Medical Systems, Inc. 3)

○関谷禎規 1・村瀬雅樹 1・高橋秀典 1・森本健太郎 1・梶原茂樹 1・岩本慎一 1・田中耕一 1・Chee-Hong Wong<sup>2</sup>・Hong Wang<sup>2,3</sup>・Samir Hanash<sup>2</sup>

MALDI-DIT MSと解析ソフトウェア(自作のde novoシーケンスソフト)を用いた糖ペプチド**自動分析**システムを構築した。本システムにより、糖ペプチドを自動 MS<sup>n</sup> 分析し、ペプチド配列、糖鎖結合部位、糖鎖組成を推定することが可能となった。

### **最先端研 1P-40** 液体マトリックス3-AQ/CHCA及び3-AQ/CAを用いた糖ペプチド高感度分析

(○島津製作所 田中最先端研究所)

福山裕子・○船越なつ美・岩本慎一・田中耕一

疾患に関連する化合物として最近大いに注目されている**糖ペプチド**は、(糖が付加していない通常の)ペプチドと比べ測定困難であるとされていたが、新規開発した液体マトリックスの一種 3-AQ/CA を用いることにより、最高10amol(従来法と比較し**最大100倍**)の**高感度**で測定できることを解説。

### **最先端研 1P-49** MALDI-Digital-Ion-Trap-TOFMSの開発

(○島津製作所 田中最先端研究所)

○小寺慶・神野正文・渡辺清・狭間一・古田匡智・関谷禎規・木下香織・高橋秀典・細井孝輔・小林俊則・岩本慎一・田中耕一

**質量分析研** では、島津欧州研究所 SRL で基礎開発された **Digital Ion Trap (DIT)** に対し、5年以上に渡り機能の大幅向上を積み重ねてきた。**最先端研** で これら研究を引き継ぎ、DIT を初めて TOF に接続させ、MS<sup>n</sup> に対する速度・精度を向上させただけでなく、MALDI-PathThrough-TOF 機能をも含む機構、すなわち **高速・詳細解析を両立** できる装置(ハードウェア)を構築した。

謝辞: **最先端研** の研究・開発は、日本学術振興会の「最先端研究開発支援プログラム」からの助成を受けて行われた。

## 9月14日: 2日目

### 質量分析研 2A-02 リン酸化テトラペプチドイオンの衝突誘起分解におけるフラグメンテーション機構 “On-Resonance” Pulsed Gas Introduction CID による Neutral Loss の低減

(○奈良女子大学院人間文化 1・奈良女子大理 2・島津製作所 3・産総研 4)

菅原絵里香 1・黒崎由佳 2・高橋彩佳 1・梶原茂樹 3・森永浩子 3・岩本慎一 3・田中耕一 3・○竹内孝江 1,2,4

疾患関連化合物として最近大いに注目されているリン酸ペプチドは、リン酸化部位等が優先的に脱落し易く、ペプチド配列情報入手が困難である。計算機を用いた理論計算と実測データを照合させながら、2回以上分解することの抑制やデータ解析に貢献することを目指す。

### 最先端研 2P-01 Mass++ 2.0.0: 質量分析解析フリーウェアの新バージョン

(○島津製作所 田中最先端研究所 1・エーザイ株式会社 2・奈良先端科学技術大学院大学 3)

○Howell Parry 1・田中聡 1・田畑剛 2・青島健 2・小田吉哉 2・二瓶義人 3・西岡孝明 3・宇都宮真一 1・梶原茂樹 1・田中耕一 1

“mass++”は様々な表示・解析を目的とした質量分析用フリーソフトウェアであり、それにフリーDatabase “MassBank”を組み合わせた Plug-In ソフトウェアを開発したことにより、多量 Dataset 検索が容易になった。

### 最先端研 2P-11 ラベル化を用いた糖鎖修飾ペプチドの MALDI 法による高感度分析

(○島津製作所 田中最先端研究所)

○谷口謙一・福山裕子・伊吹隆・田中耕一

疾患関連化合物として最近大いに注目されている糖ペプチドは、(糖が付加していない通常の)ペプチドと比較し測定困難であるとされていたが、ペプチドに含まれるアミノ酸:リジンにイオン化を促進する化合物をラベル化剤として付加することにより、ラベル化無しと比較し~30倍の高感度で測定できることを解説。

### 最先端研 2P-24 ペプチド質量分析の感度向上を目的とした新規 MS プローブの開発

(○島津製作所 田中最先端研究所)

○嶋田崇史・佐藤孝明・田中耕一

タンパク質を質量分析で解析する場合、酵素消化を用いてペプチド断片の混合物にする場合が多い。その際、アミノ酸の一種:システイン-システイン間の架橋(ジスルフィド結合)を外した後にある種の化合物を結合し安定化させる。その化合物に 従来とは異なる(MALDI では)イオン化効率の高い化合物を考案・採用したことにより、従来よりも最大 数 100 倍の高感度化を達成できた。

### 質量分析研 2P-34 MALDI 質量分析を用いた細胞間接着分子 CADM1 の N 型糖鎖の解析

(○東京大学 医科学研究所 人癌病因遺伝子分野 1・東京大学 医科学研究所 疾患プロテオミクスラボラトリー 2・株式会社 島津製作所 田中耕一記念質量分析研究所 3)

○櫻井美佳 1・丸山智子 1・石村恵 1・柳川梓 1・尾山大明 2・近藤裕子 2・関谷禎規 3・岩本慎一 3・田中耕一 3・村上善則 1

( 3P-33 解説参照)

### 最先端研 2P-40 新規添加剤 ADHB 混合マトリックスを用いた疎水性ペプチド高感度分析

(○島津製作所 田中最先端研究所 1・広島大学大学院理学研究科 2)

福山裕子 1・○谷村里都子 1・泉俊輔 2・岩本慎一 1・田中耕一 1

MALDI は主に親水性化合物を高感度で測定できる方法であるが、ある程度 疎水性の化合物も測定できる。その能力を高めるため、疎水性のアルキル基を従来のマトリックスに導入する新規化合物を考案・合成することにより、疎水性ペプチドを最大 100 倍の感度で測定できることを実証した。

### 最先端研 3P-01 MS^n を利用する新規データベース検索法の評価

(○島津製作所 田中最先端研究所 1・[エーザイ](#) エーザイ・プロダクトクリエーション・システムズ 2)

○森本健太郎 1・村瀬雅樹 1・田畑剛 2・梶原茂樹 1・青島健 2・小田吉哉 2・田中耕一 1

通常、[ペプチドシーケンス情報](#)入手のためには、MS/MS データのみを参照するが、MS<sup>3</sup> 以上の情報を組み合わせることにより、[固定率の向上](#)が可能であることを例証し、かつ、その[アルゴリズム](#)を紹介している。

### 最先端研 3P-21 データベース検索における翻訳後修飾情報の利用

(○島津製作所 田中最先端研究所 1・[エーザイ](#) エーザイ・プロダクトクリエーション・システムズ 2)

○吉沢明康 1・田畑剛 2・木村剛之 2・青島健 2・小田吉哉 2・梶原茂樹 1・田中耕一 1

データベース検索で翻訳後修飾(PTM)を探知する場合、これまでは 修飾を受ける可能性のあるアミノ酸全てについて「総当り」検索を行うことが多かった。今回、既知 PTM 情報を反映させた[配列データベース](#)を構築し、これに対して検索することで、既知 PTM を[より高い精度で約 20 倍高速](#)に探知が可能となった。

### 最先端研 3P-26 MALDI 質量分析を用いた HER2 における N 型糖鎖付加割合の推定

(○[京都大学](#)大学院薬学研究科 最先端創薬研究センター1・島津製作所 田中最先端研究所 2)

○[寺澤和哉](#) 1・内村浩正 1・金城薫 2・渡辺真 2・清水一治 1・辻本豪三 1・田中耕一 2

[乳がん関連物質](#)として良く知られている [HER2](#) は糖タンパク質の一種であるが、その糖鎖付加部位は十分な研究がなされていなかった。HER2 から糖鎖を切り出した後のタンパク質を調べることにより、[糖鎖付加位置と付加割合の推定が可能](#)であることが示された。

### 質量分析研 3P-33 MALDI 質量分析を用いた細胞間接着分子 CADM1 の O 型糖鎖の解析

(○[東京大学](#) 医科学研究所 人癌病因遺伝子分野 1・東京大学 医科学研究所 疾患プロテオミクスラボラトリー2・株式会社 島津製作所 田中耕一記念質量分析研究所 3)

[櫻井美佳](#) 1・[丸山智子](#) 1・石村恵 1・柳川梓 1・尾山大明 2・近藤裕子 2・関谷禎規 3・岩本慎一 3・田中耕一 3・村上善則 1

N 型・O 型糖鎖修飾を受ける[細胞間接着分子 CADM1](#) は、肺がん・腎がんなど上皮由来がんにおいては [がん抑制遺伝子](#)として働き、進展に伴い発現が低下する。一方、成人 T 細胞白血病(ATL)では、CADM1 高発現が見られ、その[浸潤・転移を促進](#)することが示されている。また、上皮と ATL に発現する CADM1 は、[糖鎖修飾が異なる](#)ことが示唆されている。この相違を明らかにする目的で、上皮細胞に発現する CADM1 の糖ペプチドを MALDI-MS により解析した。将来的には ATL の CADM1 に特徴的な糖鎖構造を同定し、これに注目した診断・治療法の確立に結び付けたいと考えている。

### 最先端研 3P-40 最適化液体マトリックス 3-AQ/CHCA を用いたリン酸化ペプチド高感度分析

(○島津製作所 田中最先端研究所)

○[福山裕子](#)・竹山康平・岩本慎一・田中耕一

疾患関連化合物として最近大いに注目されている[リン酸化ペプチド](#)は、(リン酸付加無しの通常の)ペプチドと比べ測定困難であるとされていたが、液体マトリックスの一種 3-AQ/CHCA を最適化することにより、従来法と比較し 100 倍~[1,000 倍の高感度](#)で測定できることを解説。

謝辞: [最先端研](#)の研究・開発は、日本学術振興会の「最先端研究開発支援プログラム」からの助成を受けて行われた。