

Mass++: 質量分析データによる構造解析機能 - 糖鎖データベース検索を中心に

Mass++: Structural analysis functions for mass spectrometry data - focus on Glycan database search

森本健太郎¹・西風隆司¹・田中 聡¹・村瀬雅樹¹・船越なつ美¹・福山裕子¹・児嶋浩一¹・宇都宮真一¹・〇梶原茂樹¹・

高橋健太郎²・福田 充^{2,3}・青島 健²・小田吉哉²・田中耕一¹ 1 島津製作所 田中最先端研究所 2 エーザイ株式会社 3 アイバイオテック株式会社

K. Morimoto¹, T. Nishikaze¹, S. Tanaka¹, M. Murase¹, N. Funakoshi¹, Y. Fukuyama¹, K. Kojima¹, S. Utsunomiya¹, O.S. Kajihara¹,
K. Takahashi², M. Fukuda^{2,3}, K. Aoshima², Y. Oda², K. Tanaka¹ 1 Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology, Shimadzu Co. 2 Eisai Co., Ltd. 3 Ibio-tech Co.



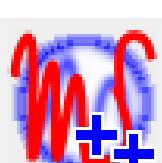
Related Presentation : 3P-05, 3P-08

1. Introduction

フリーウェアの質量分析用データ解析ソフトMass++には、様々な化合物(ペプチド、タンパク質、代謝物、核酸、糖鎖、など)を同定するため、いくつかの構造解析機能(プラグイン)が実装されている。

本発表では、糖鎖構造をデータベース(DB)から検索する機能(GlycanAnalysis)を説明するとともに、DB検索結果の統合機能(TPP Prophet)によるタンパク質の同定結果の例を示す。

2. Plug-ins for structural analysis



様々なフォーマットのデータに対して、Mass++上でピークを検出し、直接、構造解析が可能

Table 1. Plug-ins for structural analysis in Mass++

プラグイン名	機能	対象化合物	独自開発
Glycan Analysis	MS/MSによる糖鎖DBの検索 (3-1章参照)	N型糖鎖	○
PMF	MSによるDB検索 (MASCOT™ Peptide Mass Fingerprinting)	タンパク質	
MIS	MS/MSによるDB検索 (MASCOT™ MS/MS Ion Search)	ペプチド	
X!Tandem	MS/MSによるDB検索 (X!Tandem ¹¹)	ペプチド	
MS ⁿ Search	MS ⁿ (n≥2)によるDB検索 ²⁾	ペプチド	○
TPP Prophet	複数のDB検索結果の統合 (3-2章参照)	タンパク質	
SIMSE	De novo sequencing ³⁾	核酸、ペプチド、糖鎖	○
Tag Search	Sequence Tag 検索 (ポスター3P-05参照)	生理活性ペプチド	○
MassBank Search	MassBank ⁴⁾ の検索 (ポスター3P-08参照)	代謝物	

3. Methods and results

3-1. Glycan Analysis

3AQ (3-Aminoquinoline) 化することで中性糖鎖の負イオンをMALDIで高感度に分析する方法^{5), 6)}を利用し糖鎖構造を同定

方法

DB内の糖鎖構造を参照して、診断イオン⁷⁾⁻⁹⁾の理論的フラグメントイオン質量と一致するMS/MSのピークを見つけ、候補糖鎖を抽出する(Fig.1)。検証のため、候補糖鎖の構造と一致するMS/MSのフラグメントイオンをアサインして表示する(Fig.2)。

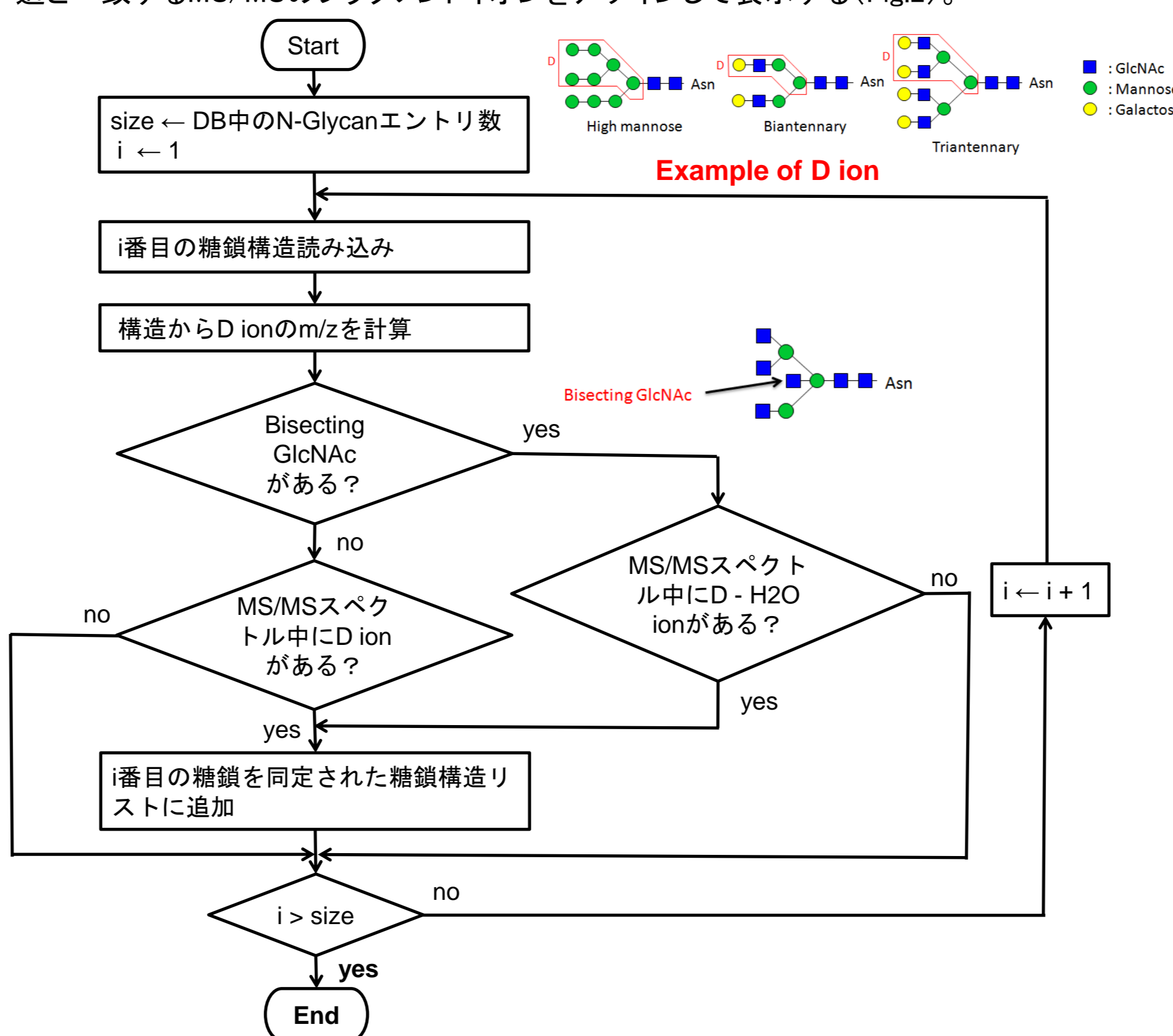


Fig. 1. Flowchart of searching candidates using diagnostic ions

結果

High mannose型糖鎖 (Man 9) を測定したMS/MSをGlycan Analysisプラグインで解析し、2つの候補糖鎖が得られた。1つは実際に測定に用いた糖鎖と同じであり、もう1つは3-antenna末端のManがGlcに置き換わった糖鎖であった。(ManとGlcはエピマーでありMSでの区別は困難)

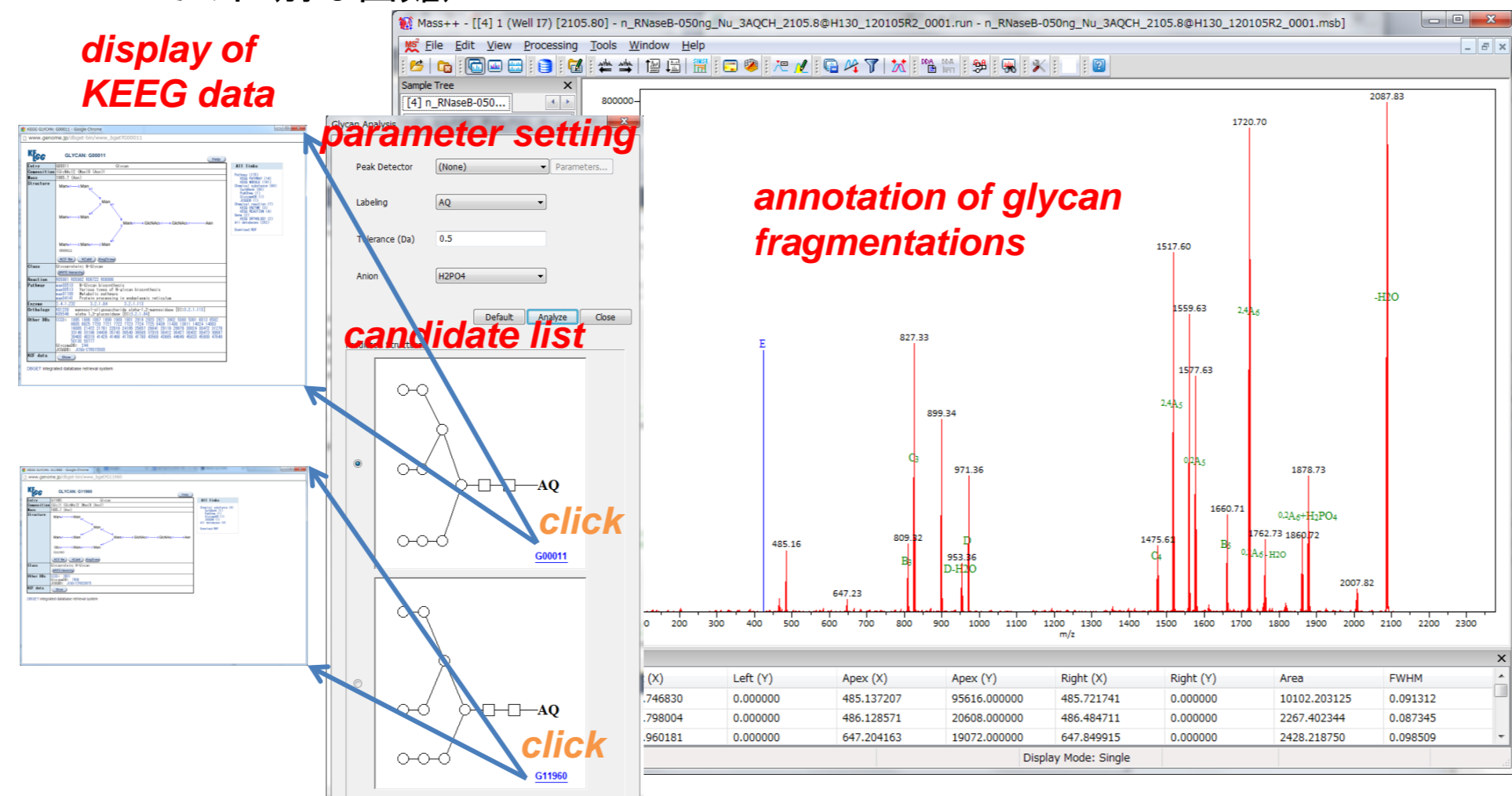


Fig. 2. Result of Glycan Analysis plug-in

3-2. TPP Prophet

SPC (Seattle Proteome Center) で開発されたTPP (Trans-Proteomic Pipeline) に含まれる3つのソフトを利用し、MASCOTとX!Tandemの結果を統合しタンパク質を同定

方法

Mass++の同定済みDBから、MASCOTとX!Tandemの同定結果を選択し、同定結果の統合ソフト (Table 2) を実行する。結果はブラウザで表示される (Fig.3)。

Table 2. Prophet software in TPP

ソフト名	機能
PetideProphet ¹⁰⁾	各検索エンジンのスコアを、ペプチド同定の正答確率に変換
iProphet ¹¹⁾	ペプチド同定の正答確率を補正 e.g. 同じ配列で複数回計測されたペプチドの正答確率をより高く評価する
ProteinProphet ¹²⁾	ペプチド同定の正答確率を用いて、タンパク質がサンプル中に存在する確率を算出

結果

5種類のタンパク質 (ADH1_YEAST, ENO1_YEAST, PYGM_RABIT, ALBU_BOVIN, HBB_BOVIN) のトリプシン消化物をMASCOTで検索すると、正しいタンパク質以外にも、ランク上位でヒットするものが多かった。X!Tandemの同定結果とともに、TPP Prophetプラグインで解析すると、正しいタンパク質がランク1位~4位と12位で同定できた。

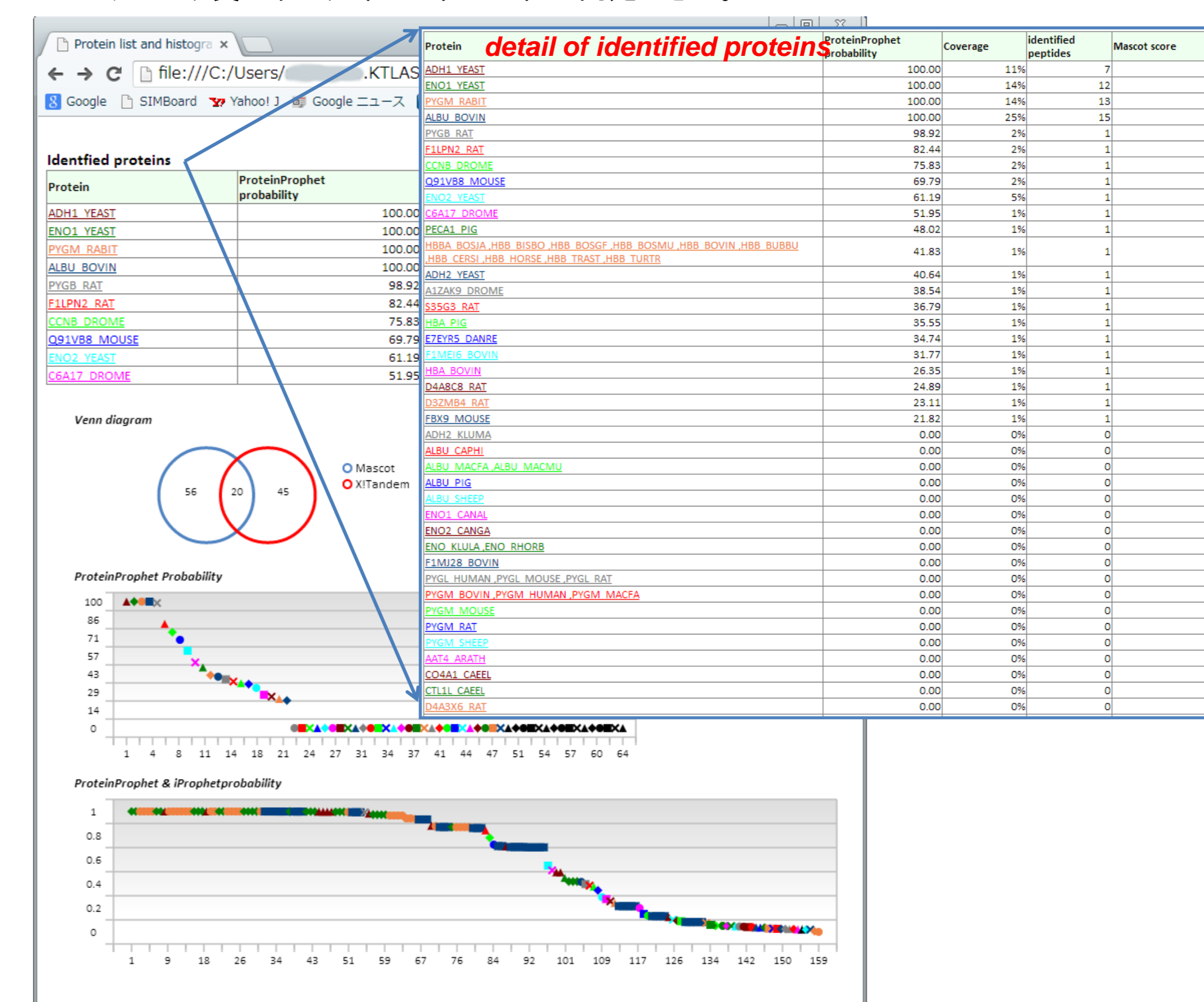


Fig. 3. Result of TPP Prophet plug-in

References

- [1] Craig et al, Bioinformatics, 20, 1466-1467 (2004)
- [2] Morimoto et al, ASMS 59th, MP445
- [3] Murase et al, ASMS 58th, TP148
- [4] Horai et al, J. Mass Spectrom., 45, 703-714 (2010)
- [5] Kaneshiro et al, Anal. Chem. 83, 3663-3667 (2011)
- [6] Nishikaze et al, Anal. Chem. 84, 9453-9461 (2012)
- [7] Harvey, D. J. J. Am. Soc. Mass Spectrom 2005, 16, 622-630
- [8] Harvey, D. J. J. Am. Soc. Mass Spectrom 2005, 16, 631-646
- [9] Harvey, D. J. J. Am. Soc. Mass Spectrom 2005, 16, 647-659
- [10] A. Keller et al., Anal Chem 74, 5383-92 (2002)
- [11] D. Shteynberg et al., Mol Cell Proteomics, 10, M111.007690 (2011)
- [12] N. Alexey et al., Anal Chem 75, 4646-58 (2003)

Acknowledgment

本研究は、内閣府/日本学術振興会・最先端研究開発支援プログラムの支援を受けています。

4. Conclusion

- Mass++では、
- 新規に開発された分析法を有効利用するための独自機能 (Glycan Analysis)
- 他の研究機関で開発されたソフトを利用する機能 (TPP Prophet) など、様々な構造解析機能を容易に利用できる。