

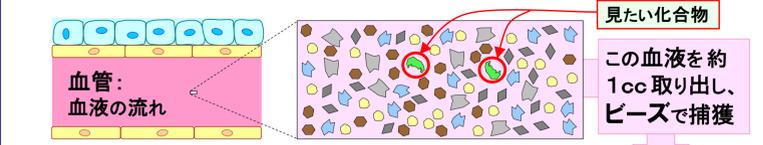
次世代質量分析システム開発と創薬・診断への貢献 (2/3)

Development of the next generation mass spectrometry system, and contribution toward drug discovery and diagnostics

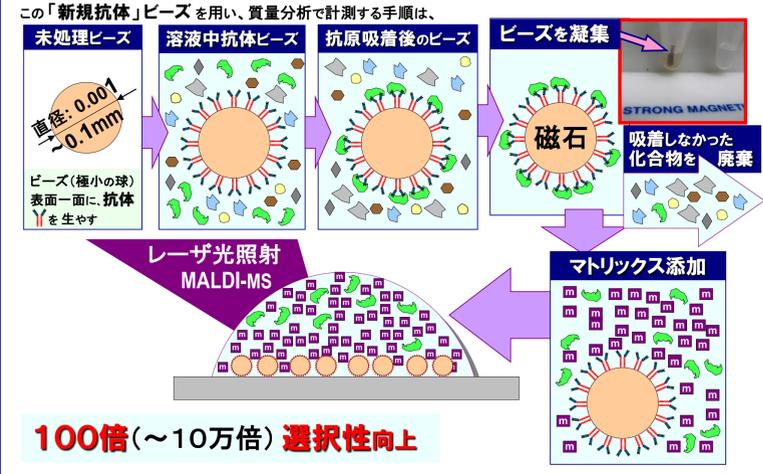
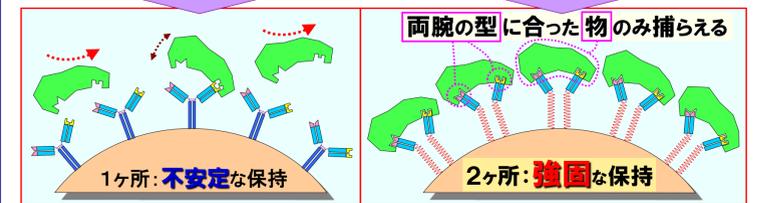
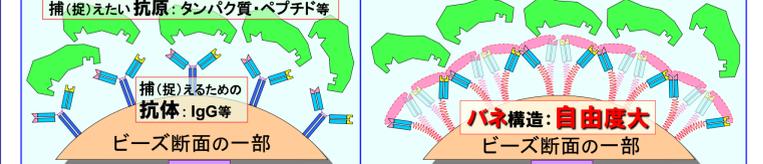
(研究・開発した)「次世代質量分析システム」は、



新規抗体ビーズによる超高選択性 (100~10万倍)

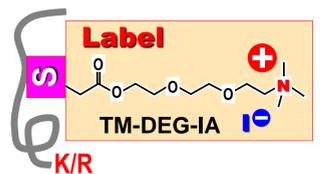


従来抗体ビーズ法 v.s. 新規抗体ビーズ法



予め電荷を付加することで超高感度化 (200倍)

ほとんどのタンパク質は、構造安定化のための“ジスルフィド結合”(アミノ酸の1種システインCysどうしで橋渡し)を持っています。タンパク質丸のままでは構造(例:アミノ酸配列)が分かり難いため、まずはジスルフィド結合を解き、安定化のためにCysに化合物を付加し、Trypsin等で酵素消化して断片化した後にMS, MS/MS測定する場合があります。本PJでは、Cys化合物付加用に新規化合物“TM-DEG-IA”を考案・合成し、予め電荷を付加可能(イオン化容易)、更に(MALDIに適した)親水性向上により、最大**200倍高感度化**を可能にしました。

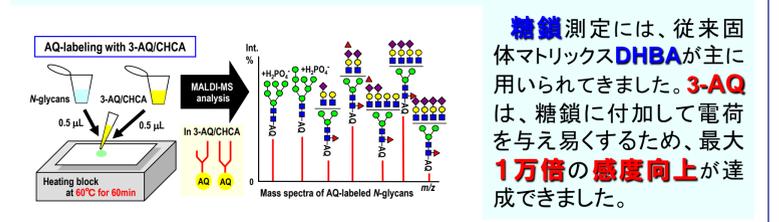


イオン化(数例)

マトリックス液状化による超高感度化 (100~1万倍)

質量分析はイオン生成を主に真空中で行います。真空中では「液体は蒸発」という常識があったため、液状のマトリックスは不適切と思われてきました。「**イオン液体**」は、主に固体のカチオンCationとアニオンAnion化合物を混ぜて液状になったものであり、当PJでは 応用の1つである「**液体マトリックス**」を多種類開発しました。液状であるため、以下の特徴があります。

- ・ 固体よりも**気化**が容易(高感度化とソフトなイオン化に貢献が期待できる)
- ・ 固体よりも**親水性**試料と良く混ざる(定量性・再現性の向上が期待できる)
- ・ 適切な表面張力により、溶媒気化時(右図参照)に分析対象物(数10倍に)濃縮可能
- ・ 液体内での**化学反応**の「場」であることを活用可能



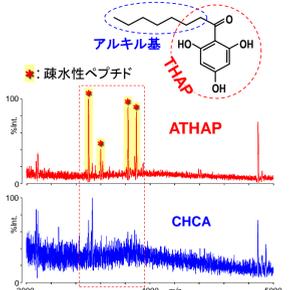
リン酸ペプチドは、多くの疾患・老化に関連していると言われています。**3-AQ/CHCA**を用いる事により最大**1万倍の感度向上**が達成できました。

糖ペプチドも、多くの疾患に関連していると言われています。**3-AQ/CA**を用いる事により**ソフト(分解極小)かつ最大100倍の感度向上**が達成できました。

CHCABは、既に他グループで開発されていましたが、本PJで**イオン発生持続性大幅向上**、**定量性・再現性の高さの改良**を行えました。

疎水性ペプチドも高感度化 (10~100倍)

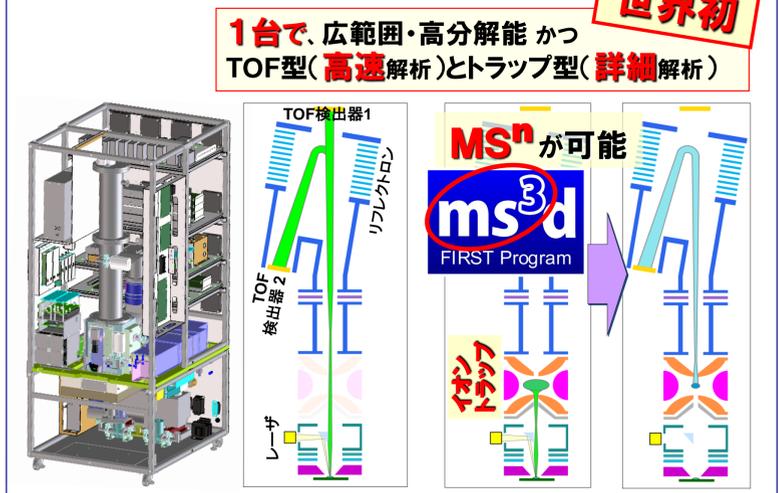
MALDIは、(エレクトロスプレーイオン化法ESIと比べると)親水性化合物検出を得意としていますが、本PJでは 更に**疎水性**ペプチドへの展開をも試行しました。THAP(2,4,6-Trihydroxy acetophenone)は、これまで核酸関連物質等 親水性化合物検出に用いられていましたが、カルボキシル基部位に(疎水性基の代表)アルキル基を付加した**ATHAP**を合成し、従来のCHCAより**10~100倍高感度**検出可能である事が分かりました。



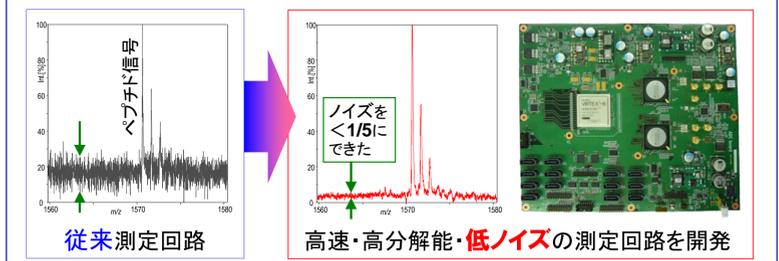
ハードウェア

構造情報も高速・高精度で入手するハード (10x10)

質量分析には、主に 1. 丸のままの大きさを高速に測る 2. 中身を詳しく見る (MSⁿが可能) 2種類の装置があります。従来は、専用の個別装置を用いていましたが、本PJでは1台にまとめかつ両者の性能を大幅に高めました。

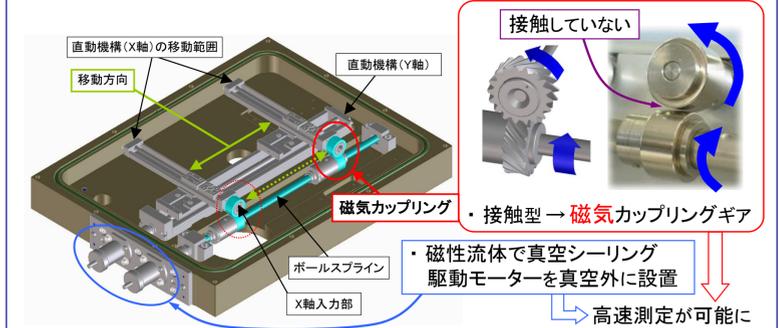


具体的な1例は、測定回路の高性能化です。独自に開発したDigitizerにより、ノイズを1/5以下(実質感度Up)にできました。(それ以外も含め10倍以上性能向上)



通常 MALDIでは、同時に数百個以上の試料を装置に導入します。それらを短時間で測り終えるためには、X軸、Y軸 両方に動くステージを 素早く動かす事が必要条件の1つです。

本PJでは、駆動モーターを真空外に設置、磁気カップリングで動力伝達する設計に成功し、**10倍スピードアップ**を可能にしました。



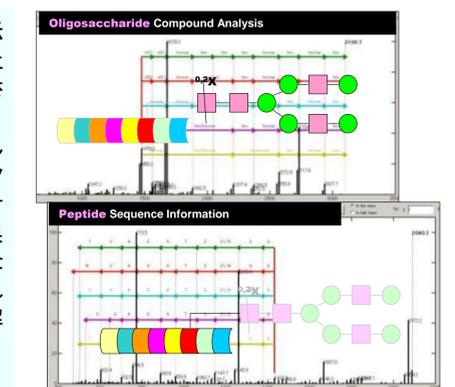
ソフトウェア

質量分析には、表示・解析用のフリーソフト (フリーウェア)として既に「Mass++ 1.7」が開発 (JST/CREST)されています。



翻訳後修飾用構造解析ソフトの開発

タンパク質の大部分は、遺伝子情報から“翻訳”された後に様々な化学変化(修飾)が施されます。特に糖鎖の付加した**糖(タンパク質及び)ペプチド**は、アミノ酸配列から横に伸びています(糖鎖の変化が疾患の原因・結果である場合が多い)。更に様々な種類の糖を含む分岐構造をしているため、これまで十分な解析が行えませんでした。当PJでは“**SIMSE**”を開発、糖ペプチドのMSⁿデータに対し、自動で配列・組成候補を導き出せるようにしました。この他にも、多数の構造解析ソフトを開発(例:生理活性ペプチド同定)・公開しています。



差異解析ソフトの開発

健康者・患者グループのMSデータを比較、グループ間差異(バイオマーカー)を見つけるため、高感度・高精度なピーク検出・定量アルゴリズムを独自に開発しました。ピークの大きさを統計的に解析し(t/U検定、多変量解析)、有意な差があるピークをバイオマーカー候補として抽出し、ピーク形状や差異を視覚的に確認することが可能です。

