

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

平成26年9月5日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団
会 長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 農学研究科

職 名・学 年 助 教

氏 名 宮 下 正 弘

助成の種類	平成26年度・研究者交流支援・国際研究集会発表助成／一般		
研究集会名	第20回国際質量分析会議		
発表題目	N-terminal Charge Derivatization for Discrimination between Leu and Ile in Peptides by High-Energy CID MS/MS Analysis		
開催場所	スイス・ジュネーブ		
渡航期間	平成26年8月23日 ～ 平成26年8月30日		
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()		
会計報告	交付を受けた助成金額	250,000 円	
	使用した助成金額	250,000 円	
	返納すべき助成金額	0 円	
	助成金の使途内訳	旅費 160,000 円 (バス賃 3,000円、航空賃 157,000円)	
		宿泊料 90,000 円	
		合計 250,000円	
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 今回の助成のおかげで、重要な国際学会への参加が可能となり大変助かりました。		

成果の概要

農学研究科 助教
宮下正弘

今回の国際研究集会発表助成により、スイス・ジュネーブにて8月24日から28日の5日間にかけて行われた第20回国際質量分析会議に参加し、筆者自身の研究発表を行うとともに、最新研究の情報を収集することができた。以下にその成果について報告する。

国際質量分析学会は50年以上の歴史をもち、International Mass Spectrometry Foundation (IMSF) が、3年に一度（今回から2年に一度）のペースで行う学術集会である。本学会は質量分析に関する幅広い分野を網羅しており、今回は1100人を超える参加者が世界各国から集まった。口頭発表は4つの会場に分かれて行われ、全部で45のセッションが設定された。各セッションには基調講演が含まれ、各研究分野を代表する研究者が最新の研究結果を含む様々な内容の講演を行った。また特別講演として計6演題行われた。筆者は主にペプチド・タンパク質の構造解析に関する研究において質量分析を活用しており、それに関連する話題として、プロテオミクス、イオンモビリティ質量分析、タンパク質定量などがあつた。

まず、プロテオミクスに関する研究においては、最近のトピックスである高分解能質量分析計を用いた top-down プロテオミクス手法についての発表に興味を引かれた。この講演では、同じ遺伝子から発現するタンパク質には、翻訳後修飾などが異なる複数のタンパク質 (proteoform) が存在し、真の生命現象の理解には、proteoform の中の一つ一つのタンパク質を特異的に検出・定量する必要があることが述べられた。さらに、この目的を達成するには、タンパク質を酵素などで分解せずにそのまま質量分析計で同定・定量する必要があること、さらにその同定のためには装置内での断片化に ETD を使うことで、より高精度な結果が得られることが示された。

次に、イオンモビリティ質量分析に関する研究として、タンパク質の立体構造解析についての発表が多く見られた。イオンモビリティ質量分析では、イオンモビリティ部分によって化合物の断面積、つまり立体的大きさによって分離した後、質量分析部分へ導入する。このことは逆に、イオンモビリティ部分での挙動から化合物の断面積を推定することができる。実際にこの手法を用いて、タンパク質の詳細な立体構造情報を得た研究結果についての多くの報告があつた。

タンパク質の定量研究については、化学修飾と ICP-MS を組み合わせた定量手法に関する発表が興味深いものであつた。この研究においては、希土類であるランタノイドと複合体を形成する構造を、タンパク質のシステイン残基に導入し、ランタノイドの量を ICP-MS で定量することによってタンパク質の絶対的な量を測定する。ICP-MS

によるランタノイドの測定感度は極めて高いため、結果としてタンパク質を高感度で定量することが可能である。一方、一般的に用いられるタンデム型質量分析計による定量では、特定の質量を持つイオンを選択し、それを装置内で分解した後に生成するフラグメントイオンをモニターすることによって行われている。この場合、その化合物についての構造情報が必要になるが、最近この情報がなくとも定量を可能にする技術が考案された。これは SWATH 法と呼ばれ、ある一定の幅の質量をすべて取り込んで分解し、得られたフラグメントをすべて測定する。得られたフラグメントデータをコンピュータで読み取り、自動的に帰属して各タンパク質の量を測定するため、一回の測定ですべてのタンパク質の定量が可能である。本学会においても、この手法による生体内の様々なタンパク質の量的変動の解析結果が多く報告されていた。

一方、ポスター発表は4日間に分かれて行われ、約 800 演題の発表があった。筆者は今回の学会において「N-terminal Charge Derivatization for Discrimination between Leu and Ile in Peptides by High-Energy CID MS/MS Analysis」という演題でポスター発表を行った。この研究は、質量分析法によっては現状では難しい、未知のタンパク質やペプチドのアミノ酸配列決定法の改善を目的として行ったものである。質量分析法による配列決定法の問題は、ペプチドのフラグメンテーションが不完全であるために、配列決定に必要なフラグメントイオンが全て得られないことが原因となっている。申請者はこれまでにフラグメンテーションを改善することを目的として、ペプチドの N 末端へ正電荷を持つ構造による化学修飾を行い、その有用性を示してきた。本研究では、通常用いられる低エネルギー衝突誘起解離では難しいロイシン (Leu) とイソロイシン (Ile) の区別を、高エネルギー衝突誘起解離によるフラグメンテーションに基づいて確実にを行うための新たな手法の開発について行ったものである。種々の検討の結果、Leu/Ile の確実な区別のためには N 末端への正電荷をもつ構造による化学修飾が有効であり、その修飾構造にはある一定以上の電荷の強さがないと効果がないことを明らかにした。また、それを利用した生理活性ペプチドの解析への応用例についても報告した。この発表に関して、他の参加者からは、その意義や有効性に関する質問を受け、今後の研究において非常に有意義な討論をすることができた。

最後になりましたが、今回の助成により国際学会への参加ならびに研究発表という貴重な経験をさせていただくことができました。この場を借りて京都大学教育研究振興財団に心より御礼申し上げます。