

受付 ID	16a31
分野	生命

質量分析による生体分子同定技術に関する基礎研究

Fundamental Investigation of Biomolecule Fragmentation on Mass Spectrometry

浅川 大樹

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

1. 研究目的

質量分析は、高感度かつ、複雑な混合物試料でも測定可能であるという特徴から、タンパク質をはじめとした生体分子の分析に広く用いられている技術であるが、タンパク質分子の同定にはデータベース検索に頼る部分が多く、新規化合物の同定を行うのは非常に困難であるのが現状である。化合物の同定が困難であることの原因は、生体分子を質量分析計内でフラグメンテーションさせ得られる構造情報を正確に解釈できないからである。すなわち新規化合物の同定を効率的に行うためには、質量分析におけるフラグメンテーションを体系的に理解することが必要である。

本研究では、特に電子捕獲解離(ECD)、電子移動解離(ETD)と呼ばれる、電子とタンパク質イオンの再結合反応に伴うラジカル化を利用したフラグメンテーション過程について研究を行う。この ECD、ETD のメカニズムを明らかにすることで、質量分析によるタンパク質の同定をより正確なものにすることができると期待される。

2. 研究成果の内容

従来、ECD/ETD における分解反応はタンパク質に付加したプロトンの中性化によるものと考えられているが、計算化学からのアプローチで、タンパク質主鎖のカルボニル酸素への電子付加による分解も起こりえると報告されている。どちらの経路が ECD、ETD における主要な分解過程であるか、明らかにするために、私は分子内にプロトンを持たない亜鉛-ポリヒスチジン複合体を計算化学のアプローチから設計した。この計算結果に基づき、当該複合体の気相イオンを生成に成功し、タンパク質主鎖のカルボニル酸素への電子付加による分解のみの検出が可能となった。このプロトンを含まない金属ペプチド複合体と負イオンの反応 (ETD) では、プロトン化タンパク質の分解反応と同様の分解が誘起されることがわかった。これは、タンパク質主鎖のカルボニル酸素への電子付加による分解反応であることを強く示唆する重要な結果である。この分解反応経路について M06-2X/LanL-2DZ/6-31++G(2d,p)を用いた密度汎関数法で解析を行った。一方で、電子と亜鉛-ヒスチジン複合体の反応 (ECD) では水素ラジカルの脱離を伴ったペプチド結合の切断が起こるこ

とがわかった。Time dependent DFT 計算を行ったところ、この反応では電子がヒスチジンの側鎖に付加する励起状態となることを強く示唆する結果を得た。

さらにこの基礎研究で得られた知見をリン酸化ペプチドの分析に応用するために、リン酸基と特異的に結合する亜鉛錯体を用いた。この亜鉛錯体添加により、リン酸化ペプチド検出の高感度化、および ETD によるシークエンシングの高精度化が可能となった。本研究においても ETD による分解の経路について M06-2X/LanL-2DZ/6-31+G(d,p)を用いた密度汎関数法で解析を行った。

3. 学際共同利用として実施した意義

学際共同利用により、ECD/ETD のメカニズムの本質にアプローチし、実験のみでは得ることのできない情報を得た。さらに、この基礎的な知見を応用することで、リン酸化ペプチドのアミノ酸配列解析の高精度化を達成した。

4. 今後の展望

今後は DFT 計算を用いて、リン酸化ペプチドとの結合定数がより高い、タンデム質量分析法に適した金属錯体の設計を行い、分析の高感度化を目指す。

5. 成果発表

(1) 学術論文

1. [D. Asakawa](#), E. De Pauw, J. Am. Soc. Mass Spectrom. **2016**, *27*, 1165-1175
2. [D. Asakawa](#), I. Osaka, Anal. Chem. **2016**, *88*, 12393-12402

(2) 学会発表

1. 浅川大樹、他、プロトンを含まない亜鉛-ポリヒスチジン複合体の電子捕獲・電子移動解離過程、第64回質量分析学会総合討論会
2. D. Asakawa, E. De Pauw, Difference of Electron Capture and Transfer Dissociation Mass Spectrometry on Zn²⁺-Polyhistidine Complexes in the Absence of Remote Protons, 64th ASMS Conference
3. 浅川大樹、大坂一生、金属錯体添加を利用した電子移動解離タンデム質量分析法によるリン酸化ペプチドのアミノ酸配列解析、新アミノ酸分析研究会第6回学術講演会

使用計算機	使用計算機に○	配分リソース*
HA-PACS		
HA-PACS/TCA		
COMA	○	1080
※配分リソースについては 32node 換算時間をご記入ください。		

