

LC-IM-TOFMSによるトリプシン消化タンパク質の異性化状態解析

鈴村 莉央

タンパク質中のアミノ酸残基は、加齢に伴い異性化を起こすことが知られており、特にアスパラギン酸 (Asp) 残基の異性化は、白内障やアルツハイマー病などの加齢性疾患との関連が報告されている。そのため、タンパク質の異性化状態の分析は重要であるものの、異性化は質量変化を伴わないため、質量分析 (MS) の単純な利用では異性体判別が困難である。そのため、一般的には、液体クロマトグラフィー (LC) による異性化ペプチド分離を行い、MS/MS による解析を行う手法が用いられている。また、LC におけるジステレオマー分離を向上させるためのペプチド標識法や、LC-MS と酵素処理を組み合わせる異性体の種類を同定する手法も報告されている。

本研究では、液体クロマトグラフィー-イオンモビリティ飛行時間型質量分析 (LC-IM-TOFMS) を用いて、タンパク質の異性化状態解析手法の確立を試みた。異性化を促進した卵白リゾチーム (LZM) のトリプシン消化物を解析した結果、T12 および T8 ペプチドにおいて異性化が生じていることを確認した。また、フラグメントイオンの強度パターンおよびモビログラムを解析したところ、これらの結果から異性化部位および異性体種識別の可能性があることが示された。フラグメント強度パターン、および、モビログラム変化を数値的に評価するために、コサイン類似度解析を導入することで、目視評価のみでは判断が困難な場合においても、異性化状態を数値的に評価することに成功した。また、本手法は複数の異性化部位が同時に存在するペプチドに対しても有効であることが示唆された。LZM の T8 ペプチド脱アミド体におけるフラグメントイオンのモビログラムコサイン類似度を解析したところ、3 か所のアミノ酸残基で異性化していることが判断できた。モビログラムのみでは異性化部位の誤った解釈に至る可能性があったため、MS/MS スペクトルとの対応関係を丁寧に検討し、多角的な評価を行った。本研究で用いた解析アプローチは、異性化タンパク質の網羅的かつ高精度な解析を可能とするための基盤技術となるものであり、加齢性疾患関連タンパク質の基礎研究や、品質管理が求められるバイオ医薬品評価への応用が期待される。

この研究を通して、異なる現象を反映するデータを照らし合わせながら「異性化」という一つの現象を多角的に捉え、その理解を深めていく姿勢を身に着けてきた。この経験から、現在は、分析によって得られる知見を実際の製品や技術の改善へと結びつけ、ものづくりの現場における品質と信頼性を支える役割を担いたいと考えている。特に、製造工程で生じる不具合の要因を丁寧に見極めることで、安定した品質の確保や生産力の向上に貢献したい。研究を通じて培った論理的思考力や広い視野を活かし、研究と製造をつなぐ立場から、社会に長く信頼される製品づくりを実現することが目標である。そして将来的には、データに基づく地道な改善を積み重ねることで「不良品ゼロ」の未来を形にしたい。

● 鈴村 莉央 (SUZUMURA Rio)

名古屋工業大学大学院工学研究科工学専攻生命・物質化学プログラム
(〒466-8555 名古屋市昭和区御器所町)。