

# ペプチド切断の質量分析計による解析

質量分析とは、質量分析計 (MS) を用いることで、目的の化合物 (NMRやX線結晶解析の千分の一から十万分の一の nano-gramオーダーの試料) をイオン源で気体状のイオンにし、生成したイオンを質量と電荷の比で分離しスペクトラを得ることである。近年プロテオーム解析が注目されているが、これらを支援する基礎技術の実験手法の一つとしてタンパク質やペプチドから切断されたフラグメントを信頼性高く、高感度で同定できる MS 実験の重要性が増している。

筆者は、当研究センター細胞情報科学チーム高橋勝利<sup>1)</sup>研究チーム長と共に、生体関連分子を効率的にイオン化できるエレクトロスプレーイオン化法を用い、タンデム四重極-飛行時間型 MS や卓越した分解能と精度に特徴があるフーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴 MS<sup>2)</sup> を使用し、切断部位を探るフラグメント同定を行っている。その際、タンデム質量分析計を使った衝突誘起解離実験ではイオンを電場によって加速させ、不活性ガスを充たした領域に入射し、衝突の際のエネルギー移動を利用して親イオンを解離させる<sup>3)</sup>、ま

たレーザーを用いたペプチド結合切断では超高真空に閉じ込められたイオンに強力な CO<sub>2</sub> レーザー光を照射し、赤外多光子吸収を利用する技法を用いた (図1)。

これらの実験に対し、分子軌道法や分子動力学などの分子シミュレーションによりペプチドやタンパク質の切断箇所を予測し、解析のスピードを上げることが可能となった。分子軌道計算では網羅的にペプチドボンドの Binding Energy (C'-N結合) やペプチド上の Mobile/Remote Proton を考慮し Proton Affinity 計算を実行した (図2)。また分子動力学解離シミュレーションを用いて解離部位における切断の確率分布を統計的に計算すること<sup>4)</sup>で、あらかじめコンピューターを使って切断箇所を予測し、選択的切断箇所などを調査することができること分かった。これらの網羅的・統計的な計算に際し、強力な計算パワーを有する CBRC Magi PC クラスタ<sup>5)</sup>や産総研先端情報計算センターの TACC Quantum Chemistry GRID/Gaussian Portal システムを使用した。今後これらの研究の蓄積が、プロテオーム解析の高速化・並列化に繋がると期待される。

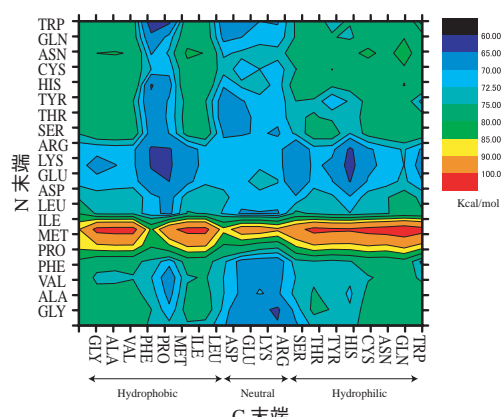
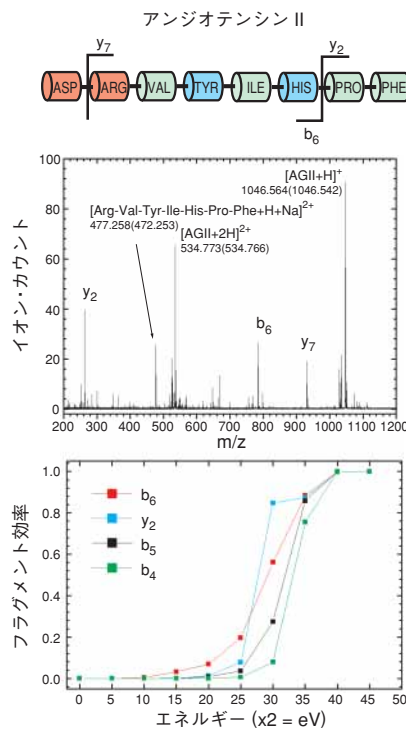


図2 N末端およびC末端を考慮した20個のアミノ酸の組み合わせでできるジペプチドの網羅的結合エネルギー解析

図1 フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析計で得られたアンジオテンシンIIのスペクトル (上) と衝突誘起解離によるプロダクト・イオン (下) アミノ酸配列ASP-ARGとHIS-PRO切断から主に観察されたフラグメント・イオンタイプ b<sub>6</sub>、y<sub>2</sub>



ふくい かずひこ  
福井一彦  
k-fukui@aist.go.jp  
生命情報科学研究センター

### 関連情報

- 1) 高橋勝利：タンパク質2次元電気泳動像の自動解析, AIST Today Vol. 2, No. 2, p10 (2002).
- 2) Akashi, S., Naito, Y., Takio, K.: Anal. Chem., 71, 4974 (1999).
- 3) Gu, C., Taspralis, G., Breci, L., Wysocki, V. H.: Anal. Chem., 72, 5804 (2000).
- 4) Fukui, K., Akiyama, Y., Takahashi, K., Naito Y., "ESI-FTICR MS With Infrared Multiphoton Dissociation: Analysis of Fragmentation of Peptides", Proc. 50th ASMS.
- 5) 秋山泰：生命情報科学と大規模PCクラスタ, AIST Today Vol. 1, No. 10, p15 (2001).