【51】

氏　名（本籍）	金　澤　光　洋（東 京 都） かな　ざわ　みつ　ひろ
学 位 の 種 類	博　　士（理　　学）
学 位 記 番 号	博　甲　第　4865　号
学位授与年月日	平成 20 年 12 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	数理物質科学研究科
学 位 論 文 題 目	**Novel proteomic analysis methods using ion peak intensity of tandem mass spectrometry** （タンデム質量分析計によるイオン強度を用いた新規プロテオーム解析法）

主　査	筑波大学教授（連携大学院）	理学博士	長　嶋　雲　兵
副　査	筑波大学教授	理学博士	新　井　達　郎
副　査	筑波大学教授	理学博士	齋　藤　一　弥
副　査	筑波大学教授	理学博士	守　橋　健　二

論 文 の 内 容 の 要 旨

本学位論文では，近年の質量分析技術の飛躍的な向上によって注目される疾患関連分子や薬剤の効果，副作用の有無に関連するタンパク質を特定するバイオマーカー探索に必要となる解析技術の精度向上を目指し，質量分析スペクトルの新たな解析方法の開発を行った。

質量分析は測定分子やその解裂フラグメントの質量値を検出値として列挙するが，その質量ピーク数は膨大であり，そこから検出された分子種およびその量を目視により判断することは膨大かつ複雑なデータゆえ不可能に近く，コンピューターを用いた計算アルゴリズムが不可欠である。質量分析を用いたタンパク質同定においてはデータベースサーチ法と De novo シーケンシング法の 2 つの手法が存在する。データベースサーチ法においては，タンパク質がプロテアーゼによって消化されたタンパク質断片，質量分析により解裂したペプチド断片，またはタンパク質自身の想定質量を既知のタンパク質配列データベースから計算し，その想定質量のセットと実際のスペクトラム中の質量ピークを比較しながら入力スペクトラムに対応するタンパク質がどれであるかを決定する。しかしながら，DNA 配列のデータベースとは違いタンパク質の配列データベースは未だ十分ではないため，測定された質量スペクトルがタンパク質配列データベースに存在しない新規タンパク質の配列であることは稀ではない。このような場合，データベースサーチ法では異なったタンパク質を誤同定するか，全く同定が出来ない。

De novo シーケンシング法は，アミノ酸により構成される配列を質量スペクトラムから直接的に決定する手法である。質量ピーク間隔の組み合わせと，アミノ酸が連なって構成される考えられうるペプチド質量の組み合わせとを比較して配列データベース無しにその配列を計算する。この手法では考えられうるアミノ酸の組み合わせと，スペクトル中の質量ピーク間隔の膨大な比較が必要となるだけでなく，質量スペクトルが同定するタンパク質またはペプチドを構成する全てのアミノ酸をピークとして持つことは稀であるため，De novo シーケンス法は未知の物質に対しては必須であるが，大変難解である。

また，質量分析を用いた定量的な解析は，質量スペクトルが質量電価比（m/z）のみならず検出された分

子の量をピーク高として示すことを利用し，複数の異なるサンプル間における同一分子間のピーク高の違いを解析することで行われている。しかしながら，現状の定量解析においては，量的差異を確認するうえで必要なサンプル間で共出現する同一分子ピークを検出することが難しく，そのため充分ではない。

本研究では，質量分析スペクトルを用いた定性的および定量的なタンパク質解析のための解析手法の確立を目指した。

本論文の Chapter 1 においては，質量分析および質量分析に先立って行われる液体クロマトグラフィーにより，サンプル内に含まれる分子間を明瞭に分離するための分析手法について調査する。ここで提案する解析手法による分離技術の向上により，より多くの種類のペプチド分子を区別し定性的，定量的なデータ解析の精度向上に努めた。Chapter 2 においては，定性的な解析手法の一つとして開発した全く新しい De novo sequencing 法について報告している。この手法では，従来は考慮されていなかった検出ピーク高，つまりはイオン強度情報を用いることで従来の手法よりも高精度な解析を可能とした。ペプチド分子の解裂位置とその頻度の統計値を用い, 質量スペクトルに示されたピーク高との相関から配列決定をする評価関数を作成し，この関数によるペプチド配列同定法を確立した。

現状の質量分析によるタンパク質の定量解析においては，多くの場合，異なるサンプル間における同一の分子由来の質量ピークを検出する為に，質量分析に先立って特定の化学修飾をサンプルに施すことで標識化をおこなう。この化学修飾は特定のアミノ酸のみに作用するため，定量可能なタンパク質が限定されてしまうだけでなく，質量分析の前に実験誤差が発生することが考えられることから手法そのものが疑問視されている。そこで Chapter 3 では，化学修飾を全く用いないで定量解析を行う為の全く新しい解析手法（i-OPAL: internal standard guided Optimal Profile ALignment）を提案した。それにより，分析結果が示す溶出時間（RT），質量電価比（m/z）とイオン強度で作られる 3 次元マップを測定間で示される同一分子のピーク位置情報を補正する形でアライメントを行い，化学修飾が起こらない分子に関しても定量を可能とした。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文では，既存の質量分析を用いたタンパク質の定性的ならびに定量的な解析手法の問題を解消し，その解析精度ならびに検出限界を向上させる方法の開発をおこなったことを報告している。審査は，本方法の持つ解析精度の向上と，解析時間の縮小に関して行われ，本方法が現在広く利用されている方法と比較して格段に精度が高く，また処理速度も数倍から数十倍速いことが確認された。これによって，本方法の生命化学への有用性の高さが認められた。また本論文において開発された新しい分析手法によってバイオマーカー探索技術が向上し，バイオテクノロジーおよび医薬研究のさらなる発展に寄与できる可能性があることが認められた。

よって，著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。