

## 学 会 賞

平山和雄氏 [Science Education Co., Inc., 理学博士]

〔業績〕 質量分析計を用いたタンパク質およびペプチドの構造研究



平山和雄氏は、東京工業大学大学院理工学研究科 池川信夫助教授（当時）の指導で修士課程を終了後、1971年に味の素(株)に入社した。味の素(株)では、中央研究所で天然有機化合物の合成研究を行い、1980年代半ばより質量分析を用いたタンパク質の構造研究を開始した。また、その研究をまとめ、1986年に東京工業大学から理学博士が授与されている。

平山和雄氏のタンパク質の構造研究の代表的な業績は以下の三つに分けられよう。(1) 現在のプロテオミクス研究の一つの潮流である「トップダウンプロテオミクス」の原型、すなわち最初にタンパク質の正確な質量を決定し、続いてタンパク質から得られるペプチド断片の配列解析を行うことで、タンパク質の全一次構造を決定するという研究手法を1980年代に確立した。当時、タンパク質の構造研究にFAB-MSが用いられ始め、BiemannらはGC-MSと併用してNeocarzinostatinの一次構造解析を行っていた。平山氏は、Biemannらの実験を参照しながらNeocarzinostatinを酵素消化して得られるすべてのペプチドについての質量分析を手がけていた。実験を進めるに従い、Biemannらが決定したアミノ酸配列と食い違う結果が出てきた。そこで、Biemannと議論をした結果、平山氏の配列の方が正しいことがわかり、両者は独立して論文を出すこととなった。これが氏にとって、最初の質量分析を用いたタンパク質の構造研究であった。続いて、構造未知のタンパク質 $\alpha$ -アミラーゼインヒビター Paim I (7.3 kDa)の質量の決定と一次構造解析を、質量分析計とプロテインシーケンサーを駆使して行った。また、大型のFAB-MS/MSを用いて、遺伝子工学で作られた6.2 kDaのヒト表皮細胞増殖因子EGFの全一次構造をMS/MSで解析することに成功した。これらの成果は、世界最初のものであった。(2) 1990年代に巨大タンパク質であるウシ血清アルブミンの一次構造解析を、三連四重極質量分析計とFrit-FAB LC-MSを用いて行い、また、免疫グロブリンGの全一次構造および糖鎖構造の解析にはイオントラップ質量分析計を用い、質量分析法の可能性の高さおよび有用性を示し、その後数々の応用研究を展開している。(3) さらに、平山氏は、質量分析でタンパク質の高次構造情報を得るという考えがほとんどなかった1980年代に、高次構造解析や相互作用部位の解析に質量分析を用いる萌芽的研究もいち早く手がけている。His残基のH/D交換を利用し、Interleukin 2 (15.5 kDa)に存在する三つのHis残基のD化率をFABMSで求め、Interleukin 2の三つのHis残基の立体構造上の存在環境を求めることに成功している。また、N-アセチルムラミン酸の $\beta$ -1,4結合を切断する酵素Lysozymeとその阻害剤Tris (N-acetylglucosamine)との複合体をモデルとし、阻害剤の有無で化学修飾の程度および部位がどのように変化するかをトップダウン解析の手法で解析できることを示した。現在では盛んに応用研究が行われている。タンパク質の主鎖のアミド水素の重水素交換や、化学修飾および架橋反応を用いたタンパク質-タンパク質複合体の解析などはこれらの研究の線上にあり、装置の開発とともに研究分野が広がっている。

以上、これらはいずれも現在のバイオリジカルマスマスペクトロメトリーの研究発展に大いに寄与しているものである。また、所属する研究所においてはマネージャーの立場に就いた1999年以降も、タンパク質の構造研究だけでなくアミノ酸分析の研究においても幅広い視野により質量分析のみならずICPMSを用いた新しい研究アイデアを創出し自身の研究所の若手に実践させ、若手研究者の育成にも尽力してきた。

また、氏はBMS研究会事務局長として、立松 晃先生から引き継いだBMS談話会を現在のBMSコンファレンスへと発展させたことのほか、日本質量分析学会委員会委員、総合討論会実行委員、BMSコンファレンス実行委員長および委員、「バイオリジカルマスマスペクトロメトリー」および「マスマスペクトロメトリーってなに」の出版、講習会の開催開始、総合討論会での初級者向け啓蒙活動など、日本質量分析学会の発展に対して多大な貢献をしてきた。さらに、2006年には、若手活性化の場として関東談話会に「明日の質量分析を創る若手討論会」を企画開催し、2009年までに4回開催してきた。

以上、平山和雄氏はタンパク質の質量分析の分野で、世界の魁となるオリジナリティの高い研究を発展し、

今日のプロテオーム時代へとつなげるとともに、タンパク質の構造機能研究に質量分析が果たす役割をきわめて明確に示してきた。紙面では紹介しきれないが、付記した論文の数がその業績を物語っており、日本質量分析学会の学会賞にふさわしいと認められた。

#### 授賞対象業績リスト

##### 原著論文

- 1) K. Hirayama, T. Ando, R. Takahashi, and A. Murai, A revised primary structure of neocarzinostatin using the combination of endopeptidase, carboxypeptidase Y and fast-atom-bombardment mass spectrometry, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **59**(5), 1371–1378 (1986).
- 2) K. Hirayama, R. Takahashi, S. Akashi, K. Fukuhara, N. Oouchi, A. Murai, M. Arai, S. Murao, K. Tanaka, and I. Nojima, Primary structure of Paim I, an  $\alpha$ -amylase inhibitor from *Streptomyces corchorushii*, as determined by the combination of Edman degradation and fast atom bombardment mass spectrometry, *Biochemistry*, **26**(20), 6483–6488 (1987).
- 3) S. Akashi, K. Hirayama, T. Seino, S. Ozawa, K. Fukuhara, N. Oouchi, A. Murai, M. Arai, and S. Murao, A determination of the positions of disulfide bonds in Paim I,  $\alpha$ -amylase inhibitor from *Streptomyces corchorushii*, using fast atom bombardment mass spectrometry, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **15**(10), 541–546 (1988).
- 4) M. Furuya, S. Akashi, and K. Hirayama, The primary structure of human EGF produced by genetic engineering, studied by high-performance tandem mass spectrometry, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **163**(2), 1100–1106 (1989).
- 5) S. Akashi, K. Hirayama, A. Murai, M. Arai, and S. Murao, Determination of the primary structure of Paim II, an  $\alpha$ -amylase inhibitor from *Streptomyces corchorushii*, by high-performance tandem mass spectrometry, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **158**(2), 514–519 (1989).
- 6) H. Miyano, E. Suzuki, S. Akashi, M. Furuya, T. Tsuji, K. Hirayama, and N. Nagashima, Histidine microenvironment analyses of recombinant human interleukin-2 by fast atom bombardment mass spectrometry and proton magnetic resonance spectrometry, *Anal. Sci.*, **5**(6), 759–761 (1989).
- 7) K. Hirayama, S. Akashi, M. Furuya, and K. Fukuhara, Rapid confirmation and revision of the primary structure of bovine serum albumin by ESIMS and Frit-FAB LC/MS, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **173**(2), 639–646 (1990).
- 8) S. Akashi, U. Niitsu, R. Yuji, H. Ide, and K. Hirayama, Investigation of the interaction between enzyme and inhibitor by the combination of chemical modification, electrospray ionization mass spectrometry and frit-fast atom bombardment liquid chromatography/mass spectrometry, *Biol. Mass Spectrom.*, **22**(2), 124–132 (1993).
- 9) S. Murao, K. Ohkuni, M. Nagao, K. Hirayama, K. Fukuhara, K. Oda, H. Oyama, and T. Shin, Purification and characterization of kumamolysin, a novel thermostable pepstatin-insensitive carboxyl proteinase from *Bacillus novosp.* MN-32, *J. Biol. Chem.*, **268**(1), 349–355 (1993).
- 10) S. Akashi, K. Noguchi, R. Yuji, U. Tagami, K. Hirayama, K. Kato, H. H. Kim, K. Tokioka, I. Shimada, and Y. Arata, Characterization of mouse switch variant antibodies by matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry and electrospray ionization mass spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **7**(8), 707–721 (1996).
- 11) H. Sato, M. Ikeda, K. Suzuki, and K. Hirayama, Site-specific modification of interleukin-2 by the combined use of genetic engineering techniques and transglutaminase, *Biochemistry*, **35**(40), 13072–13080 (1996).
- 12) K. Hirayama, R. Yuji, N. Yamada, K. Noguchi, Y. Yamaguchi, J. Enokizono, K. Kato, Y. Arata, and I. Shimada, Convenient peptide mapping of immunoglobulin G2b and differentiation between leucine and isoleucine residues by mass spectrometry using  $^2\text{H}$ -labeled leucine, *J. Mass Spectrom.*

- Soc. Jpn.*, **46**(1), 83–89 (1998).
- 13) K. Hirayama, R. Yuji, N. Yamada, K. Kato, Y. Arata, and I. Shimada, Complete and rapid peptide and glycopeptide mapping of mouse monoclonal antibody by LC/MS/MS using ion trap mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **70**(13), 2718–2725 (1998).
  - 14) U. Tagami, S. Akashi, T. Mizukoshi, E. Suzuki, and K. Hirayama, Structural studies of the Maillard reaction products of a protein using ion trap mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.*, **35**(2), 131–138 (2000).
  - 15) T. Kashiwagi, N. Yamada, K. Hirayama, C. Suzuki, Y. Kashiwagi, F. Tsuchiya, Y. Arata, N. Kunishima, and K. Morikawa, An electrospray-ionization mass spectrometry analysis of the pH-dependent dissociation and denaturation processes of a heterodimeric protein, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **11**(1), 54–61 (2000).

#### 総説

- 1) 平山和雄, タンパク質の構造と機能の解明—プロテオーム解析から構造生物学まで—, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **48**(5), 289–297 (2000).