

## 奨 励 賞

明石知子氏 (味の素中央研究所, 薬学博士, 現理化学研究所)

〔業績〕 質量分析を用いたタンパク質および天然有機化合物の構造解析



明石知子<sup>あかしとこ</sup>さんは1983年千葉大学薬学部薬品総合科学科を卒業後、同年味の素株式会社に入社し、以来質量分析(MS)の依頼分析を行うと共に、タンパク質や天然有機化合物の構造解析にMSを用いた研究に従事してきた。そして、1991年には千葉大学より薬学博士の学位を授与されている。また、1995年4月より理化学研究所生体分子解析室に勤務している。

FDMSやFABMSといったソフトイオン化法の開発に伴い、ペプチドやタンパク質、あるいは極性の高い難揮発性の化合物も質量分析法の測定対象となり、その構造解析に質量分析法が用いられるようになった。このような中、彼女は二重収束質量分析計、高性能大型タンデム質量分析計、三連四重極質量分析計を用いてタンパク質や天然有機化合物の構造研究を進めた。

研究開始当時の1985年頃には、構造未知のタンパク質の分子量をMSで正確に決定するという例は報告されていなかったが、彼女は構造未知の $\alpha$ -アミラーゼインヒビター Paim Iの分子量を日本電子(株)の田中一夫氏の協力を得てFABMSで正確に決定し、FABMSと自動エドマン分解法を併用することにより全アミノ酸配列を決定する研究に貢献した。この研究の大きな特長は、1) タンパク質の分子量を最初にMSで決定する 2) 次にこのタンパク質を酵素で消化し、得られるペプチドの分子量をMSで正確に決定する 3) これらの分子量をもとに、もとのタンパク質を構成する重ね合わせのないペプチドを選び出す 4) これらのペプチドのみをエドマン法でアミノ酸配列を決定するという無駄のない方法論を打ち立てたことである。この方法論は以降の研究に一貫して用いられている。さらに、当時は構造未知のタンパク質のS-S結合の位置をMSで決定した例はなかったが、彼女はPaim IのS-S結合の位置をMSを用いて決定し、MSの有用性を世に示した。引き続き、構造が若干異なるPaim IIのアミノ酸配列を、日本に初めて導入された高性能大型タンデム質量分析計を用いて決定した。この研究の特長は、酵素消化して得られるペプチドのうち、Paim Iと構造が異なるペプチドをMSで選び出し、そのペプチドのアミノ酸配列のみをMS/MS(product ion scanning)で決定するという合理的な方法論にある。

タンパク質やペプチドの構造解析において活躍できる質量分析法がFABMSだけであった時代から、1980年代後半にはエレクトロスプレー質量分析法(ESIMS)が、また、1990年代に入るとマトリックスアシステッドレーザーデソープション質量分析法(MALDI-MS)が実用化され、市販の質量分析装置にこれらイオン源が搭載されたことにより、タンパク質をはじめとする生体高分子の構造解析における質量分析法の重要性がますます高まった。このような状況の下、ESIMSによりウシ血清アルブミン(BSA)の分子量を正確に測定し、1975年から1980年にかけてタンパク質側から決定・報告されていたアミノ酸配列から計算される分子量(66267)よりも、約160大きいことに気づき、LC/Frit-FABMSとMS/MSを用いて正しいアミノ酸配列を決定した。これは、分子量が6万を超えるような巨大なタンパク質のアミノ酸配列の研究にも、MSが大変有効な方法であることを明らかにした意義深い研究である。また、MALDI-TOFMSが実用段階に入った現在、キャリブレーション・スタンダードとして、このウシ血清アルブミンが世界中で用いられていることを考えると、質量分析の世界に大きく貢献した研究といえる。

さらに、タンパク質の一次構造研究を一步推し進め、タンパク質の高次構造に関する情報をMSで得る研究を展開した。彼女は、卵白リゾチームの表面のアミノ酸残基を化学修飾することにより、表面に存在するアミノ酸残基をMSで決定する手法を開発した。この手法を用いて、阻害剤が存在するときには修飾を受けないアミノ酸残基が存在することを見出し、阻害剤との相互作用に直接関与するタンパク質中のアミノ酸残基をMSで決定することに成功

した。今まで、このような相互作用に関するアミノ酸残基は、X線結晶構造解析やNMRでしか決定できなかったが、MSでも解析が可能であることを示したこの研究は、MSの検出感度が他の分析法に比べ格段に高いことを考えると極めて有意義と言える。

一方、天然有機化合物の構造研究では、アンストラサイクリン系抗生物質Cosmomycinの構造研究にFDMSおよびそのlinked scan法が有用であることを1987年に示している。さらに、1993年にはインドの薬用植物*Annona squamosa*から単離されたpolyhydroxybis(tetrahydrofuran)acetogenin類の構造決定に、FAB法によるprecursor ion scanningでcharge remote fragmentationを観測することにより、水酸基およびテトラヒドロフラン環の位置を容易に決定できることを示した。これらの研究は、天然有機化合物の構造研究には、NMRが主に用いられており、多量の試料を必要とする現状を考えると、微量の試料で構造解析が可能であるというMSの利点を生かした研究である。

以上示した様に、タンパク質や天然有機化合物の構造研究に質量分析法を用いる研究を、明石さんは1986年から開始し、質量分析の発展に世界的に貢献したことを考えると、日本質量分析学会奨励賞受賞に値すると認められた。また、候補者は企業の研究所に所属し、数多くの依頼分析を行ないながら、質量分析学の進歩に貢献する研究を行った事は、大いに賞賛に値すると思われる。

#### 主要文献リスト

- 1) K. Hirayama, R. Takahashi, S. Akashi, K. Fukuhara, N. Oouchi, A. Murai, M. Arai, S. Murao, K. Tanaka, and I. Nojima, *Biochemistry*, **26**, 6483-6488 (1987).  
Primary Structure of Paim I, an  $\alpha$ -Amylase Inhibitor from *Streptomyces corchorushii*, Determined by the Combination of Edman Degradation and Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry.
- 2) S. Akashi, K. Hirayama, T. Seino, S. Ozawa, K. Fukuhara, N. Oouchi, A. Murai, M. Arai, S. Murao, K. Tanaka, and I. Nojima, *Biomed. Environ. Mass spectrom.*, **15**, 541-546 (1988).  
A Determination of the Positions of Disulphide Bonds in Paim I,  $\alpha$ -Amylase Inhibitor from *Streptomyces corchorushii*, Using Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry.
- 3) S. Akashi, K. Hirayama, A. Murai, M. Arai, and S. Murao, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **158**, 514-519 (1989).  
Determination of the Primary Structure of Paim II, an  $\alpha$ -Amylase Inhibitor from *Streptomyces corchorushii*, by High-Performance Tandem Mass Spectrometry.
- 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**, 1100-1106 (1989).
- 5) 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**, 759-761 (1989).
- 6) K. Hirayama, S. Akashi, M. Furuya, and K. Fukuhara, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **173**, 639-646 (1990).  
Rapid Confirmation and Revision of the Primary Structure of Bovine Serum Albumin by ESIMS and Frit-FAB LC/MS.
- 7) S. Akashi, U. Niitsu, R. Yuji, H. Ide, and K. Hirayama, *Biol. Mass Spectrom.*, **22**, 124-132 (1993).  
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.
- 8) K. Hirayama, S. Akashi, T. Ando, I. Horino, Y. Etoh, H. Morioka, H. Shibai, and A. Murai, *質量分析*, **35**, 31-41 (1987).  
Field Desorption Mass Spectrometry of Anthracycline Antibiotics, Cosmomycin A, B, A', B', C and D.
- 9) K. Hirayama, S. Akashi, T. Ando, I. Horino, Y. Etoh, H. Morioka, H. Shibai, and A. Murai, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **14**, 305-312 (1987).  
Field Desorption Tandem Mass Spectrometry of Anthracycline Antibiotics, Cosmomycin A, B, A', B', C and D.

- 10) K. Hirayama, S. Akashi, R. Yuji, U. Niitsu, and Y. Fujimoto, *Org. Mass Spectrom.*, **28**, 1516-1524 (1993).  
Structural Studies of Polyhydroxybis(tetrahydrofuran)acetogenins from *Annona squamosa* Using the Combination of Chemical Derivatization and Precursor-ion Scanning Mass Spectrometry.