

奨励賞

益田勝吉氏 [財団法人サントリー生物有機科学研究所, 薬学士]



〔業績〕 質量分析法を用いたタンパク質の修飾解析と有機化合物の構造解析に関する研究

益田勝吉氏は、名城大学薬学部薬学科を卒業後、1984年より名城大学分析センターにおいて質量分析の依頼分析を行うとともに、質量分析の種々の手法を用いて有機化合物の構造解析に関する研究に従事してきた。1997年より財団法人サントリー生物有機科学研究所において種々の質量分析を用いてタンパク質の修飾解析に関する研究を行っている。

益田氏の研究の内容は、次の3点に集約される。

(1) Liquid SIMS および FABMS を用いた有機化合物の構造解析

益田氏ら名城大学のグループは、従来測定が困難とされていた配糖体や色素化合物などの難揮発性物質に対して Liquid SIMS を適用し、分子量関連イオンの検出に成功するとともに、マトリックスの開発や分子量関連イオンの生成機構について新たな法則性を見いだした。すなわち、Liquid SIMS および FABMS ではプロトン化分子の生成にマトリックスのプロトン親和力と試料の疎水性が大きく寄与することを明らかにし、ソフトイオン化法の有用性を示した。さらに、簡便な混合物分析法として TLC 上での試料濃縮法を開発し、TLC/Liquid SIMS の高感度分析法としての有用性を示した。

(2) タンパク質の翻訳後修飾（特に糖鎖修飾）の解析

益田氏は、1990年代後半から糖タンパク質の糖鎖のもつ生物学的機能に興味をもち、荒田洋治教授、高橋禮子教授と共同して、逸早く「グライコプロテオミクス」技術の確立を目指し、HPLC法を用いた三次元マップ糖鎖構造解析法による糖鎖構造の推定と質量分析法を用いたシーケンス解析法 (MS/MS, MSⁿ) を確立し、受容体や抗体などの多くの糖タンパク質の糖鎖解析に成功した。特に免疫グロブリン G (IgG) の糖鎖修飾の解析について大きな反響をよんでいる。すなわち、Fc領域に存在する一対の糖鎖のグライコフォームや組み合わせなどの存在様式について、nanoESI MS を用いて詳細に調べ、一対の糖鎖は左右対称な分子種と非対称な分子種が混在していることを世界で初めて明らかにした。この結果は、X線結晶構造解析や NMR を用いても解析困難とされており、益田氏は nanoESI MS を用いることにより糖タンパク質から直接的に糖鎖の微視的ならびに巨視的不均一性などの完全なグライコフォームに関する情報を正確にとらえることに成功した。

(3) 化学修飾法を用いたタンパク質とリガンドとの相互作用部位の解析

ソフトなイオン化法の登場により、質量分析法を用いた相互作用解析が可能となってきた。しかしながら、これまで相互作用部位などの詳細な構造情報を得ることは困難であった。益田氏は、有機化学的な修飾法である「光アフィニティラベル法」と質量分析法を併用し、タンパク質とリガンドとの相互作用部位のアミノ酸残基レベルでの解析に成功した。すなわち、リガンドを認識する抗リガンド抗体を用いたラベル化ペプチドの特異的精製と質量分析法によるラベル化部位の同定法の効率的な解析法を確立した。本法は、ラベル化率の低いタンパク質や、膜タンパク質のような複雑な高分子量タンパク質へも広く応用可能な手法であることから、国際的に高い評価を受けている。

以上述べたように、益田氏のタンパク質の修飾解析と有機化合物の構造解析に関する研究は、いずれも独創性が高く、質量分析学の進歩に大きく貢献しており、その成果は高い評価を受けている。また、日本質量分析学会委員会委員も経験しており、研究業績のみならず学会活動においても今後の活躍が期待され、日本質量分析学会奨励賞に値するものと認められた。

関連文献リスト

- 1) N. Ojima, K. Masuda, K. Tanaka, and O. Nishimura, Analysis of neutral oligosaccharides for structural characterization by MALDI-QIT-TOF-MS, *J. Mass Spectrom.*, **40**, 380–388 (2005).
- 2) K. Masuda, K. Kawahara, A. Kuniyasu, M. Ishiguro, and H. Nakayama, Stoichiometry and binding site analysis of ligand–human serum albumin complex by photoaffinity labeling and mass spectrometry, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **53**, 18–24 (2005).
- 3) N. Takahashi, K. Masuda, K. Hiraki, K. Yoshihara, H. H. Huang, K. H. Khoo, and K. Kato, *N*-Glycan structures of squid rhodopsin, *Eur. J. Biochem.*, **270**, 2627–2632 (2003).
- 4) K. Kawahara, A. Kuniyasu, K. Masuda, M. Ishiguro, and H. Nakayama, Efficient identification of photolabeled amino acid residues by combining immunoaffinity purification with mass spectrometry, *Biochem. J.*, **363**, 223–232 (2002).
- 5) N. Fujii, K. Hiroki, S. Matsumoto, K. Masuda, M. Inoue, Y. Tanaka, M. Awakura, and M. Akaboshi, Correlation between the loss of the chaperone-like activity and the oxidation, isomerization and racemization of gamma-irradiated α -crystallin, *Photochem. Photobiol.*, **74**, 477–482 (2001).
- 6) K. Masuda, Y. Yamaguchi, K. Kato, N. Takahashi, I. Shimada, and Y. Arata, Pairing of oligosaccharides in the Fc region of immunoglobulin G, *FEBS Lett.*, **473**, 349–357 (2000).
- 7) E. Ailor, N. Takahashi, Y. Tsukamoto, K. Masuda, B. A. Rahman, D. L. Jarvis, Y. C. Lee, and M. J. Betenbaugh, *N*-Glycan patterns of human transferrin produced in *Trichoplusia ni* insect cells: effects of mammalian galactosyltransferase, *Glycobiology*, **10**, 837–847 (2000).
- 8) K. Masuda, N. Takahashi, Y. Tsukamoto, H. Honma, K. Kohri, *N*-Glycan structures of an osteopontin from human bone, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **268**, 814–817 (2000).
- 9) A. Kamei, T. Hamaguchi, N. Matsuura, H. Iwase, and K. Masuda, Post-translational modification of α B-crystallin of normal human lens, *Biol. Pharm. Bull.*, **23**, 226–230 (2000).
- 10) K. Masuda, Y. Yamaguchi, K. Kato, H. H. Kim, N. Takahashi, I. Shimada, and Y. Arata, Post-translational modifications of immunoglobulin G: A mouse IgG variant that lacks the entire CH1 domain, *Mol. Immunol.*, **36**, 993–1003 (1999).
- 11) N. Takahashi, K. B. Lee, H. Nakagawa, Y. Tsukamoto, K. Masuda, and Y. C. Lee, New *N*-glycans in horseradish peroxidase, *Anal. Biochem.*, **255**, 183–187 (1998).
- 12) N. Takahashi, W. Yamada, K. Masuda, H. Araki, Y. Tsukamoto, A. Galinha, C. Sautes, K. Kato, and I. Shimada, *N*-Glycan structures of a recombinant mouse soluble Fc γ receptor II, *Glycoconj. J.*, **15**, 905–914 (1998).
- 13) A. Kamei, H. Iwase, and K. Masuda, Cleavage of amino acid residue(s) from the N-terminal region of α A- and α B-crystallins in human crystalline lens during aging, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **231**, 373–378 (1997).
- 14) F. Nishida, K. Masuda, K. Harada, M. Suzuki, V. Meevootisom, T. W. Flegel, Y. Thebtaranonth, and S. Intararuangsorn, Structure elucidation of glykenin, glycosidic antibiotics from *Basidiomycetes* sp. VI. Structure characterization of the GK components using Frit-FAB LC/MS, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **43**, 27–35 (1995).
- 15) K. Harada, K. Masuda, M. Suzuki, H. Oka, Y. Ikai, and J. Hayakawa, Fast atom bombardment mass spectral study of tetracycline antibiotics, *Org. Mass Spectrom.*, **28**, 1512–1515 (1993).
- 16) K. Masuda, K. Harada, H. Murata, M. Suzuki, S. Horiyama, and W. Kamisako, Anomalous intense formation of sodium adduct ions of viridopentaoses by fast atom bombardment mass spectrometry, *Proc. Kyoto '92 Int. Conf. Biol. Mass Spectrom.*, 514–515 (1992).
- 17) H. Oka, Y. Ikai, F. Kondo, N. Kawamura, J. Hayakawa, K. Masuda, K. Harada, and M. Suzuki, Development of a condensation technique for thin-layer chromatography/fast atom bombardment mass spectrometry of non-visible compounds, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **6**, 89–94 (1992).
- 18) K. Harada, K. Masuda, M. Suzuki, and H. Oka, Separation and identification of food dyes by thin-layer chromatography/liquid secondary ion mass spectrometry, *Biol. Mass Spectrom.*, **20**, 522–528 (1991).
- 19) K. Masuda, K. Harada, M. Suzuki, H. Oka, N. Kawamura, and M. Yamada, Identification of food dyes by TLC/SIMS with a condensation technique, *Org. Mass Spectrom.*, **24**, 74–75 (1989).
- 20) K. Harada, K. Masuda, I. Kimura, and M. Suzuki, Structural investigation of the antibiotic sporaviridin. 11. Molecular secondary ion mass spectral studies on the constituent pentasaccharides viridopentaoses, *Org. Mass Spectrom.*, **20**, 582–588 (1985).
- 21) K. Harada, K. Masuda, K. Okumura, and M. Suzuki, Removal, with cryptand polymers, of traces of sodium ion in samples for molecular secondary ion mass spectrometry, *Org. Mass Spectrom.*, **20**, 533–534 (1985).