

奨励賞

小田吉哉氏 [エーザイ株式会社, 博士(薬学)]



〔業績〕 質量分析を用いた生体成分の定量分析とリン酸化タンパク質の解析に関する研究

小田吉哉氏は1987年京都大学薬学部を卒業し、1989年京都大学大学院薬学研究科を修了。在学当時、まだ市販品がなかったキャピラリー電気泳動装置を自ら組み上げ、薬学分野に応用するために血液中の薬剤濃度を前処理なしに直接定量する方法を開発した。1989年にエーザイ株式会社に入社し分析系の研究グループに配属。血液中の光学異性体薬剤を代謝物や内因性夾雑物から分離し、かつ光学分割を行うための多次元クロマトグラフィーシステムを開発した。同じ頃に血液中の血小板活性化因子 (PAF) の微量定量を行うために、GC/MSを駆使し成果を上げた。その後血液中のメバロン酸の微量定量やビタミンEの不純物解析のためにGC/MSを活用した。また薬品成分の一つであるリゾチームを得るために、当時エーザイの工場では大量の鶏卵白からリゾチームタンパク質を精製していた。その副産物であるアビジンタンパク質も同時に精製されたが使い道がなく廃棄されていた。そこで血液中の薬剤を前処理なしで分析を可能にするためのアビジンタンパク質を固定化したHPLC用カラムを開発し市販化も行った。当時開発中であったアルツハイマー治療薬アリセプトはラセミ体であり、水溶液中で容易に異性化してしまう。アビジンカラムを使ったLC/MSシステムにより、代謝物の一斉定量だけでなくアリセプトの光学異性体の体内挙動について正確に解析した。またマイクロHPLCを使ったLC/MSシステムにより生体試料中の各種アラキドン酸代謝物やスフィンゴ脂質の微量定量法を開発した。

その後、1996年からスクリプス研究所 S. Kent 教授の下でペプチド化学を学び、1997年から B. Chait 教授の下でMSによるタンパク質解析を学んだ。そして、その頃、定量という概念がなかったMSベースのプロテオミクスに世界で初めて定量手法を報告。さらにはリン酸化タンパク質を一斉分析するためのリン酸化プロテオームの手法を開発しその用語を提唱した。現在はより微量なタンパク質を同定・定量するためにゲル内消化の改善からナノLC/MSの構築、種々の前処理法を改良している。特に薬剤や種々の刺激、動物の疾患モデルに対応可能な定量的プロテオーム解析システムの構築や、より効率的なリン酸化プロテオーム解析法の開発を行っている。

新薬創出のために、製薬企業にあってMSは必須の手法である。このMSをいかに上手に使うか、そのためにはMSに持ち込む試料の調製法、MS装置から得られるデータ処理が重要であると考え、既存の購入可能な装置・試薬・消耗品・プロトコルを使うだけでなく、オリジナリティーあふれる種々の技術開発に挑戦し、その成果を駆使して目覚ましい業績を上げている。小田氏は企業研究者という立場を貫きつつも、単に企業だけにとどまらない活動を続けており、その成果は世界に通用する技術となって実を結び評価されている。また、2003年度のつくばで開催された第51回質量分析総合討論会では、実行委員長としてそのアイデアとパワーを遺憾なく発揮し、大成功に導いた。小田氏は優れた研究者であるばかりでなく、今後の本学会を支えていく貴重な人材と考えられ、日本質量分析学会奨励賞にふさわしいと認められた。

関連文献リスト

- 1) T. Nakagawa, Y. Oda, A. Shibukawa, and H. Tanaka, Separation and determination of cefpiramide in human plasma by electrokinetic chromatography with a micellar solution and an open tubular-fused silica capillary, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 1622-1625 (1988).
- 2) Y. Oda, N. Asakawa, T. Kajima, Y. Yoshida, and T. Sato, Column-switching high-performance liquid chromatography for on-line simultaneous determination and resolution of enantiomers of verapamil and its metabolites in plasma, *Pharm. Res.*, **8**, 997-1001 (1991).
- 3) Y. Oda, N. Mano, and N. Asakawa, Quantitation of platelet-activating factor in biological samples using liquid chromatography/mass spectrometry with column-switching technique, *Anal. Bio-*

- chem.*, **231**, 141–150 (1995).
- 4) K. Matsui, Y. Oda, H. Ohe, S. Tanaka, and N. Asakawa, Direct determination of E2020 enantiomers in plasma by liquid chromatography-mass spectrometry and column-switching techniques, *J. Chromatogr.*, **694**, 209–218 (1995).
 - 5) Y. Oda, N. Mano, and N. Asakawa, Simultaneous quantitation of thromboxane B₂, prostaglandin E₂ and leukotriene B₄ in whole blood by liquid chromatography/mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.*, **30**, 1671–1678 (1995).
 - 6) N. Mano, Y. Oda, and N. Asakawa, Plasma direct injection high-performance liquid chromatographic method for simultaneously determination E3810 enantiomers and their metabolites by using flavoprotein-conjugated column, *J. Pharm. Sci.*, **85**, 903–907 (1996).
 - 7) N. Mano, Y. Oda, K. Yamada, N. Asakawa, and K. Katayama, Simultaneous quantitative determination method for sphingolipid metabolites by liquid chromatography/ion-spray ionization tandem mass spectrometry, *Anal. Biochem.*, **244**, 291–300 (1997).
 - 8) M. R. Carrasco, M. C. Fitzgerald, Y. Oda, and S. B. H. Kent, Direct monitoring of organic reactions on polymeric supports, *Tetrahedron Lett.*, **38**, 6331–6334 (1997).
 - 9) T. Takenawa, Y. Oda, Y. Ishihama, and M. Iwakura, Cyanocysteine-mediated molecular dissection of dihydrofolate reductase: Occurrence of intra- and inter-molecular reactions forming a peptide bond, *J. Biochem.*, **123**, 1137–1144 (1998).
 - 10) Y. Ishihama, O. Ito, Y. Oda, T. Takenawa, and M. Iwakura, A novel method for peptide block synthesis using unprotected peptides, *Tetrahedron Lett.*, **40**, 3415–3418 (1999).
 - 11) Y. Oda, K. Huang, F. R. Cross, D. Cowburn, and B. T. Chait, Accurate quantitation of protein expression and site-specific phosphorylation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 6591–6596 (1999).
 - 12) K. Matsui, Y. Oda, H. Nakata, and T. Yoshimura, Simultaneous determination of donepezil (aricept) enantiomers in human plasma by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B*, **729**, 147–155 (1999).
 - 13) H. Katayama, Y. Ishihama, Y. Oda, and N. Asakawa, Electrophoretic mobility-assisted identification of proteins by nanoelectrospray capillary electrophoresis/mass spectrometry under methanolic conditions, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **14**, 1167–1178 (2000).
 - 14) Y. Oda, T. Nagasu, and B. T. Chait, Enrichment analysis of phosphorylated proteins as a tool for probing the phosphoproteome, *Nature Biotechnol.*, **19**, 379–382 (2001).
 - 15) H. Katayama, T. Nagasu, and Y. Oda, Improvement of in-gel digestion protocol for peptide mass fingerprinting by matrix assisted laser desorption/ionization–time of flight mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **15**, 1416–1421 (2001).
 - 16) K. Satoh, M. Takeuchi, Y. Oda, M. Deguchi-Tawarada, Y. Sakamoto, K. Matsubara, T. Nagasu, and Y. Takai, Identification of activity-regulated proteins in the postsynaptic density fraction, *Genes Cells*, **7**, 187–197 (2002).
 - 17) T. Matsu-ura, T. Nakadai, Y. Oda, T. Nagasu, K. Mikoshiba, and T. Tamura, Seizure-mediated accumulation of the beta subunit of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II in nuclei of mouse brain cells, *Neurosci. Lett.*, **322**, 149–152 (2002).
 - 18) Y. Ishihama, H. Katayama, N. Asakawa, and Y. Oda, Highly robust stainless steel tips as microelectrospray emitters, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **16**, 913–918 (2002).
 - 19) Y. Oda, T. Owa, T. Sato, B. Boucher, S. Daniels, H. Yamanaka, Y. Shinohara, A. Yokoi, J. Kuromitsu, and T. Nagasu, Quantitative chemical proteomics for identifying candidate drug targets, *Anal. Chem.*, **75**, 2159–2165 (2003).
 - 20) H. Katayama, K. Satoh, M. Takeuchi, M. Deguchi-Tawarada, Y. Oda, and T. Nagasu, Optimization of in-gel digestion system in combination with thin gel separation and negative staining in 96-well plate format, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **17**, 1071–1078 (2003).
 - 21) K. Tomizawa, S. Sunada, Y. F. Lu, Y. Oda, M. Kinuta, T. Ohshima, T. Saito, F. Y. Wei, M. Matsushita, S. T. Li, K. Tsutsui, S. Hisanaga, K. Mikoshiba, K. Takei, and H. Matsui, Cophosphorylation of amphiphysin I and dynamin I by Cdk5 regulates clathrin-mediated endocytosis of synaptic vesicles, *J. Cell Biol.*, **163**, 813–824 (2003).
 - 22) H. Y. Wu, K. Tomizawa, Y. Oda, F. Y. Wei, Y. F. Lu, M. Matsushita, S. T. Li, A. Moriwaki, and H. Matsui, Critical role of calpain-mediated cleavage of calcineurin in excitotoxic neurodegeneration, *J. Biol. Chem.*, **279**, 4929–4940 (2004).
 - 23) H. Katayama, T. Tabata, Y. Ishihama, T. Sato, Y. Oda, and T. Nagasu, Efficient in-gel digestion procedure using 5-cyclohexyl-1-pentyl-β-D-maltoside as an additive for gel-based membrane proteomics, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**, 2388–2394 (2004).
 - 24) Y. Ishihama, T. Sato, T. Tabata, N. Miyamoto, K. Sagane, T. Nagasu, and Y. Oda, Quantitative mouse brain proteomics using culture-derived isotope tags as internal standards, *Nature Biotechnol.*, **23**, 617–621 (2005).
 - 25) M. Kokubu, Y. Ishihama, T. Sato, T. Nagasu, and Y. Oda, Specificity of immobilized metal affinity-based IMAC/C18 tip enrichment of phosphopeptides for protein phosphorylation analysis, *Anal. Chem.*, **77**, 5144–5154 (2005).

ほか 25 報。