

2015年度日本質量分析学会

奨励賞

宮下正弘 氏 [京都大学, 博士(農学)]

〔業績〕 質量分析を用いた生理活性ペプチドの構造解析に関する研究



宮下正弘氏は、1993年京都大学農学部を卒業、1998年に京都大学大学院農学研究科博士課程を修了し、博士(農学)を取得した。その後、カリフォルニア大学デービス校博士研究員を経て、2000年から京都大学大学院農学研究科助手(2007年より助教)として勤務している。

宮下氏の業績は、質量分析計を駆使した生理活性ペプチドの構造解析であり、特にサソリ毒液に含まれる生理活性ペプチドの研究において成果を上げている。サソリの分泌する毒液に含まれるペプチド成分の量は少ないため、従来法であるエドマン分解による分析だけでは完全なアミノ酸配列決定を行うことが難しい場面が多い。宮下氏は質量分析計を有効に活用し、特に *de novo sequencing* 法を駆使することによって、微量成分の構造決定を行ってきた。この手法によって、サソリ毒素ペプチドの構造決定に成功している。また、サソリ毒素ペプチドにはジスルフィド結合が複数含まれるものが多いが、酵素あるいは化学的手法により断片化したペプチドを質量分析計によって詳細に解析し、その架橋様式を決定することにも成功している。

近年、生理活性ペプチドの同定研究は遺伝子クローニングによって行われる場合が多いが、ジスルフィド結合のような翻訳後修飾を含んだペプチドの構造決定には、質量分析を用いた化学的手法による解析が依然として必須である。そのなかで宮下氏の研究は、合成ペプチドとの比較などの工夫により、信頼性の高い構造解析が行われている点で高く評価されている。

また一方で宮下氏は、*de novo sequencing* 法のもつさまざまな問題点を改善するための基礎的研究も行っている。*de novo sequencing* 法はある程度確立された方法であるが、完全な配列決定に至らない場合が少なくない。宮下氏はこの問題を克服する一つ的手段として、化学修飾法を基本とした研究を行い、配列の同定効率を高めることに成功している。これまでの研究によって、高い塩基性をもつ構造をペプチドN末端アミノ基に導入すれば、N末端側フラグメントイオンがより強く検出されることは知られているが、既存の修飾試薬は低エネルギーCID条件下においてはフラグメンテーションの効率を逆に低下させるといった問題があった。そこで宮下氏は、高いプロトン親和力をもつ構造をペプチドN末端に導入することによって、低エネルギー条件下においてもフラグメンテーションの効率に影響することなく、N末端側フラグメントイオンを優先的に検出できることを見いだした。さらに、修飾試薬を¹⁵N標識し、これを非標識体と併用して分析することにより、確実にN末端側フラグメントイオンを同定することができることも示した。*de novo sequencing* 法は、装置の発展によって改善されてきた面もあるが、既存の装置であっても化学修飾法を用いることによってその能力を拡張することができることを示した点で高く評価されている。

以上、質量分析を用いた生理活性ペプチドの構造解析に関する宮下氏の研究成果は、質量分析学の進歩に寄与する優れたものであり、また、宮下氏が、現在も活発に質量分析学研究を行い、その将来の発展を大いに期待できることから、ここに日本質量分析学会奨励賞に値するものとして贈呈を決定した。

授賞対象業績リスト

- 1) Y. Nihashi, M. Miyashita, H. Awane, and H. Miyagawa, "Differential ¹⁴N/¹⁵N-labeling of peptides using N-terminal charge derivatization with a high-proton affinity for straightforward *de novo* peptide sequencing," *Mass Spectrometry*, **2**, A0024 (2013).
- 2) T. Kawachi, M. Miyashita, Y. Nakagawa, and H. Miyagawa, "Isolation and characterization of an anti-insect beta-toxin from the venom of the scorpion *Isometrus maculatus*," *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 205–207 (2013).
- 3) Y. Ichiki, T. Kawachi, M. Miyashita, Y. Nakagawa, and H. Miyagawa, "Isolation and characterization of a novel non-selective beta-toxin from the venom of the scorpion *Isometrus maculatus*," *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **76**, 2089–2092 (2012).
- 4) M. Miyashita, Y. Hanai, H. Awane, T. Yoshikawa, and H. Miyagawa, "Improving peptide fragmentation by N-terminal derivatization with high proton affinity," *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **25**, 1130–1140 (2011).
- 5) N. Matsushita, M. Miyashita, A. Sakai, Y. Nakagawa, and H. Miyagawa, "Purification and characterization of a novel short-chain insecticidal toxin with two disulfide bridges from the venom of the scorpion *Liocheles australasiae*," *Toxicon*, **50**, 861–867 (2007).
- 6) M. Miyashita, J. Otsuki, Y. Hanai, Y. Nakagawa, and H. Miyagawa, "Characterization of peptide components in the venom of the scorpion *Liocheles australasiae* (Hemiscorpiidae)," *Toxicon*, **50**, 428–437 (2007).