



Title	Development of a Nano-LC/MALDI-MS Method for Femtomole-Level Analysis of Biological Samples : For Analysis of Glycoproteins in Human Plasma
Author(s)	日置, 雄策
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52286
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (日 置 雄 策)	
論文題名	Development of a Nano-LC/MALDI-MS Method for Femtomole-Level Analysis of Biological Samples: For Analysis of Glycoproteins in Human Plasma (フェムトモルレベルの生体試料の分析のためのナノLC/MALDI-MS法の開発—ヒト血漿中の糖タンパク質の分析を目指して—)
論文内容の要旨	
生体成分の分析化学において、生体試料中に微量に存在する対象成分を、微量の試料を使って高感度、高精度で分析することが求められる。質量分析法 (MS) は、極めて高感度な手法であるが、試料の特性・特徴に応じた前処理をすることは必須であり、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、免疫沈降法や二次元電気泳動などの方法が一般的に用いられている。これらのうち、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-MS) と HPLC を組み合わせた LC/MALDI-MS は、タンパク質およびペプチド分析に関して、多成分を同時に高感度測定することを可能にする有用な分離分析技術となっている。しかし、HPLC を低流速化することによって高感度性能を高めた極低流量ナノ LC (数百 nL/min 以下) を使用した場合、MALDI-MS 分析に供するための液滴分画 (サンプルプレートへのスポットティング) において、カラムで分離した後に試料が拡散し、感度や分離性能が低下する等の問題があった。そこで、極低流量ナノ LC への適合性を向上させたナノ LC/MALDI-MS システムを構築し、ナノ LC の分離能を維持し、システムとしての高感度性能を大きく向上させた。次に、本システムを免疫沈降法と組み合わせて、ヒト血漿中の内在性 E-カドヘリンをモデル試料として糖ペプチド分析を行った。その結果、微量の血漿 (10 μL) から、エクドメインにある 4 箇所の N 型糖鎖修飾のコンセンサス配列の内 1 箇所に、合計 13 種の複合型糖鎖が存在することを明らかにした。更に、極微量の血漿 (1 μL) からでも O 型糖ペプチドを検出することが出来た。これらヒト血漿中の内在性 E-カドヘリンの糖ペプチドを初めて質量分析することで、生体試料の分析に対して、本システムが疾患に特異的な翻訳後修飾の分析などに応用出来ることを示した。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (日 置 雄 策)				
論文審査担当者	(職)		氏 名	
	主 査	教 授	倉 光	成 紀
	副 査	教 授	高 尾	敏 文
	副 査	教 授	梶 原	康 宏
	副 査	教 授	豊 田	岐 聡

論文審査の結果の要旨

日置雄策氏は、微量液体クロマトグラフィー (nanoLC) と質量分析計 (MS) とを組み合わせた技術改良を実施し、様々な微量生体試料を分析する方法の開発に成功した。

論文の前半では、matrix assisted laser desorption / ionization (MALDI) 質量分析と微量液体クロマトグラフィーとを用いて、いかに少ない液量をクロマトグラフィーから採取し、微量の生体試料を感度よく分析するかの、感度向上の技術開発が述べられている。

後半では、今回新たに開発された分析方法をまず、既知の糖タンパク質混合物について適用し、感度向上を確認した。次に実際の応用例として、ヒトの血清から糖タンパク質サンプルを採取し、最終的には 10 マイクロリットルの血清に含まれるカドヘリンについて、16 種類以上の複合型糖鎖やセリン・スレオニン結合糖鎖を同定することに成功している。これらの研究を通して、今回新たに開発された分析方法は、微量タンパク質の翻訳後修飾の解析にも有用であることを示し、生物科学的に意味のある分析に利用できたことを示している。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。