

Title	Novel protein identification method by observation of metastable ions in matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry
Author(s)	汪, 洋
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/59527
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

Abstract of Thesis

Name (Yang Wang)	
Title	Novel protein identification method by observation of metastable ions in matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry (マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析における準安定イオンの観測による新規蛋白質同定法)
Abstract of Thesis	
<p>Peptide mass fingerprinting (PMF) is one strategy for protein identification by mass spectrometry (MS) analysis. The input data used in the PMF are mass lists of an enzymatic-digested protein extracted from matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) MS spectra. The MALDI process can lead to post-source decay (PSD) fragmentation, which occurs after the acceleration region of the ionization source. The PSD corresponds to the fragmentation of metastable ions. Herein, we present an enhanced PMF method by introducing a metastable ion relative C-terminal amino acid truncation of peptides derived from LysN protein digested peptides. In comparison to conventional PMF, highly reliable identification of this new method was verified by using three parameters of C-terminal amino acid sequence, N-terminal Lys and mass for database search. A non-probability-based sequence database search algorithm was developed for protein identification, especially for protein mixture, which showed advantageous in a way to common probability-based sequence database search algorithm. Because of its highly desirable property, the novel method could support the conventional PMF to find more applications in the analysis of protein identification.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(汪 洋 (Yang Wang))			
	(職)	氏	名
論文審査担当者	主 査	教授	高 尾 敏 文
	副 査	教授	深 瀬 浩 一
	副 査	教授	北 條 裕 信
	副 査	教授	豊 田 岐 聡
論文審査の結果の要旨			
<p>本研究では、ペプチドの質量分析で観測される種々のフラグメントイオンを精査し、新たに、C末端アミノ酸情報を与えるシークエンスイオンを同定している。該イオンは、Argを配列中に含まないほぼ全てのペプチドで共通して観測されることから、ペプチドのC末端アミノ酸の決定に有用である。また、このフラグメントイオンは単分子内で自発的に生成するため、例えば、飛行時間型質量分析計を分析部として利用すれば、準安定イオンとして特異的に観測されることを報告している。この新規な知見をもとに、本論文では、蛋白質同定技術の1つであるペプチド・マス・フィンガープリンティング (PMF) 法の改良を行っている。すなわち、蛋白質切断酵素としてLys-Nを用いることによりN末端がLysであるという情報、ペプチドのC末端での特異なフラグメンテーションに基づくC末端アミノ酸の情報、そして、ペプチドの分子質量の3つの情報により蛋白質同定の精度を飛躍的に高めることに成功している。さらに、これらの情報をもとに配列データベースを検索できるソフトウェアを開発し、一義的な同定に必要なペプチドの数を全データベースを用いて調べている。その結果、4つのペプチドの情報があれば蛋白質の一義的な同定が可能であることを証明している。実際には、4種の蛋白質のLys-N消化物を用いて測定データを得て、それを上記ソフトウェアに直接かけて、全ての蛋白質が一義的に同定できることを確かめている。</p> <p>本法は、これまで同定確度が低かったために実用的ではなかったPMF法を飛躍的に向上し、質量分析による蛋白質同定法の有用な方法として、プロテオミクスの発展に大きく貢献するものと思われる、意義のある成果といえる。</p> <p>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。</p>			