

質量分析データからの糖脂質構造予測ソフトウェアの開発

横井 一仁[†] 糸乗 前[‡] 杉田 陸海[‡] 伊藤 将弘[†]

[†]立命館大学 生命科学部 情報生物学研究室 [‡]滋賀大学 教育学部 化学教室

1. はじめに

糖脂質は、細胞膜上において細胞間の認識や接着の機能を担う生体分子であり、癌やアルツハイマー病などの疾患と深く関係している。その糖脂質の機能を理解するには、まずは化学構造の決定が必要であるが、その分析には多くの時間と試料を必要とする。そのため、現在糖脂質のハイスループットな分析技術の開発が求められている。

糖脂質は、糖が木構造を形成する糖鎖部分と長鎖塩基と脂肪酸から成るセラミド部分が結合した分子である(図 1)。この分子に対して、MALDI-TOF MS と呼ばれる質量分析機により測定を行うと、糖鎖の結合が切断された断片分子の質量が測定される(図 2)。本研究では、この質量データから糖脂質の構造を予測する手法を開発した。

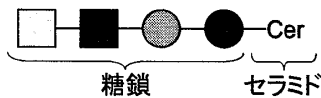


図 1 糖脂質の構造

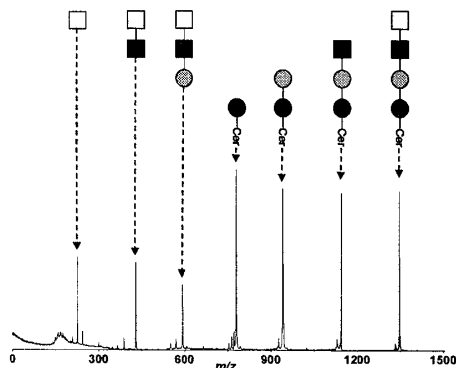


図 2 糖脂質の測定データ

Glycosphingolipid Prediction from Mass Spectra

[†]Kazuhito Yokoi [‡]Saki Itonori [‡]Mutsumi Sugita [†]Masahiro Ito

[†]Dept. of Biosci. and Bioinfo., Graduated School of Sci. and Eng., Ritsumeikan Univ

[‡]Dept. of Chem., Faculty of Lib. Arts and Ed., Shiga Univ.

2. 実験方法

2.1 測定試料

本手法の評価を行うために、6 種類の試料の質量を測定し、予測に用いるデータとした(表 1)。形は質量が同じ糖を表し、色の濃さはグルコースやガラクトースなどの異性体を表している。

表 1 本研究において用いた試料

試料名	糖脂質構造
<i>Artemia</i> Sp. ArCQS	
<i>Artemia</i> Sp. nArCQS	
<i>Artemia</i> Sp. CHS	
<i>Hyriopsis schlegelii</i> Lipid II	
<i>Lucilia Caesar</i> L5	
<i>Lucilia Caesar</i> L7	

2.2. メチル化処理

L5 と L7 の糖脂質においては Ciucanu-Kerek 法[1]に従って、実験的にメチル化処理を行い、測定を行った(図 3)。単糖は 5ヶ所のヒドロキシル基(OH 基)を持ち、それぞれにメチル基(Me 基)を入れる。そのため、ヒドロキシル基を介して結合している糖鎖に対して完全メチル化を行うと、末端の糖は、1 つのヒドロキシル基を結合に用いているため、4 つのメチル基が入る。同様に、分

岐を形成している糖は 2 つ、その他の糖には 3 つのメチル基が入る。本処理を行うことで、構造に特徴的な質量が多く現れた質量データを得ることが可能となる。

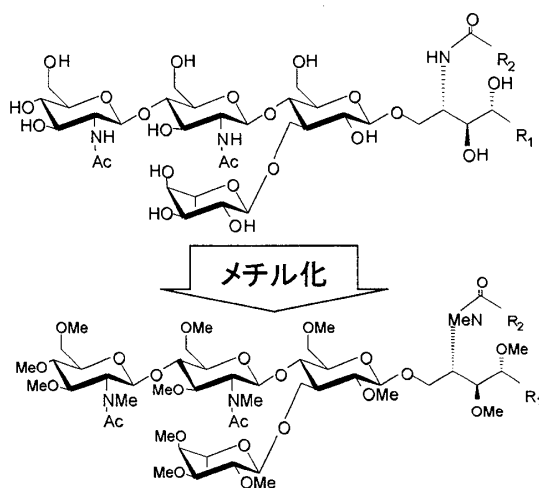


図 3 糖脂質のメチル化処理

2.3. 予測アルゴリズム

本予測アルゴリズムは以下の通りである。

- (1) 断片化していない分子の質量から許容誤差以内の値を持つ糖脂質のセラミドと糖組成を予測し、その組成から取り得る構造を予測の候補構造とする。
- (2) 各候補構造に対して理論的に断片構造を計算し、各断片構造における質量の出現確率 p_i を求める。
- (3) 各候補構造において、断片化構造の理論値と質量データの実測値とのマッチングを行い、スコアリングする(式 1)。

$$Score = (1.0 - \log \prod_{i \in T} p_i) \times \frac{|T|}{|N|} \quad (1)$$

ここで、 T はマッチした断片構造の集合、 N は理論上存在する断片構造の集合である。

- (4) 構造に特徴的なフラグメントを多く含む構造が上位となるよう、スコアを基に各候補構造を降順に並び替える。

3. 結果

3.1 糖脂質の構造予測

6 種類の糖脂質において各質量データを元に予測を行ったところ、全ての構造において正しく予測された。しかし、L5 と L7 の予測においては、同じスコアを持つ 1 位の構造が複数現れ、一意に構造を予測することが不可能であった。その理由として、構造を一意に決定するのに必要な質量が全て観測されなかったことや、同じ断片質量を持つ構造が複数存在し、区別することができないことが挙げられる。

3.2 メチル化糖脂質の構造予測

L5 と L7 の試料に対して完全メチル化処理後の質量データからの予測では、正しく一意に予測することができた。その理由は、メチル化処理により、構造に特徴的な断片質量が数多く現れ、他の構造と区別することが可能となったためである。

4. 考察とまとめ

本研究により、質量分析を用いた糖脂質構造のハイスループットな予測法が確立した。さらに本手法において、糖脂質のメチル化処理が予測精度の向上に大きく貢献することが示された。本手法を用いることで、糖脂質の網羅的な構造解析が行うことが可能となると考えている。

参考文献

- [1] Ciucanu, J, Kerek, F, A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates, *Carbohydrate research*, (1984) 131, 209-217.