

本トキシコロジー学会学術年会、2007.
東京

- 16) 野本真博、宮田昌明、黒沢 亨、山添 康
コール酸誘発肝障害モデルにおける
ME3738 の有効性-酸化ストレスの防御因
子と胆汁中コレステロール及び胆汁酸
排泄促進 第34回日本トキシコロジ
ー学会学術年会、2007. 東
- 17) W. Hori, M. Miyata, and Y. Yamazoe
Hepatic bile acid sulfation
rate-limits the excretion of
secondary bile acid in the body 8th
ISSX meeting, 2007. Sendai
- 18) M. Nomoto, M. Miyata, T. Kurosawa and
Y. Yamazoe ME3738 mediated
enhancement of biliary cholesterol
excretion at high hepatic bile acid
levels stimulates biliary bile acid
excretion without altering liver Bsep
protein levels 8th ISSX meeting, 2007.
Sendai

・ヒト特異的に発症する肝障害に対する動物モ
デルの作製と機序解明:

- 1) 大淵雅人、宮田昌明、長井大地、山添康
Flutamide 誘発肝障害における N-水酸化
代謝物
N-[4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl
]hydroxylamine の関与 日本薬学会第
126 回年会、2006. 仙台
- 2) 大淵雅人、宮田昌明、山添康
N-[4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl
]hydroxylamine の変異原性 日本環境
変異原学会 第35回年会、2006, 堺
- 3) M. Ohbuchi, M. Miyata, D. Nagai, M.
Shimada, K. Yoshinari and Y. Yamazoe
Involvements of N-hydroxylation of
flutamide metabolite and hepatic GSH
depletion in flutamide-induced
hepatotoxicity. 8th ISSX meeting, 2007.
Sendai

・LC/MS/MSを用いた低分子内因性物質のメタ
ボロミクス技術の開発

・メタボロミクスと病理の関連性についての解
析

・質量分析計を用いたメタボロミクス手法によ
る毒性マーカー検索法の開発:

- 1) 安藤洋介、牧野俊彦、清沢直樹、伊藤和美、
山内秀介、渡辺恭子、柴谷由佳梨、古川忠
司、寺西宗広、高崎 渉、真鍋 淳、矢本
敬: 薬物代謝酵素誘導剤によるラット肝タ
ンパク質発現の変化: 第33回日本トキシコ
ロジー学会学術年会、平成18年7月3日~5

日、愛知

- 2) 牧野俊彦、安藤洋介、伊藤和美、荒川真悟、
木下順三、寺西宗広、矢本 敬、真鍋 淳:
薬物代謝酵素誘導剤によるイヌ肝肥大と
遺伝子・タンパク質発現の変化: 第33回日
本トキシコロジー学会学術年会、平成18年
7月3日~5日、愛知
- 3) 熊谷和善、伊藤和美、安藤洋介、斉藤有司、
鈴木洋子、石川加代子、渡辺恭子、清沢直
樹、矢本 敬、寺西宗広、真鍋 淳: ラッ
トグルタチオン枯渇モデルにおける化学
物質による毒性発現への影響: 第33回日本
トキシコロジー学会学術年会、平成18年7
月3日~5日、愛知
- 4) 五十嵐功、前嶋孝典、熊谷和善、本多久美、
間 芳江、荒川真悟、柴田勝好、安藤洋介、
伊藤和美、矢本 敬、寺西宗広、真鍋 淳:
化学物質誘発肝障害に対するGap junction
を介する細胞間コミュニケーションの関
わり: 第33回日本トキシコロジー学会学術
年会、平成18年7月3日~5日、愛知
- 5) 伊藤和美、渡辺恭子、熊谷和善、鈴木洋子、
斉藤有司、寺田仁美、清沢直樹、寺西宗広、
古川忠司、矢本 敬、中江 大、真鍋 淳:
F344ラットにおけるacetaminophen誘発肝
障害に3-aminobenzamideが与える影響: 第
33回日本トキシコロジー学会学術年会、平
成18年7月3日~5日、愛知
- 6) 寺西宗広、熊谷和善、谷 吉朗、伊藤和美、
藤本和則、安藤洋介、矢本 敬、真鍋 淳:
ワークショップII. 医薬品開発の毒性評価
上問題となっているトピックス. 特異体質
性薬物障害の現状と将来: 第23回日本毒性
病理学会学術総会、平成19年1月30日、31
日、東京
- 7) 熊谷和善、清沢直樹、伊藤和美、安藤洋介、
牧野俊彦、袴田志野婦、矢本 敬、真鍋 淳、
寺西宗広: Kupffer細胞不活化が
cycloheximideによる肝障害に与える影
響: 第23回日本毒性病理学会学術総会、平
成19年1月30日、31日、東京
- 8) Yosuke Ando, Shigehito Takeshita,
Katsuyoshi Shibata, Kazunori Fujimoto,
Sunao Manabe, Takashi Yamoto:
Metabonomic analysis on urine
metabolites related to hepatotoxicity
in the rat treated with acetaminophen:
44th congress of the European societies

of toxicology, Amsterdam, The Netherlands, 7-10 October, 2007

- 9) Takashi Yamoto, Yusuke Ando, Naoki Kiyosawa, Sunao Manabe: Application of metabonomics in development of pharmaceuticals: Research trends in metabonomics. The convention of the Korean society of applied pharmacology, Seoul, Korea, 15 November, 2007

・メタボロミクス・プロテオミクス解析技術の高感度化試薬の開発ならびに毒性軽減構造修飾法の開発 (主要)

- 1) 津元裕樹, 高橋克昌, 幸田光復, 鈴木孝禎, 中川秀彦, 宮田直樹, MALDI-TOF MS 分析に利用できる C60 誘導体化試薬の合成, 第 31 回反応と合成の進歩シンポジウム, 2005 年 11 月 7-8 日 (神戸)。
- 2) 高橋克昌, 津元裕樹, 幸田光復, 鈴木孝禎, 中川秀彦, 宮田直樹, C60 誘導体化試薬の MALDI-TOF MS 分析への応用, 第 31 回反応と合成の進歩シンポジウム, 2005 年 11 月 7-8 日 (神戸)。
- 3) Hiroki Tsumoto, Katsumasa Takahashi, Kohfuku Koda, Takayoshi Suzuki, Hidehiko Nakagawa, Naoki Miyata, Application of C60-based amine-labeling reagents to MALDI-TOF MS analysis The 30th Fullerene-Nanotubes General Symposium. 2006 年 1 月 7-9 日 (Nagoya)。
- 4) 津元裕樹, 高橋克昌, 幸田光復, 鈴木孝禎, 中川秀彦, 宮田直樹, フラーレン C₆₀ の特性を利用したタンパク質の MALDI-TOF MS 分析, 日本薬学会第 126 年会, 2006 年 3 月 28 日から 30 日 (仙台)。
- 5) Hiroki Tsumoto, Katsumasa Takahashi, Kohfuku Koda, Takayoshi Suzuki, Hidehiko Nakagawa, Naoki Miyata, Application of C60-based amine-labeling reagents to MALDI-TOF MS analysis, The 30th Fullerene-Nanotubes General Symposium (Nagoya), 2P-5
- 6) 津元裕樹, 高橋克昌, 幸田光復, 鈴木孝禎, 中川秀彦, 宮田直樹, フラーレン C60 の特性を利用したタンパク質の MALDI-TOF MS 分析, 日本薬学会第 126 年会, 2006 年 (仙台)。
- 7) 中川秀彦, 大山 亮, 木全絢子, 鈴木孝

禎, 宮田直樹, 分子内塩基を有する高活性エタラボン誘導体, 第 32 回反応と合成の進歩シンポジウム, 2006 年 (広島)。

- 8) 津元裕樹, 村田千恵, 宮田直樹, 田口良, 幸田光復, 質量分析によるタンパク質の同定・定量のためのアミノ基誘導体化試薬の開発, 日本薬学会第 127 年会, 2007 年 3 月 28-30 日 (富山)

・LC/MS/MSを用いた網羅的プロテオミクス・ペプチドミクス技術の開発ならびに解析

- 1) 鈴木孝昌, 欒 洋, Palanisamy 田中剛太郎, 中嶋圓, 浜田修一, 三浦知弘, 降旗千恵 Collaborative study on the toxicogenomics in JEMS/MMS: Quantitative RT-PCR analysis on the selected genes by the GeneChip 日本環境変異原学会第 34 回大会 (2005 年 11 月)
- 2) 欒 洋, 本間正充, Suresh Thirupathi, 小木 美恵子, 山口照英, 鈴木孝昌 Application of CGH and SNP arrays for chromosome analysis 日本環境変異原学会第 34 回大会 (2005 年 11 月)
- 3) 鈴木孝昌, 降旗千恵 Transcriptomics — Can gene expression profiles distinguish the genotoxic hepatocarcinogens? 日本環境変異原学会第 34 回大会 (2005 年 11 月)
- 4) 三浦知弘, 欒 洋, 戸部香織, 仲地豊, 近藤恭光, 鈴木孝昌, 田代英夫, 降旗千恵 DNA マイクロアレイを用いた非遺伝子傷害性肝発癌物質投与マウス肝臓における遺伝子発現解析 第 28 回日本分子生物学会年会 (2005 年 12 月)
- 5) 原田基裕, 戸部香織, 仲地豊, 近藤恭光, 中嶋圓, 浜田修一, 鈴木孝昌, 兵庫淳志, 田代英夫, 榊佳之, 降旗千恵 Original oligonucleotide microarray による 5 種類の遺伝子傷害性肝発がん物質と phenobarbital と ethanol の遺伝子発現解析 第 28 回日本分子生物学会年会 (2005 年 12 月)
- 6) 宮島正樹, 欒 洋, 渡辺貴志, 鈴木孝昌, 村上勝彦, 野村靖幸, 降旗千恵 大脳萎縮を示す老化促進モデルマウス (Senescence-Accelerated Mouse: SAM) SAMP10 の原因遺伝子に関する大集積 DNA マイクロアレイを用いた解析 第 28 回日

- 本分子生物学会年会 (2005. 12)
- 7) 鴻野貴司, 礮 洋, 鈴木孝昌, 野村靖幸, 太田浩良, 降旗千恵 8ヶ月齢の老化促進モデルマウス (Senescence-Accelerated Mouse: SAM) SAMP8 海馬における Transthyretin の発現低下 第 28 回日本分子生物学会年会 (2005. 12)
 - 8) Toshie Kanayasu-Toyoda, Tomofumi Fujino, Tadashi Oshizawa, Takayoshi Suzuki, Tomoko Nishimaki-Mogami, Yoji Sato, Jun-ichi Sawada, Kazuhide Inoue, Koichi Shudo, Yasuo Ohno, Teruhide Yamaguchi HX531, a retinoid X receptor antagonist, inhibited the 9-cis retinoic acid-induced binding with steroid receptor coactivator-1 as detected by surface plasmon resonance 第 78 回日本生化学会大会 (2005. 10)
 - 9) Declan Mulhern, Shinya Yokokawa, Hitoshi Shimizu, Arihiro Kohara, Takayoshi, Suzuki, Haruhiko Okuda, Naoki Miyata, Shin-ichi Ninomiya and Tetsuji Sudo Gene expression profiles of hepatotoxin-treated human hepatocytes can be used to cluster unknown compounds according to their mode of actions 第 32 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2005. 6)
 - 10) 横川 伸也, Declan Mulhern, 清水 和, 小原 有弘, 北島 正人, Jose Martin Ciloy, 鈴木 孝昌, 奥田 晴宏, 宮田 直樹, 二宮 真一, 須藤 哲司 網羅的遺伝子発現解析データを用いた肝毒性予測モデルの構築 第 32 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2005. 6)
 - 11) Takayoshi Suzuki Organ-specific toxicity of aristolochic acid; studied by the transgenic mouse mutation assay and the DNA microarray 2nd International Conference and Exposition on the Modernization of Traditional Chinese Medicine (成都、中国)
 - 12) Suzuki, T. , Luan, Y. , Honma, M. , Kogi, M. , and Yamaguchi, T. Application of microarrays for chromosome analysis 第 9 回国際環境変異原学会サテライトシンポジウム"トキシコゲノミクス" (ハワイ、米国)
 - 13) C Furihata, K Tobe, Y Nakachi, Y Kondoh, M Nakajima, S Hamada, C Namiki, T Suzuki, A Hyogo, M Hoshino, M Harada, T Tashiro, H Ito, H Inazumi, Y Sakaki and H Tashiro Original oligonucleotide microarray-based gene expression profile induced by genotoxic carcinogens and Phenobarbital in mouse liver 第 9 回国際環境変異原学会サテライトシンポジウム"トキシコゲノミクス" (ハワイ、米国)
 - 14) C. Furihata, K. Tobe, T. Watanabe, S. Maeda, M. Hirayama, M. Harada, M. Nakajima, S. Hamada, C. Namiki, T. Suzuki, Y. Nakachi, Y. Kondoh, T. Tashiro and C. Furihata Differentially expressed genes in mouse liver induced by N-nitroso carcinogenic compounds, phenobarbital and ethanol. 第 20 回国際生化学・分子生物学会 (2006 年 6 月)
 - 15) S. Yokokawa, D. Mulhern, Y. Ohshima, Y. Adachi, A. Kohara, T. Suzuki, H. Okuda, N. Miyata, S. Ninomiya T. Sudo Environmental factors outweigh drug-response factors at early time points in toxicogenomic experiments. 第 33 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2006 年 7 月)
 - 16) 鈴木孝昌 変異原処理による in vivo/in vitro 遺伝子発現日本動物実験代替法学会第 19 回大会 (2005 年 12 月)
 - 17) 鈴木孝昌, スレッシュ ティルパッティ, 小木美恵子, 山口照英, 本間正充, 礮 洋 染色体を観ずに染色体を診る技術としての CGH および SNP アレイの有用性 日本環境変異原学会第 35 回大会 (2006 年 11 月)
 - 18) スレッシュ ティルパッティ, 押澤 正, 山田勉也, 佐伯憲一, 山口照英, 鈴木孝昌 プロテオミクスを用いた変異原研究に有用なバイオマーカーの探索 日本環境変異原学会第 35 回大会 (2006 年 11 月)
 - 19) T. Suzuki , Y. Luan, M. Honma, S. Thiruppathi, M. Kogi, T. Yamaguchi CGH AND SNP ARRAYS ARE POWERFUL TOOLS FOR

- CHROMOSOME ANALYSIS EMS Annual Meeting
2006 (2006年9月)
- 20) Takayoshi Suzuki Toxicogenomic approach in mutation research International conference on Biomarkers in Health and Environmental Management and XXXII EMSI Annual Meeting (2007年1月)
- 21) 田邊思帆里, 佐藤陽治, 鈴木孝昌, 長尾拓, 山口照英 ヒト骨髄由来間葉系幹細胞の品質管理に関するゲノムプロファイリング 日本薬学会第127年会 (2007年3月)
- 22) 豊田淑江, 押澤正, 石井明子, 鈴木孝昌, 山口照英 Thrombopoietin (TPO) による AC133 陽性細胞より分化する血管内皮前駆細胞 (EPC) の分化促進作用 日本薬学会第127年会 (2007年3月)
- 23) 鈴木孝昌, 樂洋, 田邊思帆里, 佐藤陽治, 小木美恵子, 山口照英 ヒト間葉系幹細胞培養時の染色体安定性の解析 第5回日本再生医療学会総会 (2007年3月)
- 24) 田邊思帆里, 鈴木孝昌, 山口照英, 鈴木和博, 佐藤陽治: 細胞治療薬応用を目的とした骨髄由来間葉系幹細胞のゲノムプロファイリング 日本ケミカルバイオロジー研究会第2回年会 (2007年5月)
- 25) 鈴木孝昌 生殖細胞特異的変異原物質は存在するか? ~トランスジェニックマウスを用いた突然変異試験結果より~ 第34回日本トキシコロジー学会 (2007年6月)
- 26) Y. Luan, T. Suzuki, M. Honma, J. Ren Application of SNP and CGH arrays for Chromosome analysis. International Congress on Toxicology (2007年7月)
- 27) T. Suzuki, Y. Luan, D. Prabha, M. Kogi, M. Honma, T. Koizumi, S. Tanabe, Y. Sato, K. Suzuki, and T. Yamaguchi CGH and SNP Arrays; as New Tools for Detailed Analysis of Chromosome The 8th International Symposium on Chromosomal Aberrations (2007年10月)
- 28) T. Suzuki, T. Koizumi, D. Prabha, M. Honma, S. Hamada, M. Nakajima, T. Watanabe, C. Furihata Collaborative study on the toxicogenomics in JEMS/MMS II: High-throughput Quantitative Real-time PCR analysis by the TaqMan Low Density Array The 1st Asian Conference on Environmental Mutagens (2007年11月)
- 29) C. Furihata, T. Watanabe, A. Tadakuma, M. Sakurai, T. Suzuki, S. Hamada, K. Narumi, M. Nakajima, A. Koeda, T. Sakuma, K. Oshida, H. Sanada, M. Hirayama Collaborative study of JEMS/MMS/Toxicogenomics: Quantitative real-time PCR analysis on mouse liver carcinogens. The 1st Asian Conference on Environmental Mutagens (2007年11月)
- 30) 田邊 思帆里, 佐藤 陽治, 鈴木 孝昌, 鈴木 和博, 山口 照英 遺伝子発現プロファイリングによる新規ヒト骨髄由来間葉系幹細胞継代培養時系列マーカー遺伝子の探索 BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会) (2007年12月)
- 31) 押澤正, 豊田淑江, 内田恵理子, 鈴木孝昌, 鈴木和博, 山口照英 カルシウム結合タンパク質 S100A8 は HL-60 細胞の好中球分化において増殖・分化に重要な働きをする BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会) (2007年12月)
- 32) T Suzuki, T Suresh, K Ramesh, T Oshizawa, K Suzuki Searching for the hepatotoxicity-related makers in urinary proteome by the nano-LC MS/MS and original software "mzMore" International Conference on Toxic Exposure Related Biomarker, Genome and Health Effects (2008年1月)
- ・細胞レベルでのメタボロミクス技術の開発
- 1) 小原有弘, 水澤博・国内培養細胞研究資源の現状とJCRB細胞バンクにおける品質管理・日本組織培養学会 (2005. 5. 26)
- 2) Arihiro Kohara, Tohru Masui, Hiroshi Mizusawa・Training Procedures in Cell Culture・Society for In Vitro Biology (2005. 6. 6)
- 3) Arihiro Kohara, Yutaka Ozawa, Setusko Shioda, Tohru Masui, Masao Takeuchi, Hiroshi Mizusawa・Developing an In Vitro

- Gene Expression Assay for Predicting Hepatotoxicity. ・ 9th ICEM Satellite Meeting on Toxicogenomics (2005. 9. 1)
- 4) 小原有弘・ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) の研究成果発表展示・日本分子生物学会 (2005. 12. 7-9)
 - 5) Arihiro Kohara, Yutaka Ozawa, Setusko Shioda, Tohru Masui, Kikuko Takeuchi, Masao Takeuchi, Hiroshi Mizusawa・High Resolution Genomic Analysis of Immortalized human Cells and Tumor Cells Using Array-Based Comparative Genomic Hybridization. EMS Annual Meeting (Vancouver, 2006. 9. 16-21)
 - 6) 小原有弘・ヒト由来培養細胞系で多発するクロスコンタミネーションの検出. 第7回アデノウイルス研究会 (2006. 11. 19)
 - 7) 小原有弘・hTERTにより不死化したヒト間葉系幹細胞の染色体安定性と形質. 日本再生医療学会 (2007. 3. 13-14)
 - 8) Masui, T., Kohara, A., Mizusawa, H. Revisited informed consent: how we can support blanket consent. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Oct., 2007.
 - 9) 増井徹、小原有弘、水澤博 包括同意を支える施策について. 第18回日本疫学会学術総会 Jan. , 2008.
 - 10) 増井徹、小原有弘、水澤博ヒト研究資源の規制状況：包括同意の問題. 第80回日本組織培養学会大会 May. 2007.
 - 11) 小原有弘 マイコプラズマ迅速検査法の紹介とその実践 第80回日本組織培養学会大会 May. 2007.
 - 12) Arihiro Kohara High-Resolution Genomic Analysis of Immortalized Human Cells and Human Tumor Cells Using Array-Based Comparative Genomic Hybridization. The 8th International Symposium on Chromosomal Aberrations. Oct. 2007.
 - 13) 水澤博 厚生労働省 創薬医学研究用研究資源 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会 Dec. 2007.
 - 14) 小原有弘 培養細胞におけるゲノム・染色体解析の重要性 第29回日本バイオマテリアル学会大会 Nov. 2007.
 - 15) Arihiro Kohara High-resolution genomic analysis of immortalized human cells and human tumor cells using array-based comparative genomic hybridization. 47th ASCB Annual Meeting Dec. 2007.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図表

I NMR を用いたメタボノミクス解析, 高感度化技術の開発

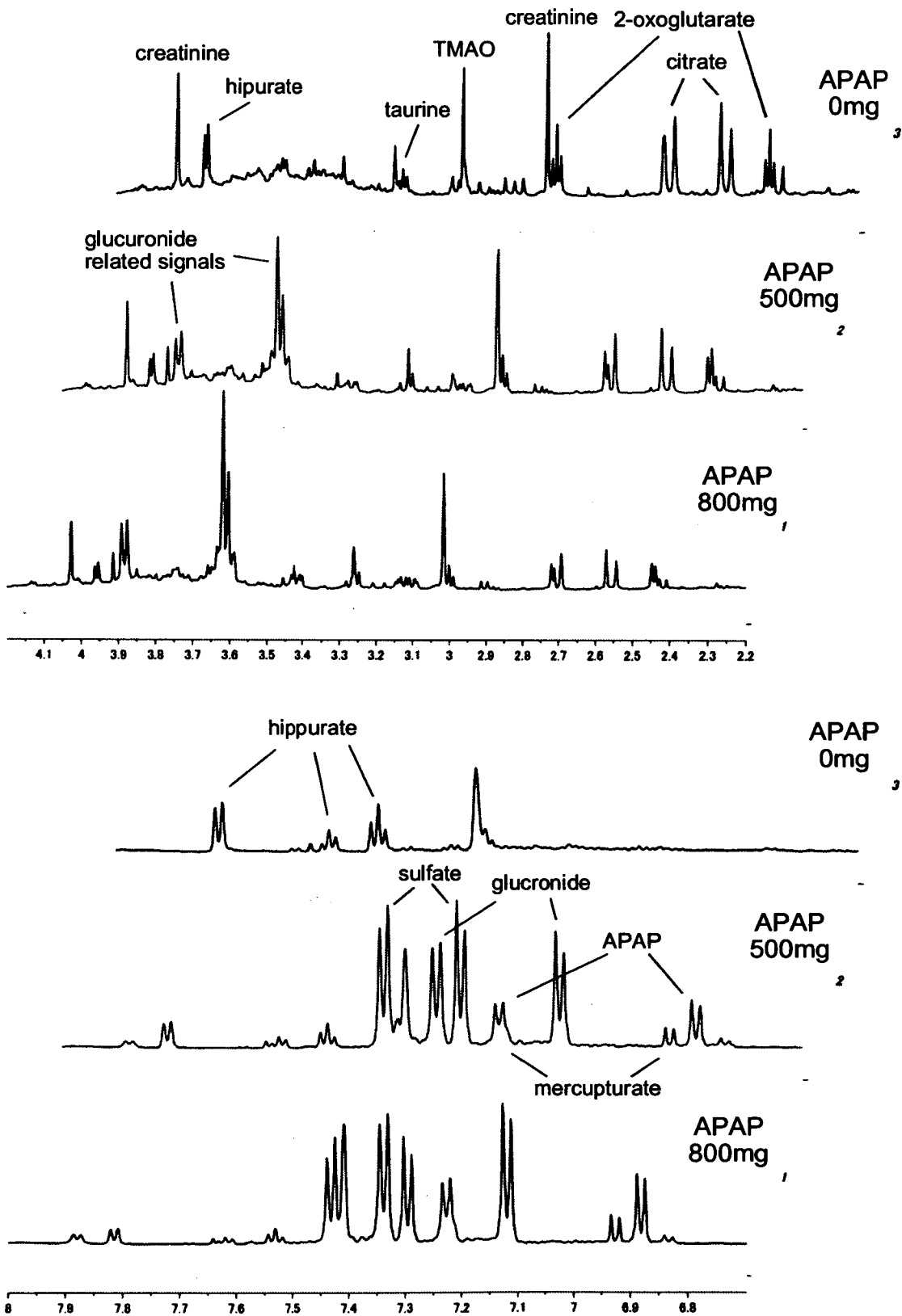
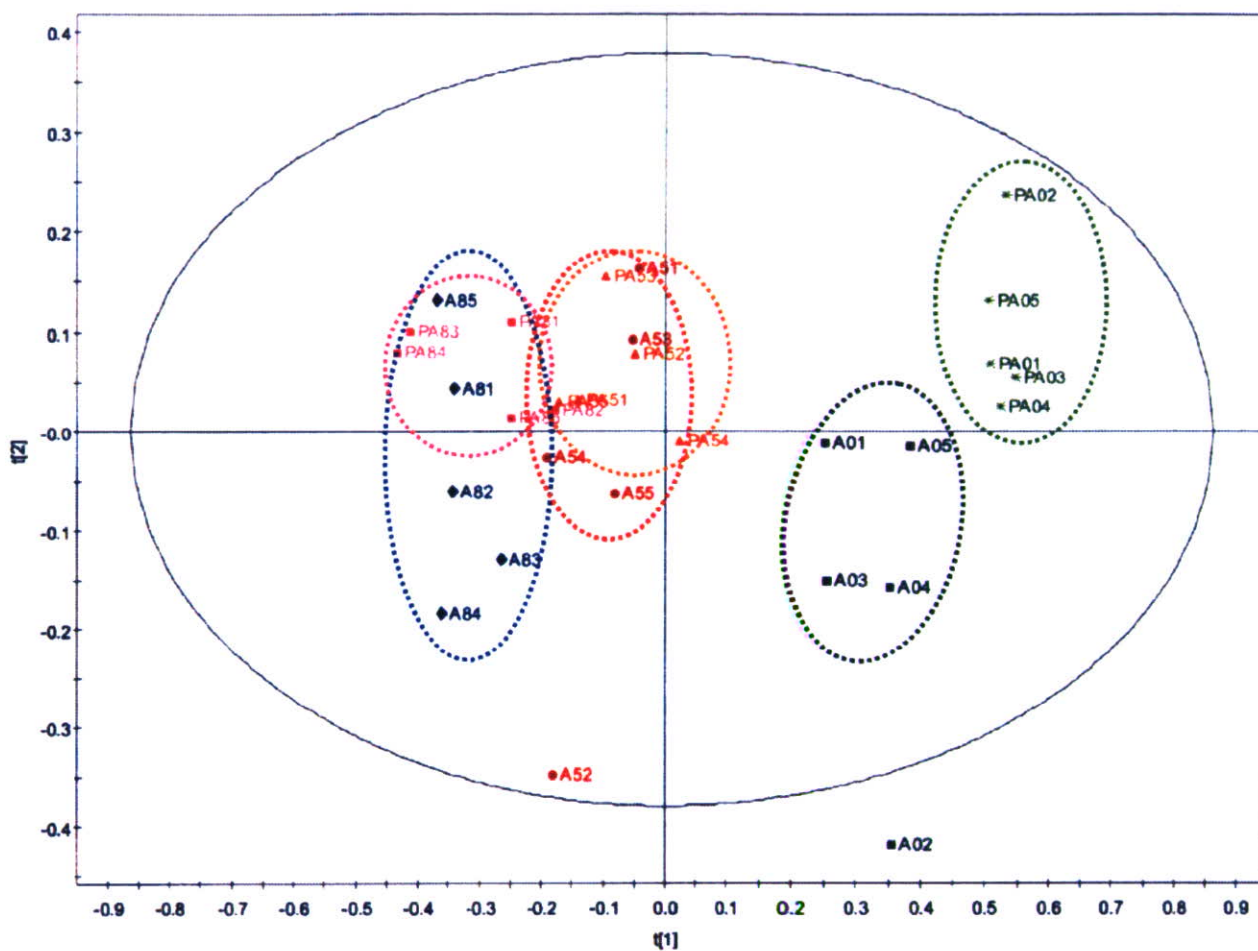


図 1. APAP 投与ラット尿の ¹H NMR スペクトル



PB APAP (mg/kg)

■	0	0
●	0	500
◆	0	800
◀	100	0
▲	100	500
■	100	800

図2. 尿から得られた¹H NMR スペクトルのスコアプロット
(主成分 1-2)
APAP および APAP 代謝物領域を除いた主成分分析

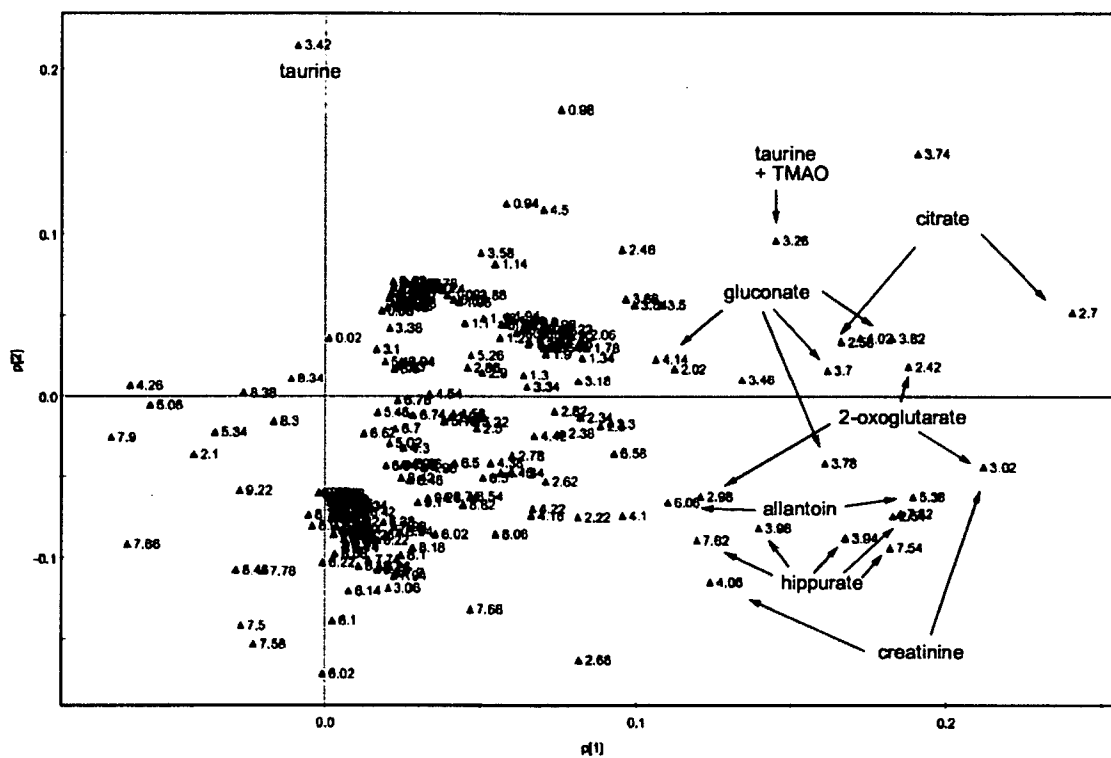
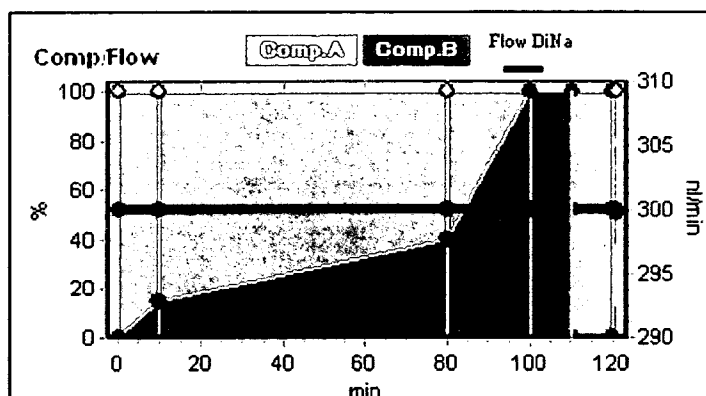


図 3. 尿から得られた ^1H NMR スペクトルのローディングプロット
 (主成分 1-2)
 APAP および APAP 代謝物領域を除いた主成分分析

図表

VI LC/MS/MS を用いた網羅的プロテオミクス・ペプチドミクス技術の開発ならびに解析

図1 LCのグラジエント例



Solvent A; 2% アセトニトリル、0.1% ギ酸

Solvent B; 80% アセトニトリル、0.1% ギ酸

Flow rate; 300 nl./min

図2 オンラインナノ LC-MS/MS (Q-TOF) システム

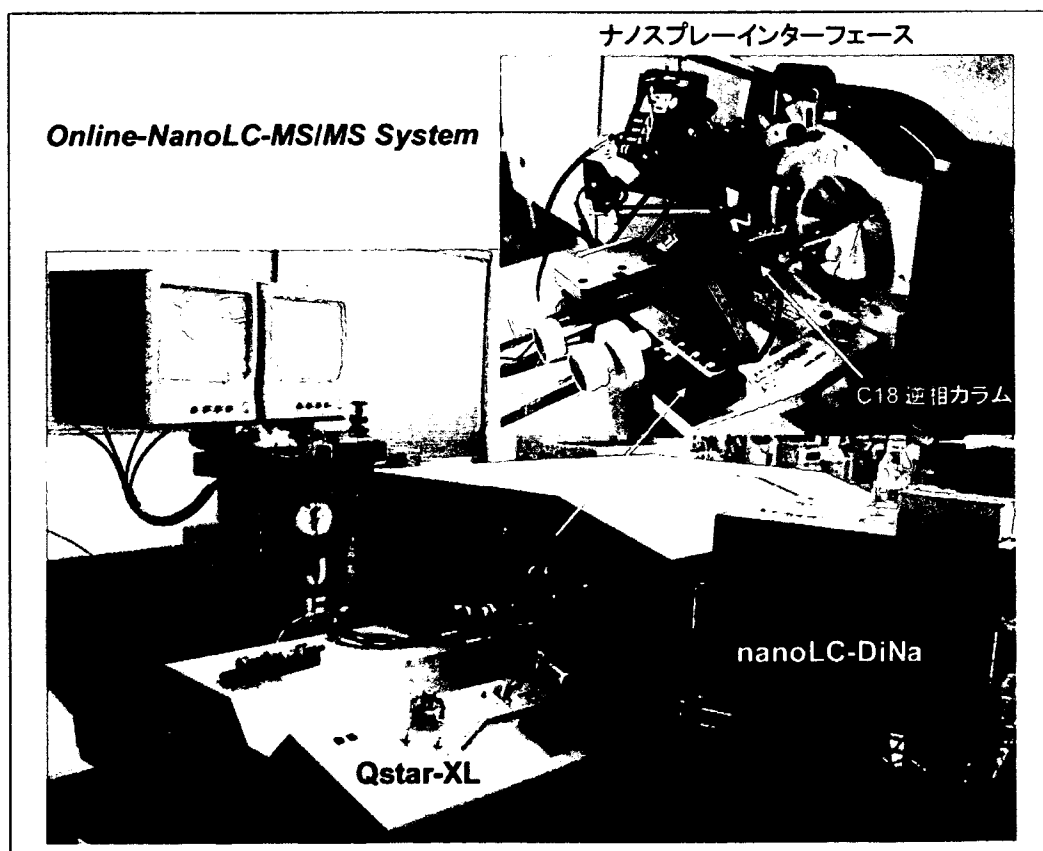


図4 ラット尿サンプルのLC-MS解析データの三次元プロット

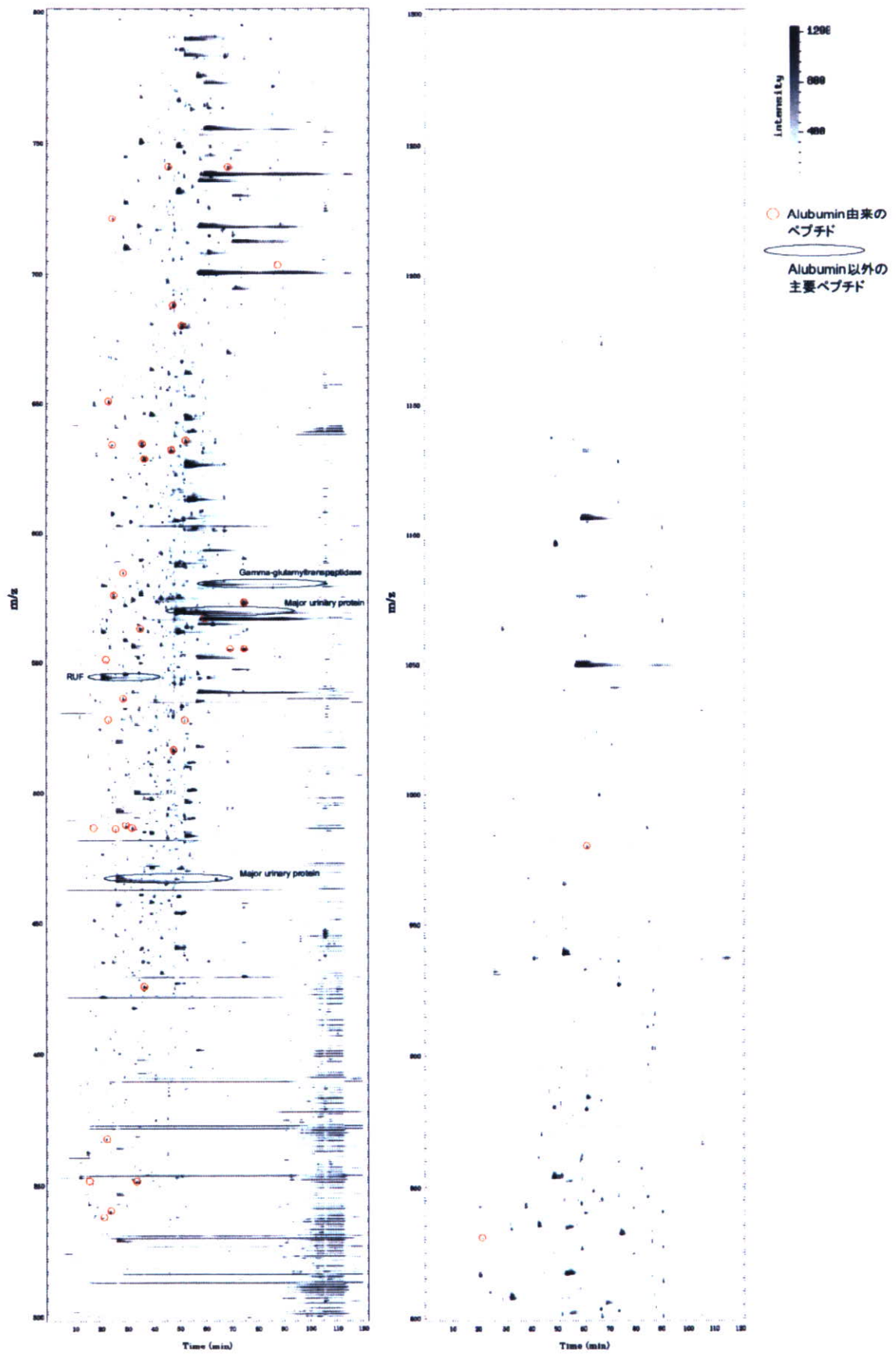


図5 (800-900m/z の部分を拡大)

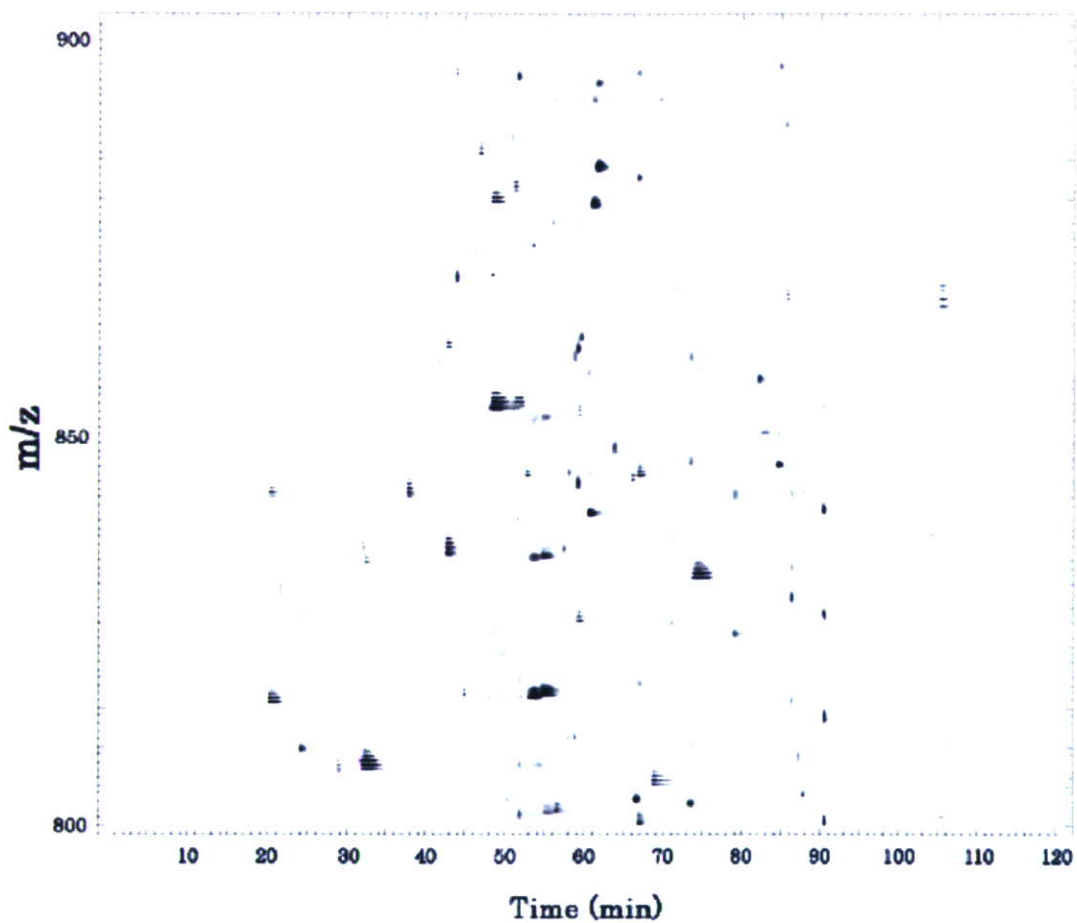


図6 ノンラベル法により測定した2サンプルデータの重ね合わせ (MSlight)

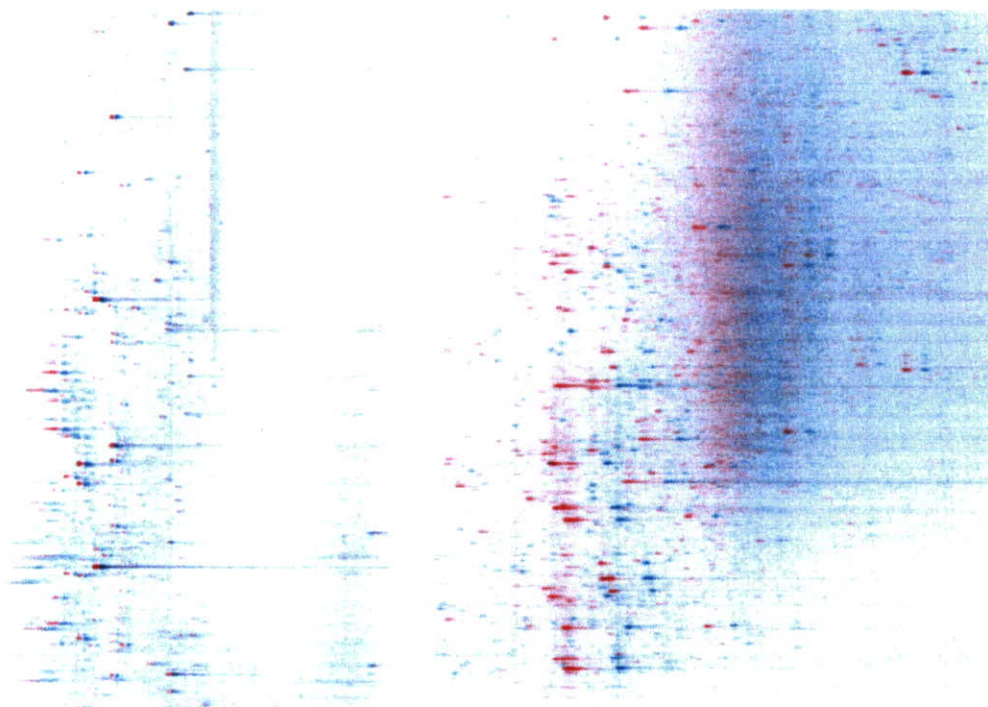
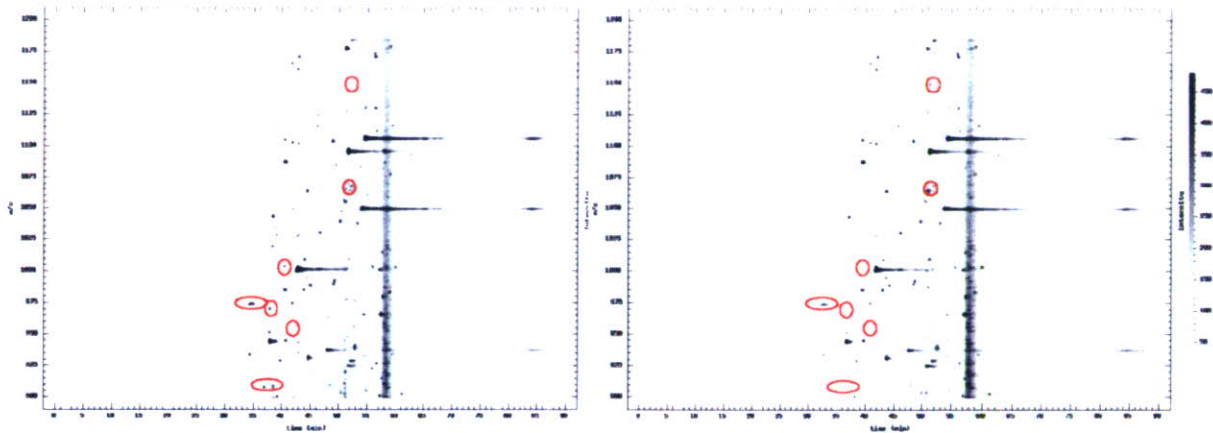


図7 同一サンプルによる LC-MS データの再現性



Pep3D images showing the data from the same urine sample of two LCMS analysis in same settings. Variation in retention time and sensitivity can be seen in all the areas, the area marked in the red circles has more difference that can be visually identified

図8 ICAT 解析の流れ

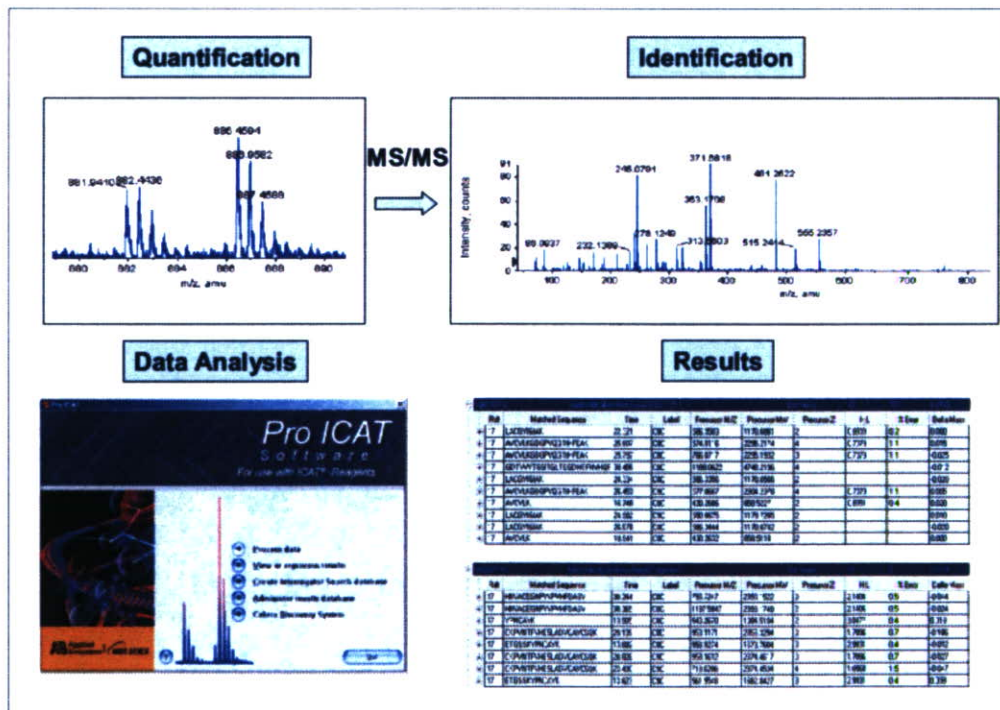


図9 ICAT ラベル化法による解析例

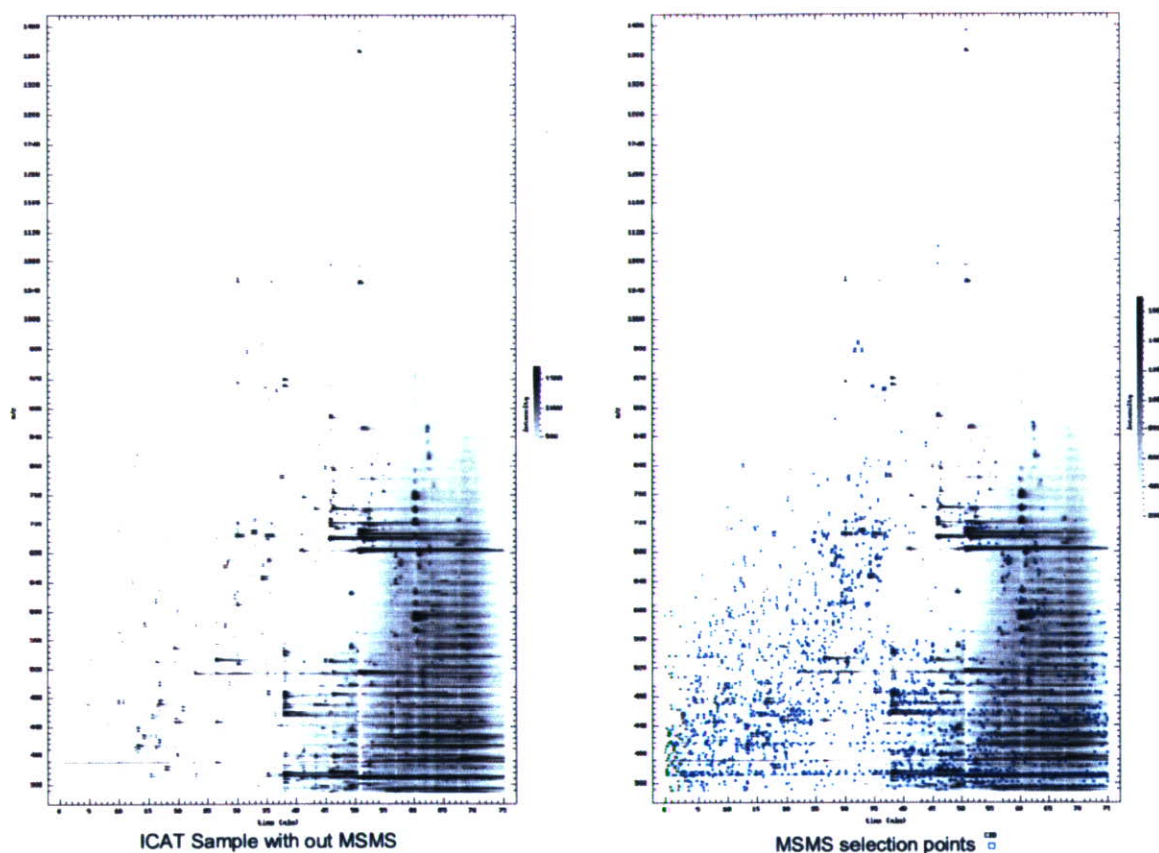


図10 MS/MS データ取得における問題点

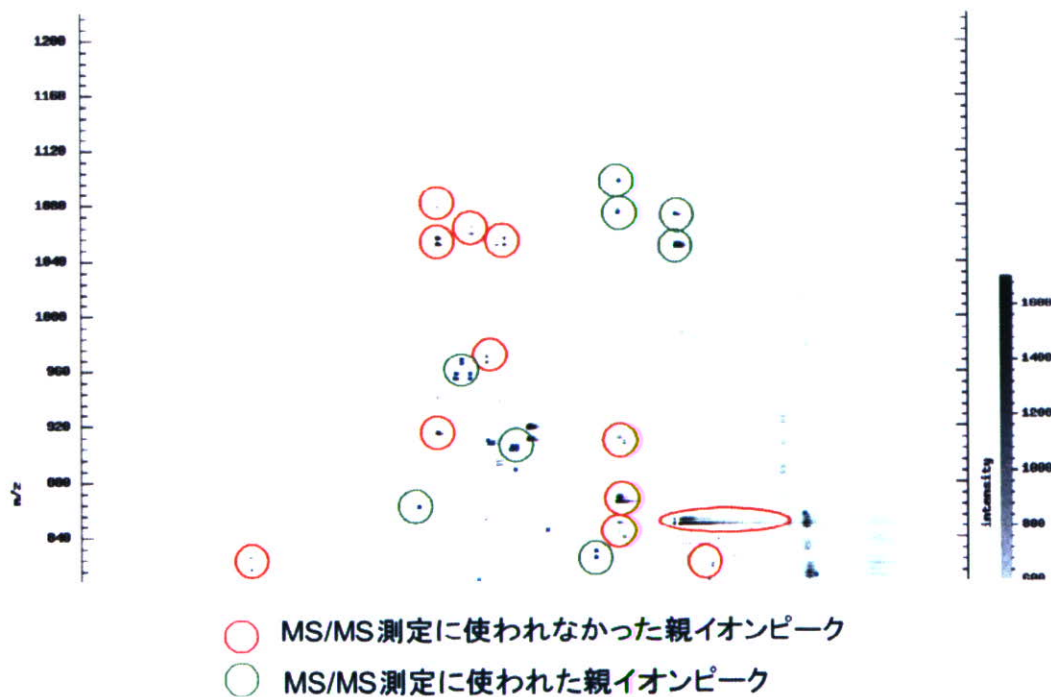
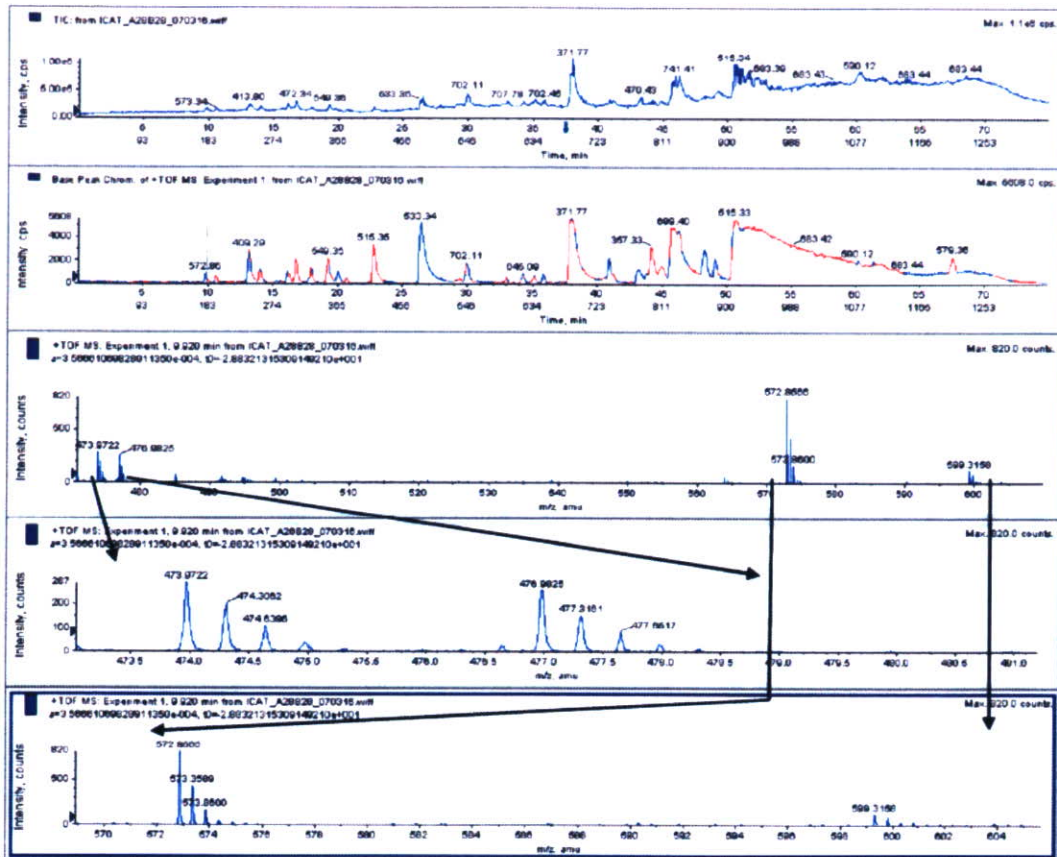


図 11 ICAT による発現差が確認されたものの MS/MS 測定が行われなかったピークの例



Showing TOF MS peaks of cICAT labeled samples with peak with light and heavy label pair and peaks with out its pair (possible biomarker candidate). Even though the signal are of good quality it could not be identified by the standard cICAT method of data processing (identify and quantify).

図 12 ProICAT ソフトウェアによる同定、定量結果

Pro Group Report

Report Parameters:
 ProtScore threshold: 1.30; Show competitor proteins within ProtScore: 2.00; Software version: 1.0.2

Report Statistics (2899 total spectra):

Confidence (ProtScore) Cutoff	Proteins Identified	Proteins before Grouping	Distinct Peptides	Spectra Identified	% of Total Spectra
>99 (2.0)	0	0	0	0	0.0
>95 (1.3)	1	1	2	2	0.1
>66 (0.47)	5	10	7	12	0.6
As shown: >95 (1.30)	1	1	2	2	0.1

1.1 Data File: f:\project\wiff file\2007\03\ICAT_A28828_070316.wiff
 Interrogator DB: Test_Inter_Sear_DB_0919; ID Range: 1-1340; Quant Range: 1-1340
 Comments:
 Date of Run: 3/16/2007 22:45:32
 MS Tolerance: 0.3; MSMS Tolerance: 0.15; Modification Tolerance: 0
 Max #IDs: 20; Confidence Threshold: 0
 Custom amino acids: D -> M, Z -> C
 Result DB: C:\Program Files\Pro ICAT\Pro ICAT tutorial.mdb; Result #: 15

Group Report				Protein Summary					
N	Unused ProtSc	Total ProtSc	Accession	Protein Name	Species	Conf	Sequence	Mod	Zone
1	2.00	2.00	gi 125142	Ig kappa chain C region, A allele		60	NNLYTCEVVHK	(heavy)	
						6	NNLYTCEVVHK	(heavy)	

図 13 ノンラベル法によるマウス尿サンプル TOF-MS データの比較

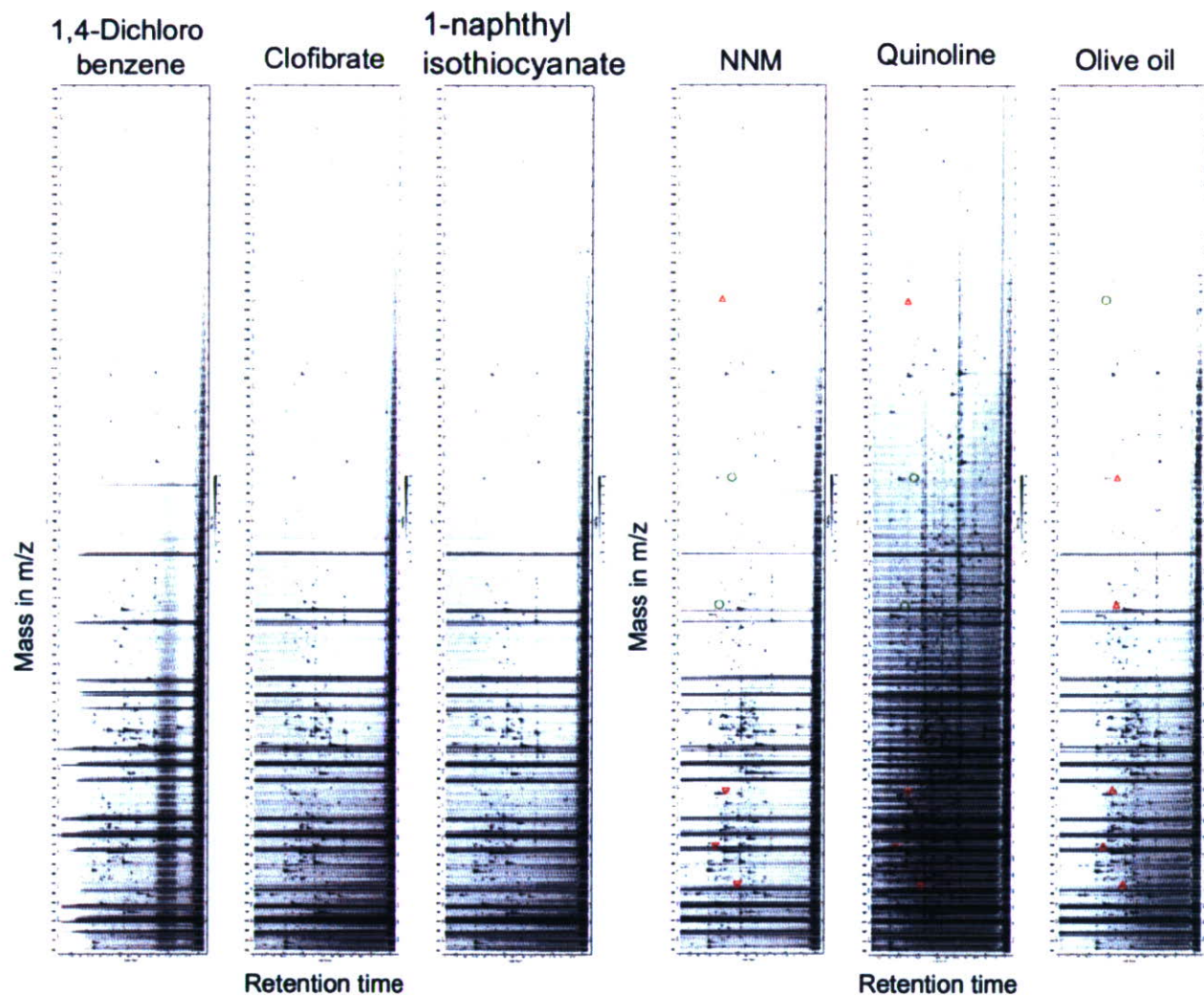


図 14 発現差の見られたピークの抽出

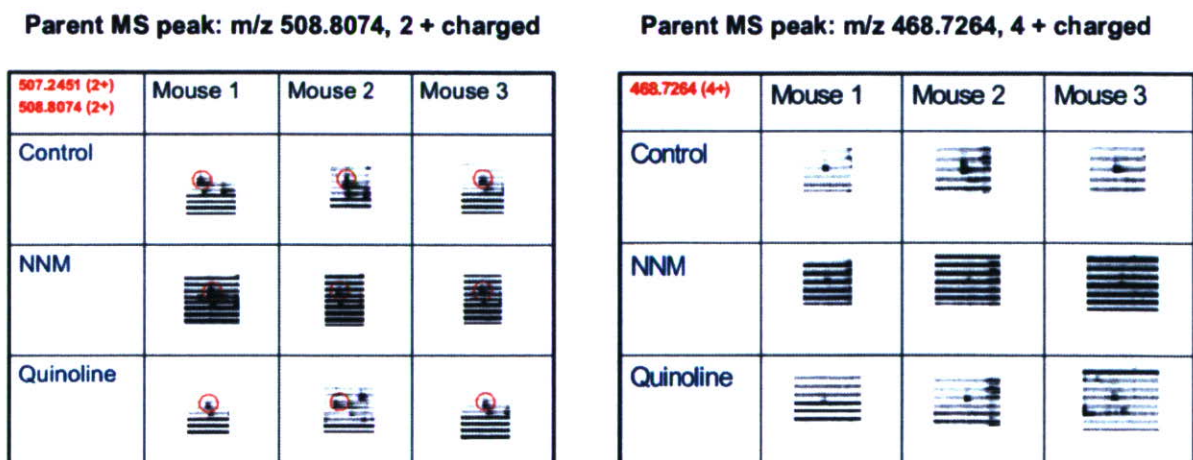


図 15 マーカー候補ペプチドのフォーカス MS/MS 測定による同定

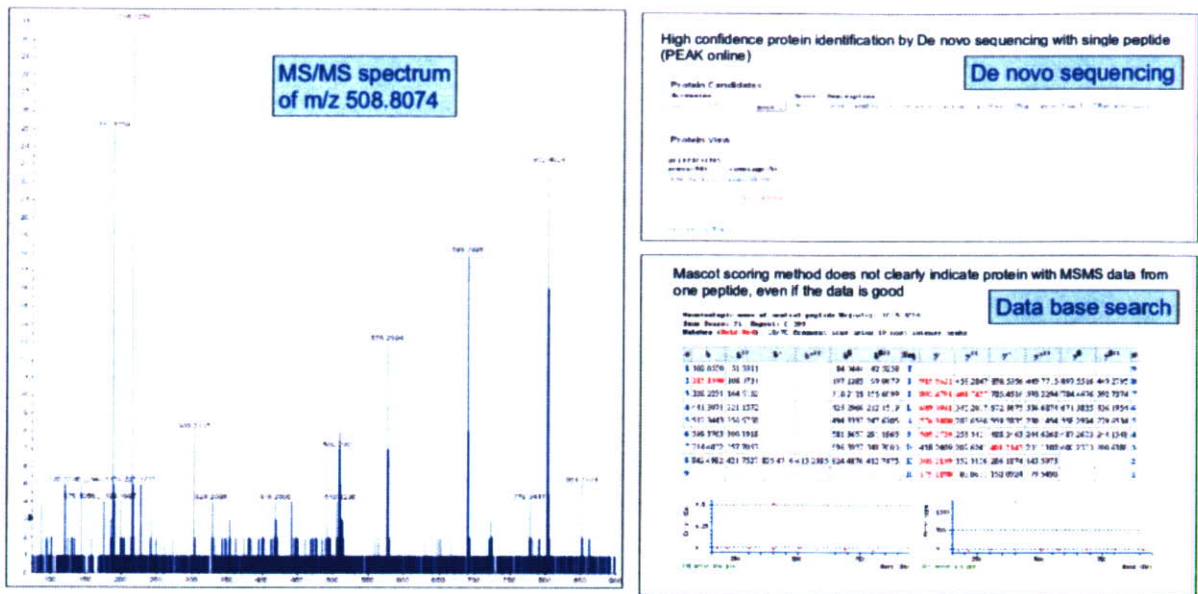


図 16 cICAT ラベル化と比較実験のデザイン

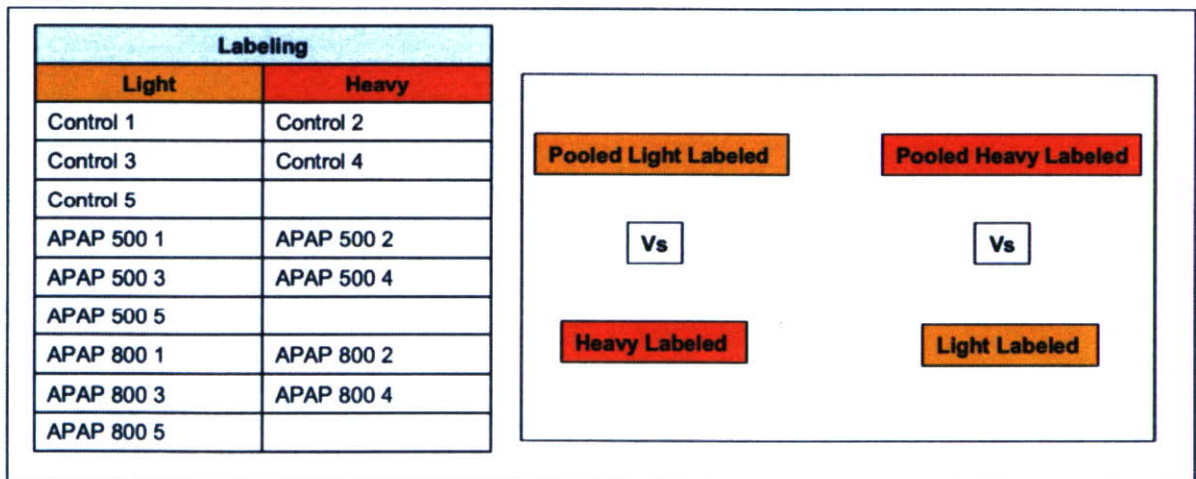


図 17 cICAT データの 3 次元可視化

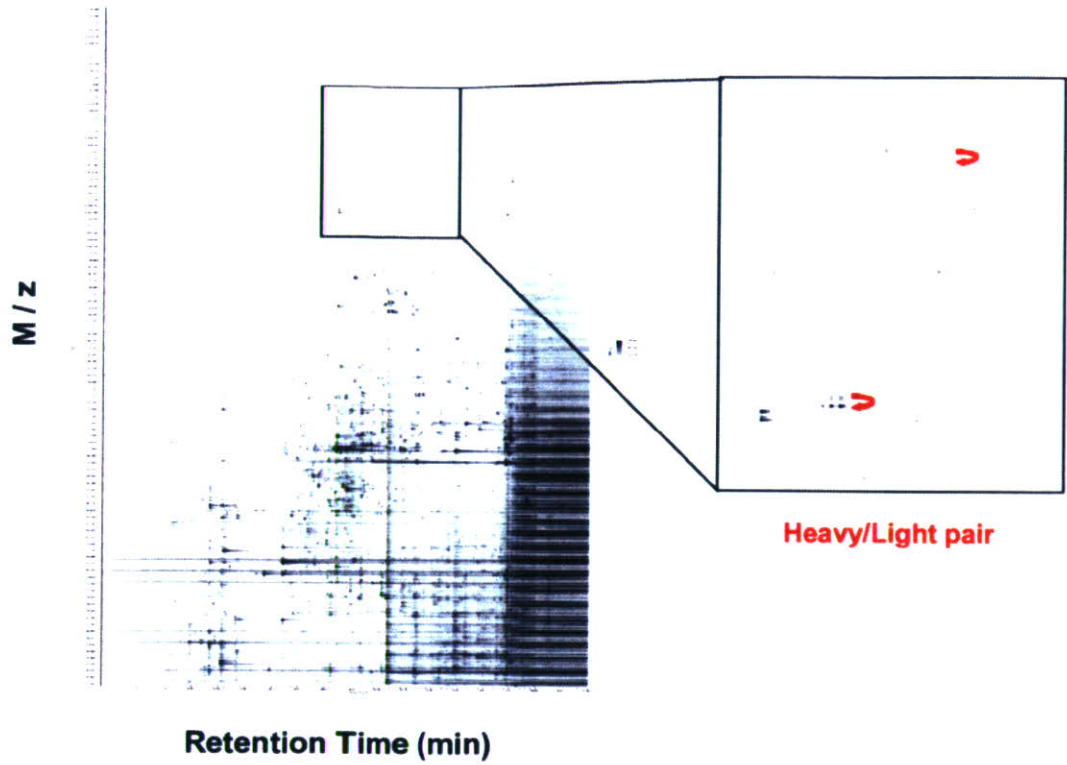


図 18 目視による Heavy/Light タグペプチドピークの比較とマーカー候補の選択

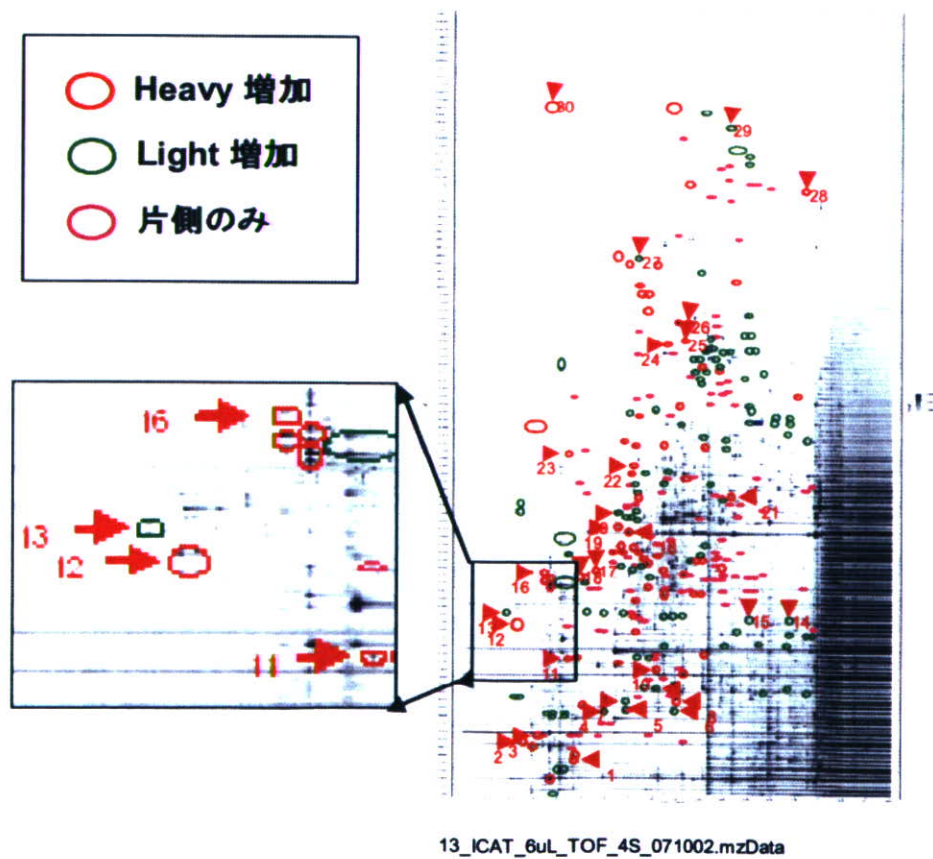


図 19 データ解析ソフト”Mzmore “開発のための課題と戦略

Peak Identification and Quantification

- Peptide peaks will be identified based on the charge state of the peaks
- The identified peaks will be grouped in each scans/retention time
- Grouped peaks in each scan will be merged to its mono isotopic peak
- The merged mono isotopic peaks will be again merged to the same peaks if available in the subsequent scan.
- This grouping will represent the data in a single point. The data with high resolution is important for this step.
- Different charge state peaks from same peptides will be merged for reducing the complexity and for accurate quantification
- The retention time of the merged peaks will be retained for the differential analysis

Noise Removal

- When the data processed as mentioned in the above steps will extract only the peptide signals and elimination the noise.

Data Normalization

- To normalize the data in terms of sensitivity, two strategies are being considered. First to use a internal spike like some know peptide know concentration or secondly use some of the constantly solvent peaks that constantly comes through out the MS run.
- Merging of the peaks will also help to normalize the data to certain extent both in retention time and sensitivity

Visualization

- The groped and merged data will be plotted in a multicolour 2D density plot
- The 2D density plot will be useful for visual verification and comparison of the data

Data Export

- The data will be exported in a suitable format for statistical analysis.

図 20 mzMore ソフトウェアによるピーク認識の例

Screen shot of mzMore (peak identification verification screen)

Retention times (total: 2700): 50

All Available Mass/Intensity Values :

No.	Mass	Intensity
85	253.9567	70
86	253.9637	25
87	253.9687	47
88	253.9746	50
89	253.9806	31
90	253.9866	9
91	253.9926	14
92	253.9986	10
93	254.0046	6
94	254.1422	5
95	254.8909	5
96	254.8969	12
97	254.9029	24
98	254.9089	38
99	254.9149	50
100	254.9209	65
101	254.9269	86
102	254.9329	91
103	254.9389	72
104	254.9449	70
105	254.9509	52
106	254.9569	62

Export...

Detected Peak Series :

Index	Peak Top Mass	Intensity	Charge	Mono-isotopic?
717	362.1671	508	2	Yes
741	362.6675	191	2	No
760	363.161	73	2	No

Data pairs at this instant: 1224

Close

図 21 mzMore によるピーク検出のストラテジー

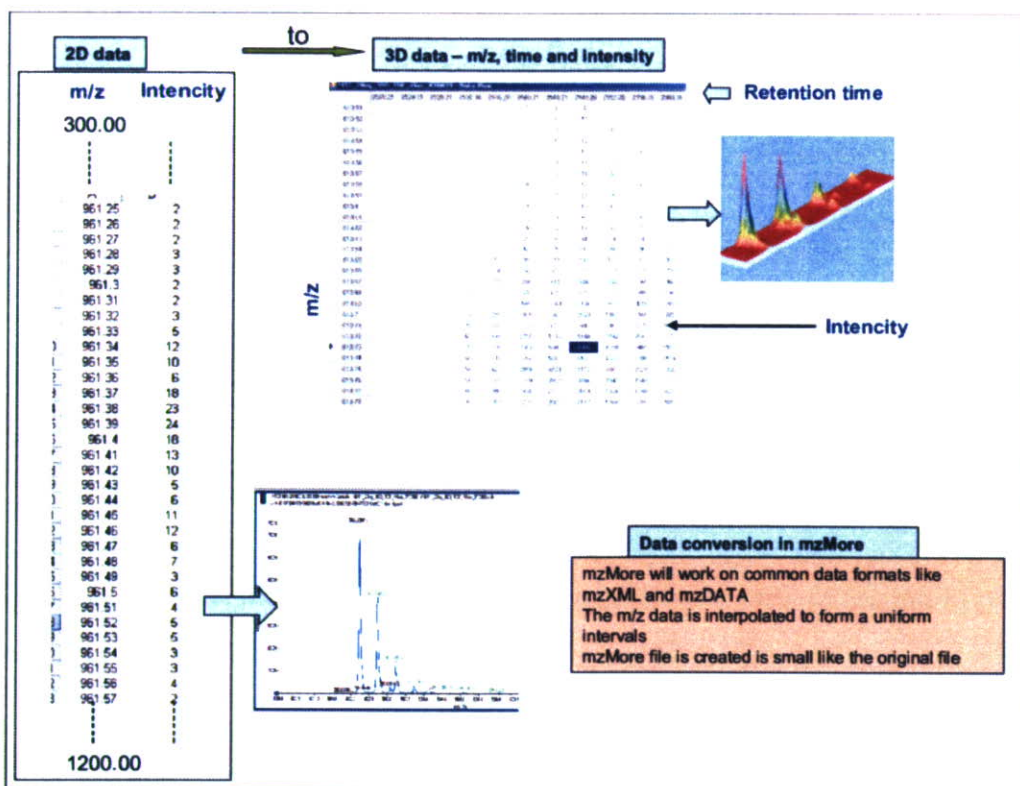


図 22 mzMore によるデータアウトプット

