

- 一 熊本 2013 年 8 月 23 日～24 日
51. 高田龍平、鈴木洋史 脂質異常症治療薬の薬効標的：コレステロールトランスポーター NPC1L1 Pharmacological target for dyslipidemia: a cholesterol transporter NPC1L1 第 31 回日本ヒト細胞学会学術集会 所沢 2013 年 8 月 10 日～11 日
52. 崎山真幸、松尾洋孝、市田公美、高田龍平、中山昌喜、中島宏、中村好宏、河村優輔、高田雄三、井上寛規、清水聖子、千葉俊周、浜島信之、鈴木洋史、金井好克、櫻井裕、細谷龍男、清水徹、四ノ宮成祥 若年発症痛風の主たる要因としての ABCG2 遺伝子の機能低下型変異 Common dysfunction variants in ABCG2 gene as a major cause of early-onset gout 第 31 回日本ヒト細胞学会学術集会 所沢 2013 年 8 月 10 日～11 日
53. 千葉俊周、松尾洋孝、市田公美、高田龍平、中山昌喜、清水徹、中島宏、中村好宏、高田雄三、河村優輔、崎山真幸、井上寛規、岡田千紗、櫻井裕、細谷龍男、鈴木洋史、四ノ宮成祥 ABCG2 の分子機序解明による新規高尿酸血症分類の提唱 New classification of hyperuricemia proposed by molecular mechanism of ABCG2 第 31 回日本ヒト細胞学会学術集会 所沢 2013 年 8 月 10 日～11 日
54. 豊田優、高田龍平、中川大、山本英明、田川陽一、山本武人、五味常明、石川智久、鈴木洋史 ABCG2 の生理的機能解析を目指したトランスジェニックマウスの作出 第 8 回トランスポーター研究会年会 熊本 2013 年 6 月 15 日～16 日【受賞】
55. 加藤八重、松尾洋孝、中山昌喜、高島瑶子、高田雄三、中島宏、中村好弘、高田龍平、清水聖子、崎山真幸、千葉俊周、小県系開、及川雄二、丹羽和紀、櫻井裕、浜島信之、市田公美、四ノ宮成祥 環境要因よりも強い遺伝的要因：輸送体 ABCG2 機能が血清尿酸値に与える影響 第 8 回トランスポーター研究会年会 熊本 2013 年 6 月

15日～16日【受賞】

56. 中村真希子、松尾洋孝、高田龍平、
中山昌喜、清水徹、細山田真、四
ノ宮成祥、鈴木洋史、細谷龍男、
市田公美 腸管尿酸排泄低下に起
因する新たな「腎負荷型」高尿酸
血症の解明 A common
mechanism of hyperuricemia with
decreased urate excretion from
intestine 第56回日本腎臓学会学
術総会 東京 2013年5月10日
～12日【受賞】

57. 市田公美、松尾洋孝、高田龍平、
中山昌喜、四ノ宮成祥、鈴木洋史、
細谷龍男 高尿酸血症の主要な新
規機序の発見—腎外排泄低下型高
尿酸血症 第110回日本内科学会
講演会 東京 2013年4月12日
～14日

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当ありません

添付資料1-1

LC-MS/MS測定条件

●HPLC (DIONEX Ultimate3000RS)

カラム : Thermo Synchronis AQ 2.1x100mm 5u
移動相A : 0.1% ギ酸水溶液
移動相B : アセトニトリル
流速 : 300 μ l/min
注入量 : 2 μ l
カラム温度 : 40°C

min	init	5	10	30.0	30.1
%A	100	100	10	10	100
%B	0	0	90	90	0

グラジエント条件：
30.1-40分まで平衡化

●MS (Q exactive) イオン化条件

スプレー電圧 (KV) : 3.0/2.5
コロナ放電電流 (μ A) : -
ベーパーライザ温度 : 400
キャピラリー温度 : 250
窒素ガス流量 (arb) : 50/20
S-lens-level : 50
(ESI-Positive/Negative)

●MS検出条件

Full MS

設定分解能 フルスキャン : 70,000@m/z 200
AGC target : 1e6
Maximum Injection time (ms) : 250
Scan range : m/z 100- m/z 800

MS2 (データディペンデントスキャンを使用)

設定分解能 MS2 : 17,500@m/z200
Loop count : 5
AGC target : 1e5
HCD/Stepped collision : 30/50
Under fill ratio : 5
Apex trigger : 3-10

添付資料1-2

差異解析ソフトSIEVE2.0による解析条件

SIEVE Parameters	
Experiment Target	METABOLOMICS
Experiment Type	NORMALIZED_TREND
MaxThreads	4
MZStart	100
MZStop	800
Name	dcp_neg_2
PCAPProcess	BYPASS_MORE_THAN_8K (Collection)
Rawfiles	1107_control.raw
ReferenceFile	
RTStart	0
RTStop	40.01
ScanFilter	FTMS - p ESI Full ms [100.00-800.00]
1. Alignment Parameters	
AlignmentBypass	True
AlignmentMinIntensity	1000
CorrelationBinWidth	1
TileSize	300
2. Frame Parameters	
Conditions	:
ControlGroup	control
FrameSeedFile	
FramesFromMS2Scans	False
KMClusters	0
MaximumFrames	5000
MZWidthPPM	10
PerfectPair	
PRMaxCharge	5
RTWidth	2.5
Threshold	50000
Trendpoints	blank:control:sample:
3. Global Identification Parameters	
AssumedCharge	1
MaximumIDs	10000
SearchSource	CHEMSPIDER
4. Accurate Mass Identification Parameters	
Adduct	-nH:
ChemSpiderDBs	KEGG
DBLibraryFile	
DBLookupMethod	FRAMEMZ
MZTolerance	10

Adduct
ChemSpider identification only; Provide adduct for mass calculation (valid choices: +nH -nH +K +Na +NH4 separated by ':')

Export Update

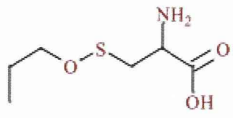
添付資料2-1

メタボローム差異解析によって見出された代謝物リスト

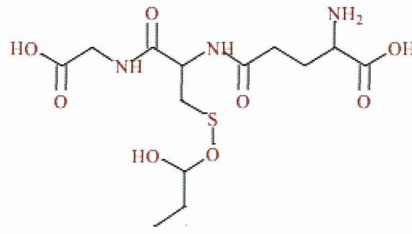
No.	Time	m/z (positive)	m/z (negative)	Formula	Avg_sample pos	Avg_sample neg
1	1.34	180.0687	178.0549	C6H13O3NS	2590410	524302
2	1.37	382.1276	380.1145	C13H23O8N3S	1981044	821106
3	1.37	194.048	192.0342	C6H11O4NS	702407	-
4	1.76	123.0473	-	C4H10O2S	2895271	-
5	1.92	290.134	288.1208	C11H19O6N3	52148690	17508959
6	2.23	237.0901	-	C8H16O4N2S	2510369	-
7	3.88	364.117	362.104	C13H21O7N3S	11651106	3886475
8	4.05	366.1322	364.1192	C13H23O7N3S	101007485	35960778
9	4.64	380.1118	378.0987	C13H21O8N3S	12270655	5784296
10	9.16	222.0791	220.0655	C8H16O4NS	1657786	2067586
11	11.24	408.1432	406.1301	C15H25O8N3S	1090361	1079507
12	13.36	382.083	380.0702	C13H20O6N3CIS	277508	113693
13	14.71	248.0949	246.0813	C10H18O4NS	1222611	729174

No.5, 11, 13は、コントロール群とサンプル群とで差異は見出されたものの、代謝物かどうかの判別はしかねるピークであった。

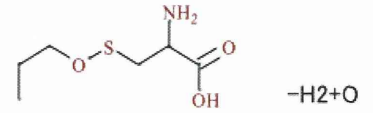
添付資料2-2



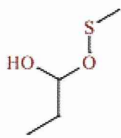
No.1



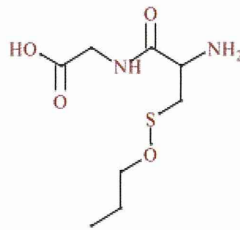
No.2



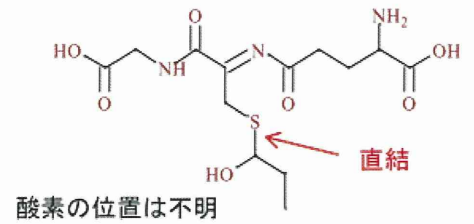
No.3



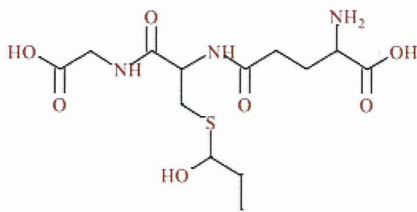
No.4



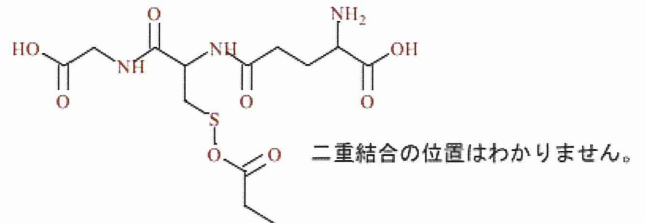
No.6



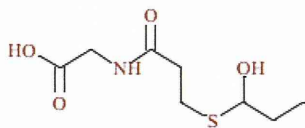
No.7



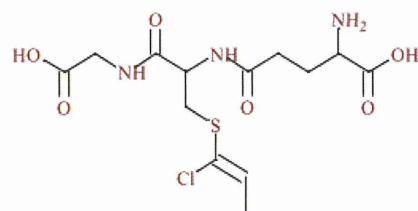
No.8



No.9



No.10

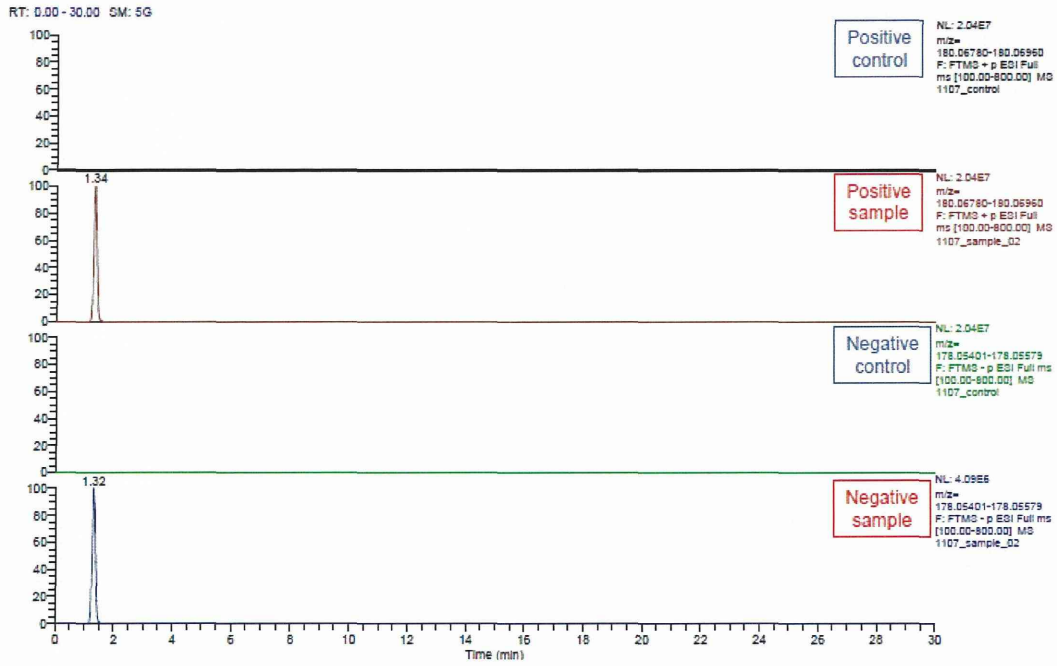


No.12

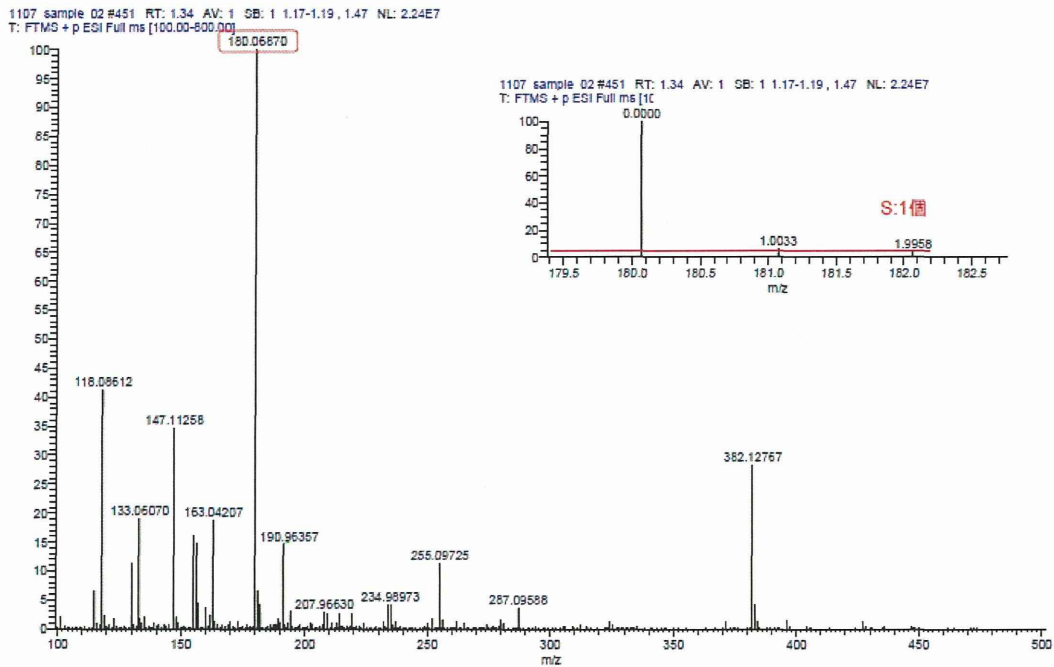
No.5, 11, 13は代謝物かどうかの判別がつかねる

メタボローム差異解析によって見出された各代謝物の推定構造式

添付資料2-3-1



No.1 マスクロマトグラム



No.1 フルスキャンスペクトル

添付資料2-3-2

Elemental composition search on mass 180.06870

m/z = 175.06870-185.06870

Isotope Min Max

N-14 0 5
O-16 0 10
C-12 0 15
H-1 0 30
S-32 0 1
Cl-35 0 2

Charge 1

Mass tolerance 5.00 ppm

Nitrogen rule : Even electron ions

RDB equiv -1.00-100.00

max results 10

m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
180.06870	180.06889	-1.06	0.5	C ₈ H ₁₄ O ₃ N ₂ S

組成解析条件

窒素: GSH(3個)

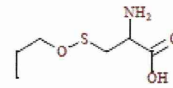
酸素: プロパン+GSH(6個)

炭素: GSH(1個)

硫黄: 0~2個

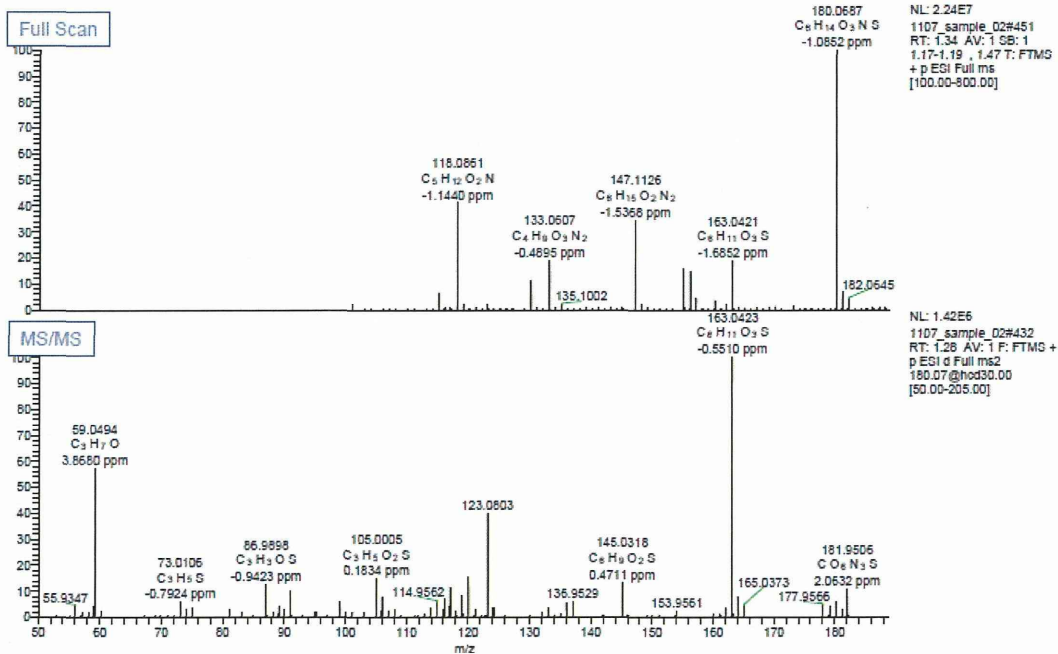
塩素: 0~2個

推定構造



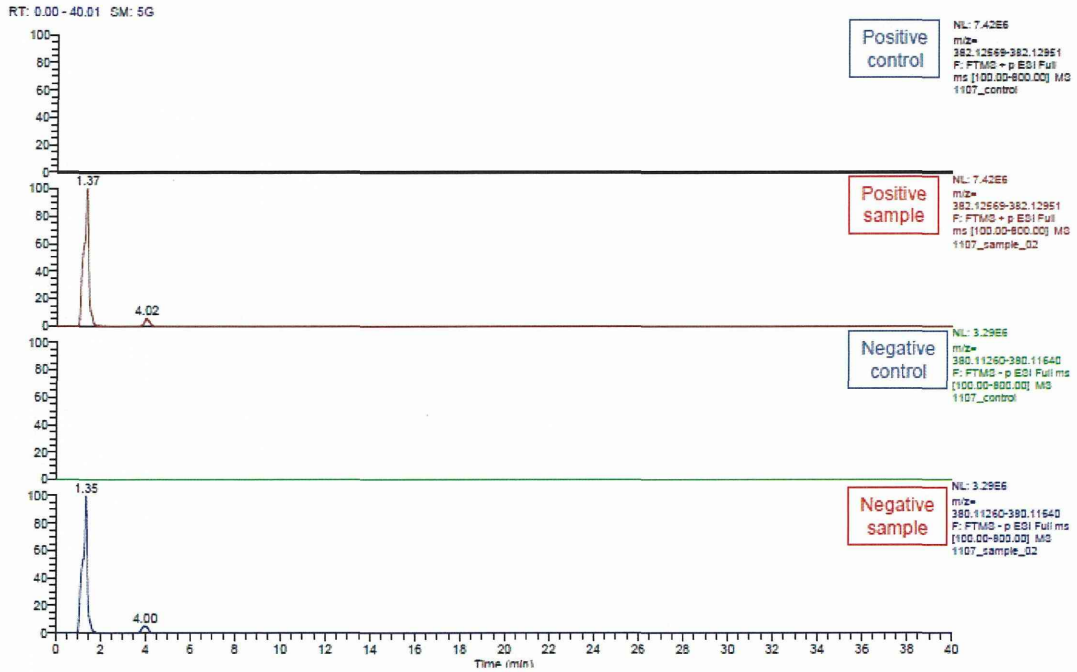
Cl > H, Cl > O
システイン抱合

No.1 組成解析結果

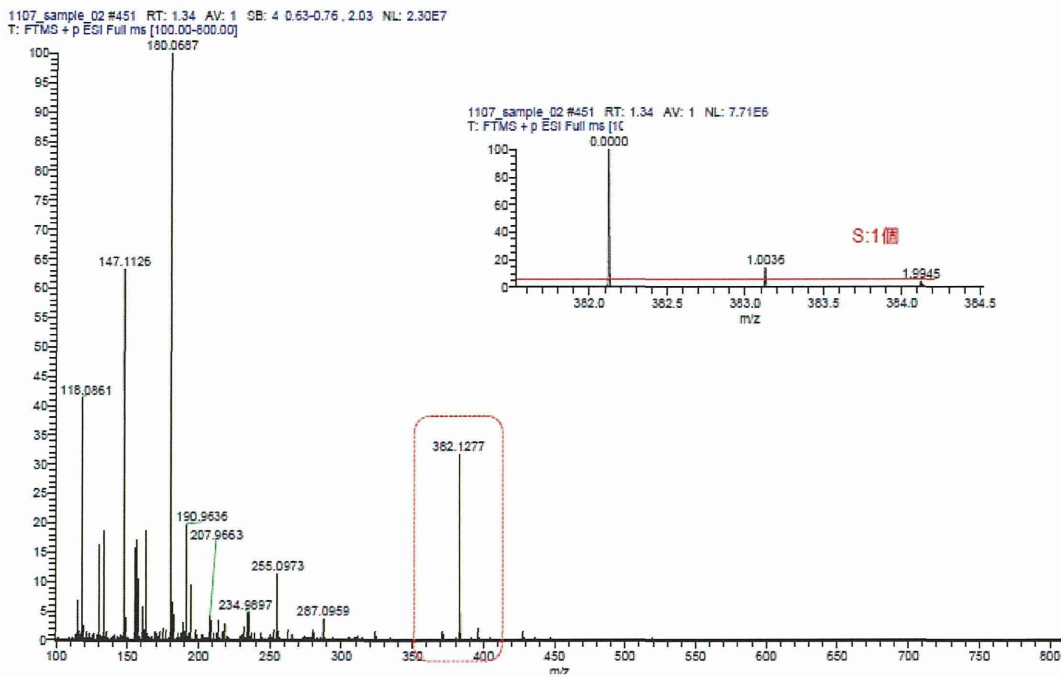


No.1 MS/MSスペクトル

添付資料2-3-3



No.2 マスクロマトグラム



No.2 フルスキャンスペクトル

添付資料2-3-4

Elemental composition search on mass 382.12756

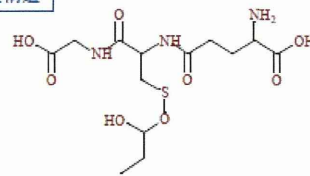
m/z= 377.12756-387.12756

Isotope	Min	Max
N-14	0	5
O-16	0	10
C-12	0	15
H-1	0	30
S-32	0	1
Cl-35	0	2

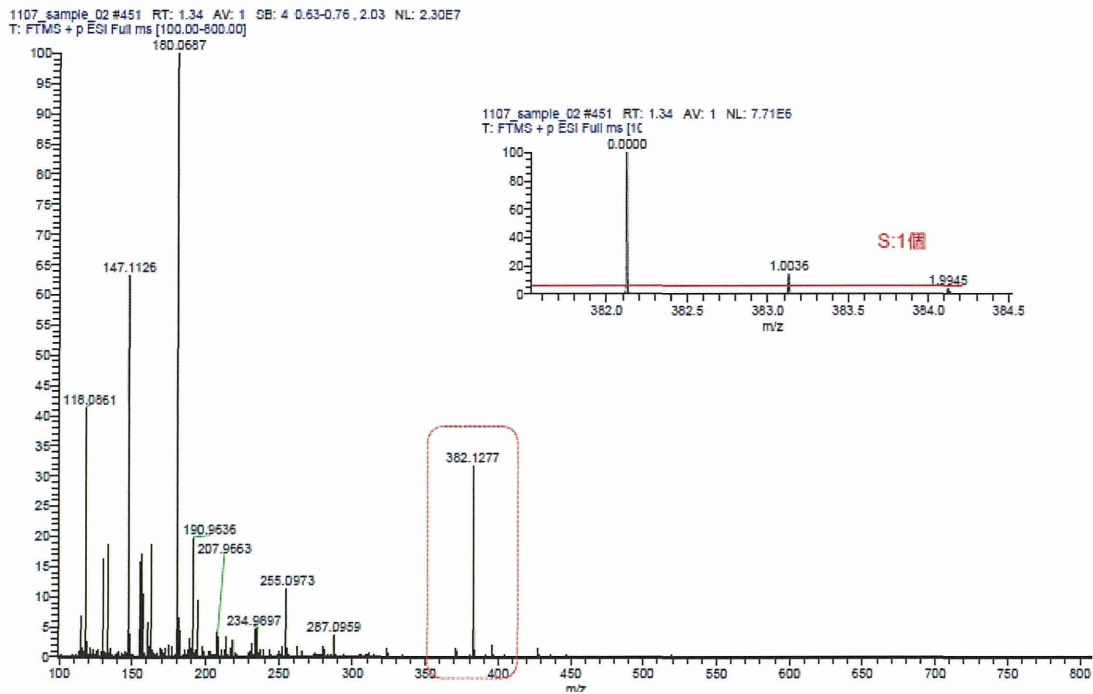
Charge 1
Mass tolerance 5.00 ppm
Nitrogen rule : Even electron ions
RDB equiv -1.00-100.00
max results 10

m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
382.1276	382.1279	-0.79	3.5	C ₁₉ H ₂₄ O ₈ N ₃ S
	382.1269	3.24	3.5	C ₁₅ H ₂₆ O ₈ NCl

推定構造

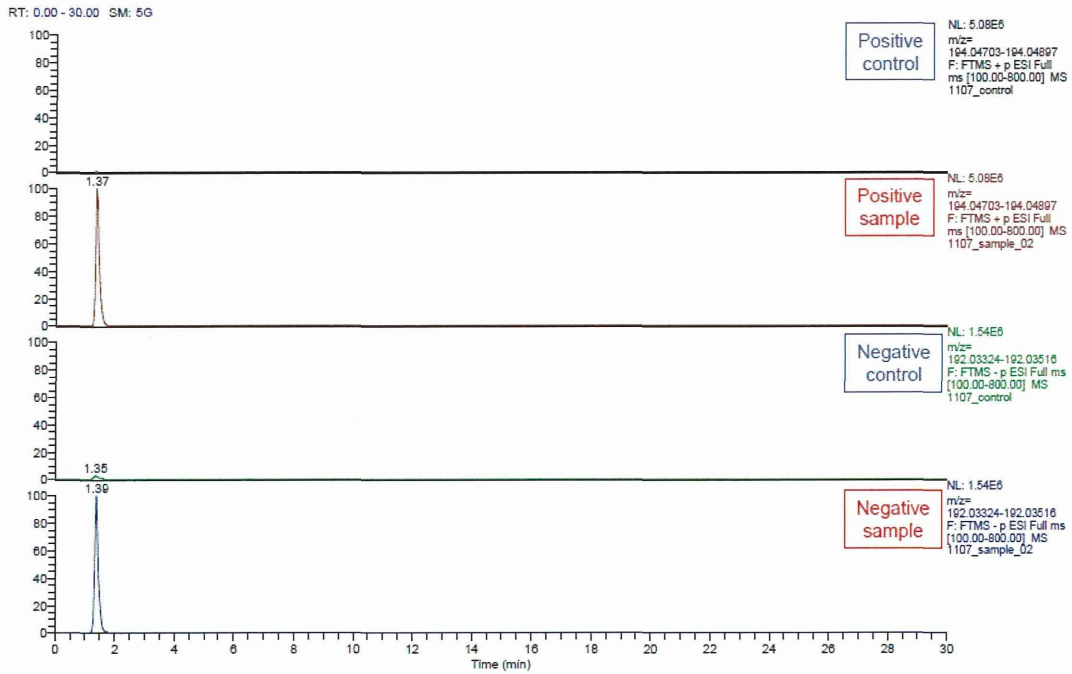


No.2 組成解析結果

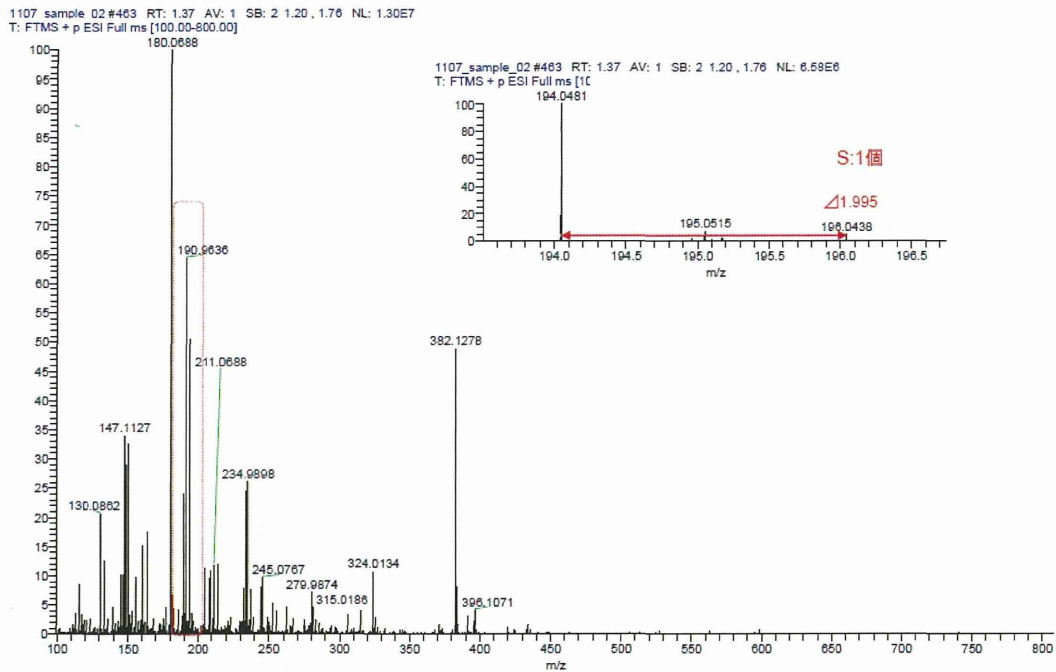


No.2 MS/MSスペクトル

添付資料2-3-5



No.3 マスクロマトグラム



No.3 フルスキャンスペクトル

添付資料2-3-6

Elemental composition search on mass 194.04809

m/z= 189.04809-199.04809

Isotope Min Max

N-14 0 5

O-16 0 10

C-12 0 15

H-1 0 30

S-32 0 1

Cl-35 0 0

Charge 1

Mass tolerance 5.00 ppm

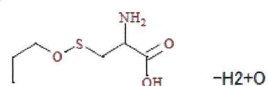
Nitrogen rule : Even electron ions

RDB equiv -1.00-100.00

max results 10

m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
194.0481	194.0482	-0.34	1.5	C ₈ H ₁₂ O ₄ N ₁ S

推定構造

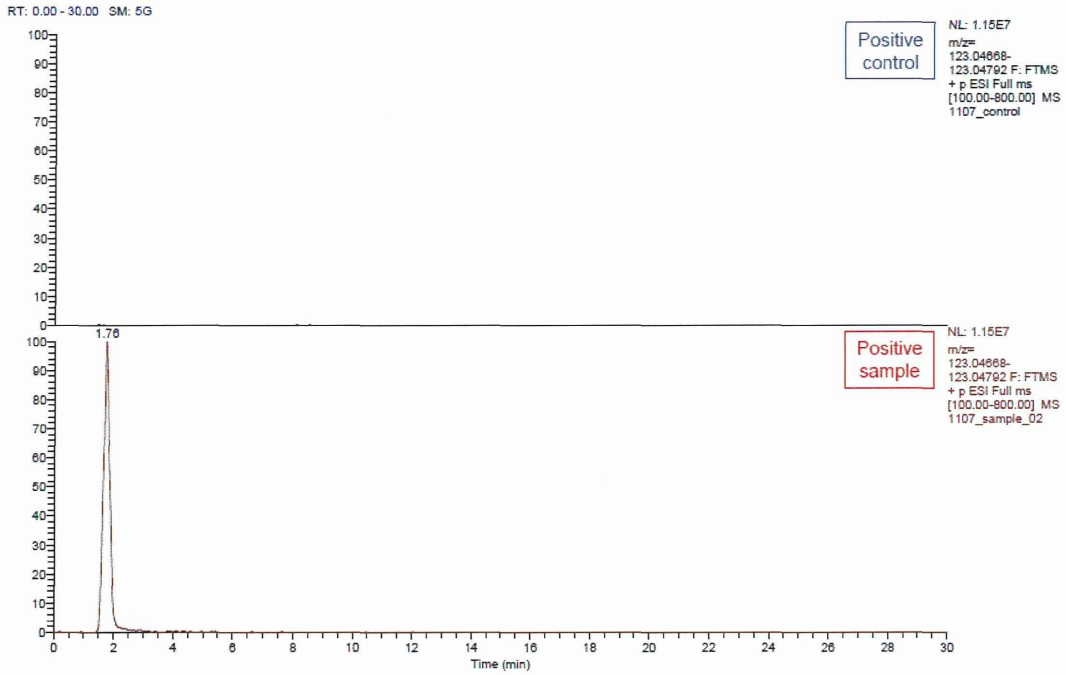


No.3 組成解析結果

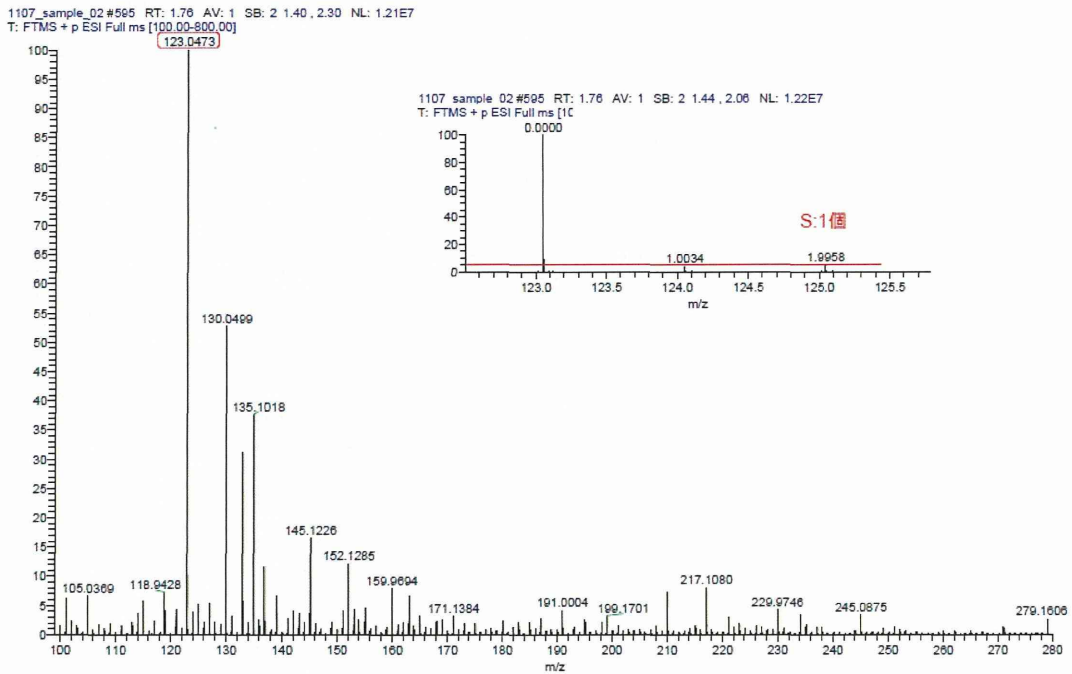
取得できなかった

No.3 MS/MSスペクトル

添付資料2-3-7



No.4 マスクロマトグラム



No.4 フルスキャンスペクトル

添付資料2-3-8

Elemental composition search on mass 123.04732

m/z= 118.04732-128.04732

Isotope Min Max

N-14 0 1

O-16 0 4

C-12 0 6

H-1 0 30

S-32 0 1

Cl-35 0 0

Charge 1

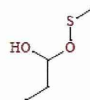
Mass tolerance 5.00 ppm

Nitrogen rule : Even electron ions

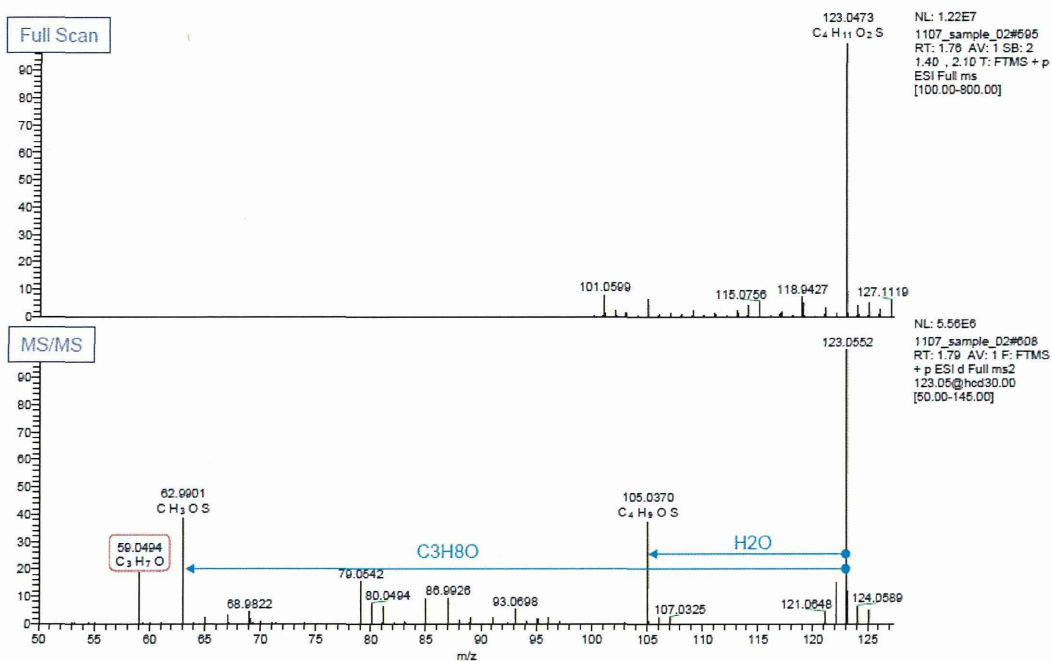
RDB equiv -1.00-100.00

max results 10

m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
123.0473	123.0474	-0.87	-0.5	C ₄ H ₁₁ O ₂ S

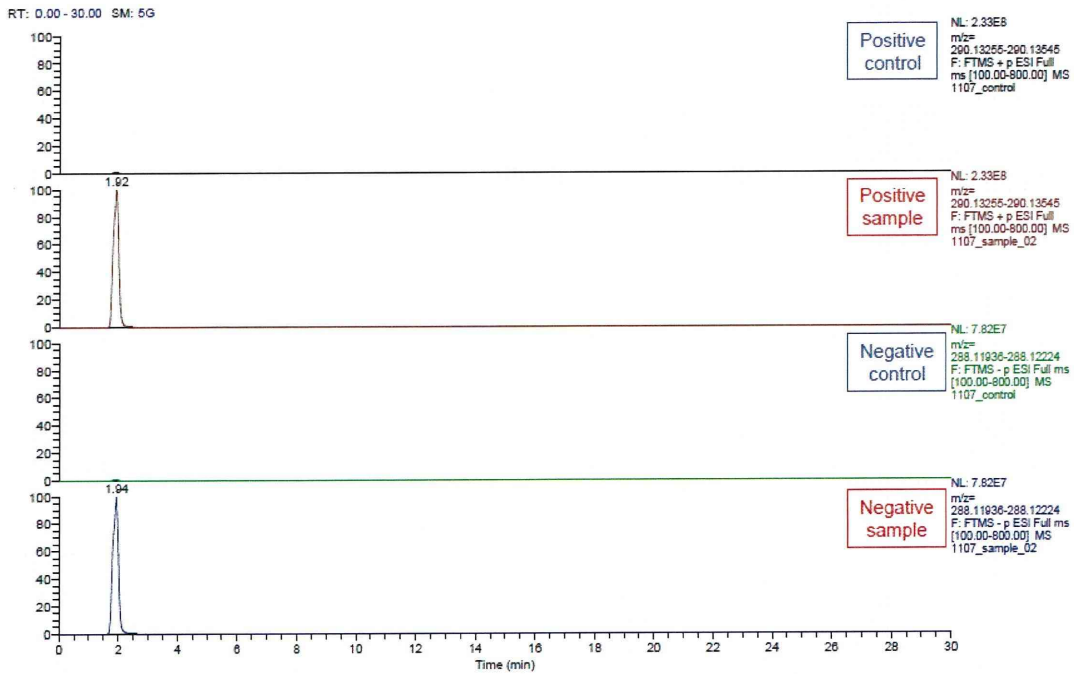


No.4 組成解析結果

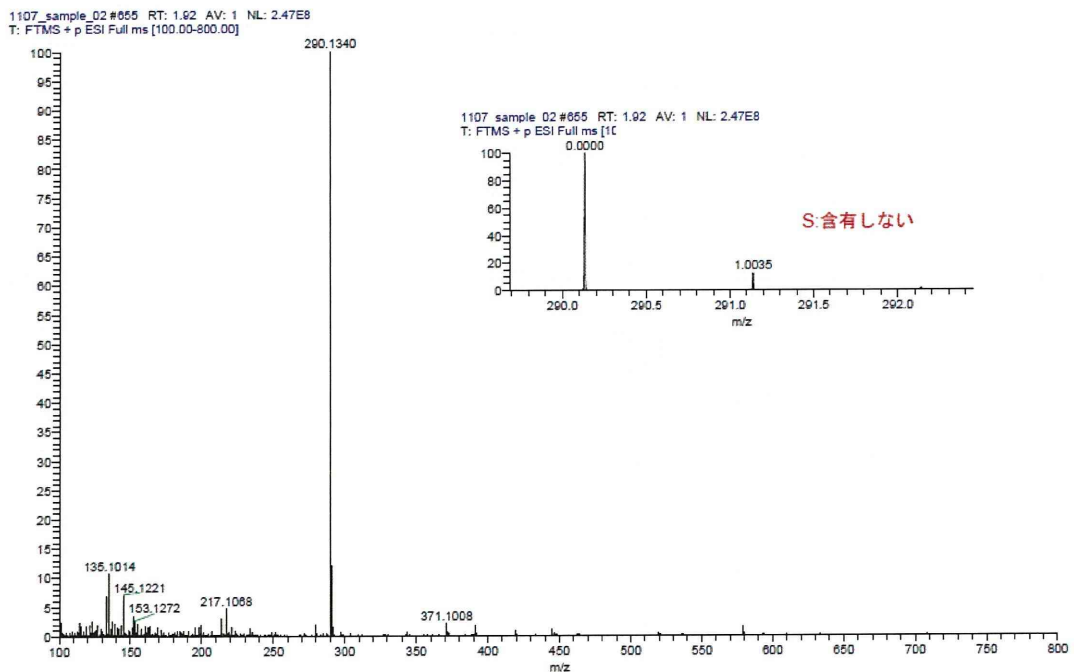


No.4 MS/MSスペクトル

添付資料2-3-9



No.5 マスクロマトグラム



No.5 フルスキャンスペクトル

添付資料2-3-10

Elemental composition search on mass 290.13400

m/z= 285.13400-295.13400

Isotope	Min	Max
N-14	0	3
O-16	0	6
C-12	0	13
H-1	0	30
S-32	0	1
Cl-35	0	0

Charge 1

Mass tolerance 5.00 ppm

Nitrogen rule : Even electron ions

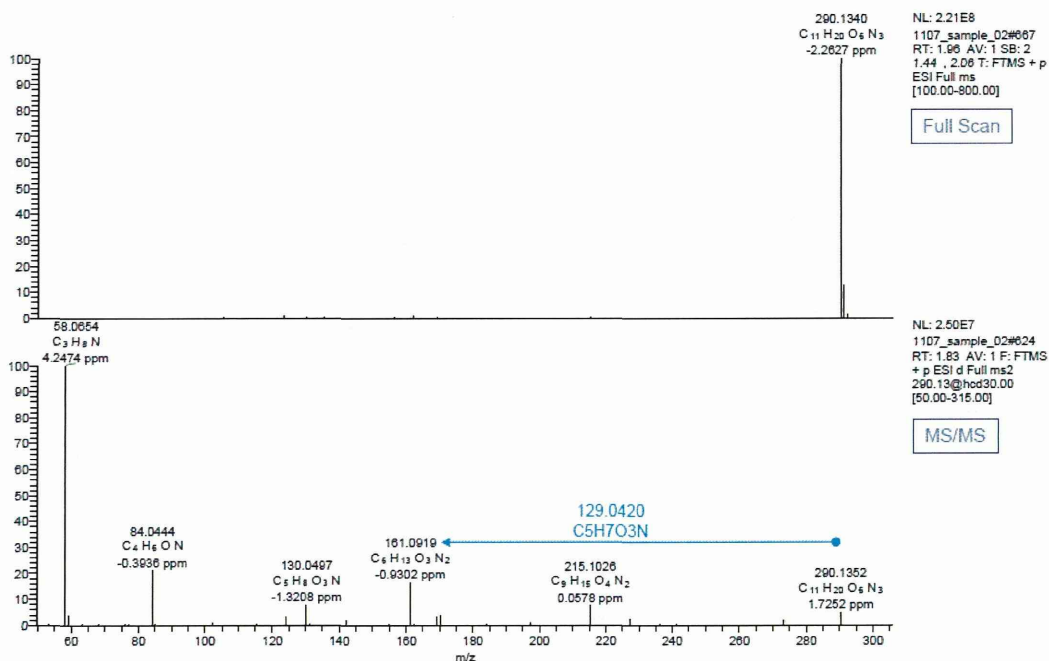
RDB equiv 0.00-100.00

max results 10

m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
290.1340	290.1347	-2.28	3.5	C ₁₁ H ₂₀ O ₆ N ₃

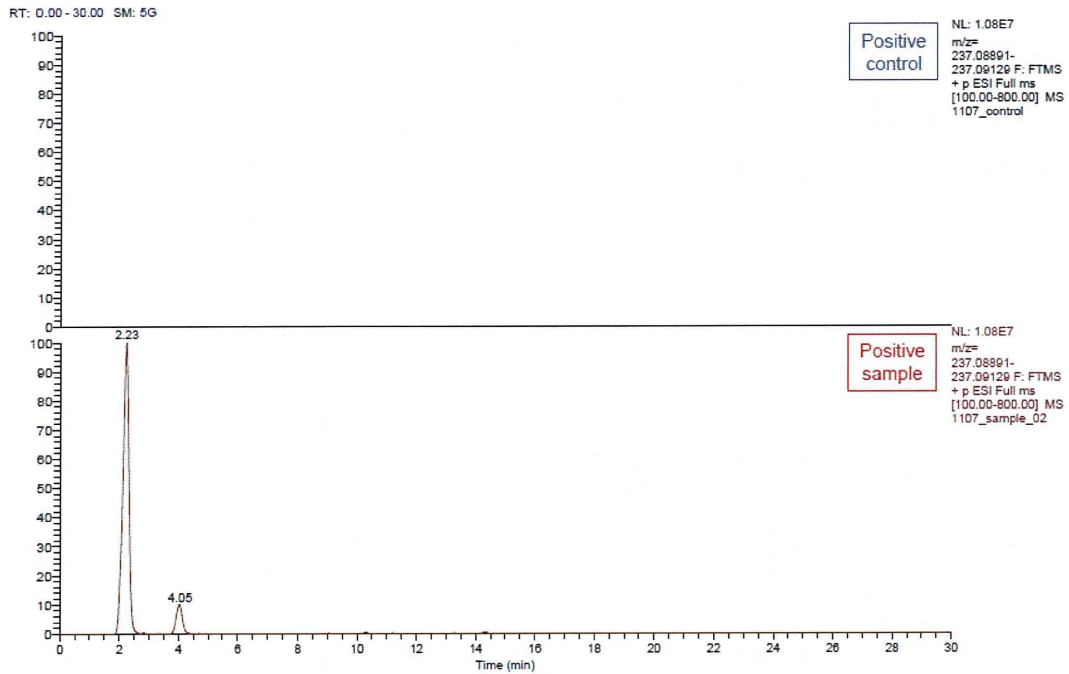
このピークはかなりの強度で検出されたものの、
代謝物かどうかの判別はつかなかった。

No.5 組成解析結果

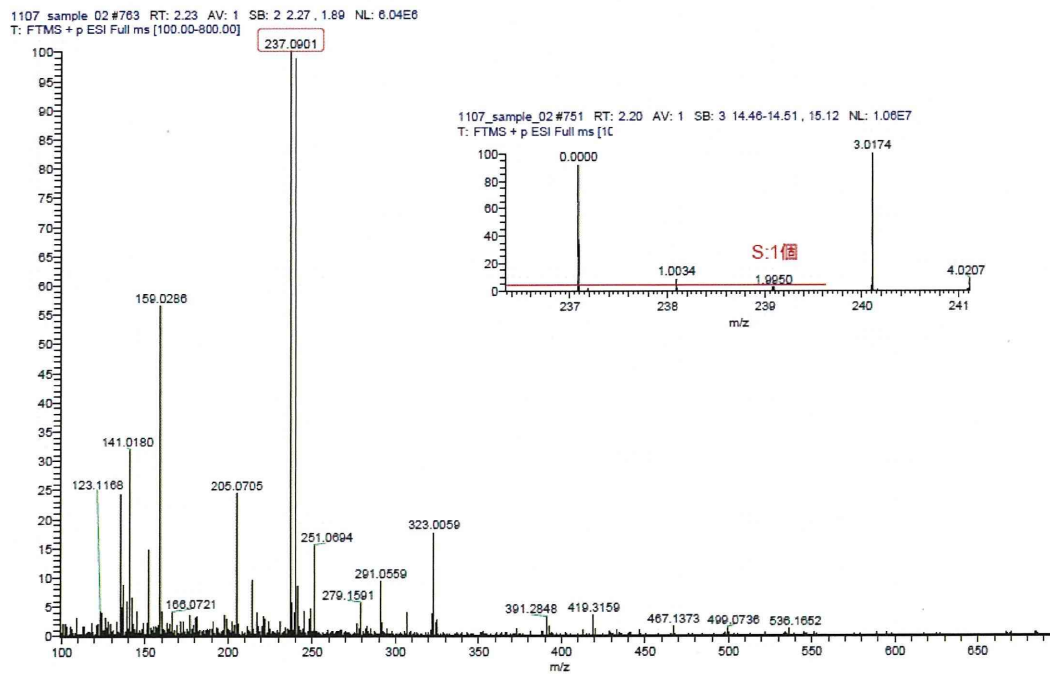


No.5 MS/MSスペクトル

添付資料2-3-11



No.6 マスクロマトグラム



No.6 フルスキャンスペクトル

添付資料2-3-12

Elemental composition search on mass 237.09009

m/z= 232.09009-242.09009

Isotope	Min	Max
N-14	0	5
O-16	0	10
C-12	0	15
H-1	0	30
S-32	0	1
Cl-35	0	0

Charge 1

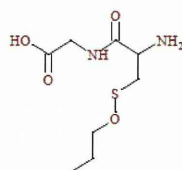
Mass tolerance 5.00 ppm

Nitrogen rule : Even electron ions

RDB equiv -1.00-100.00

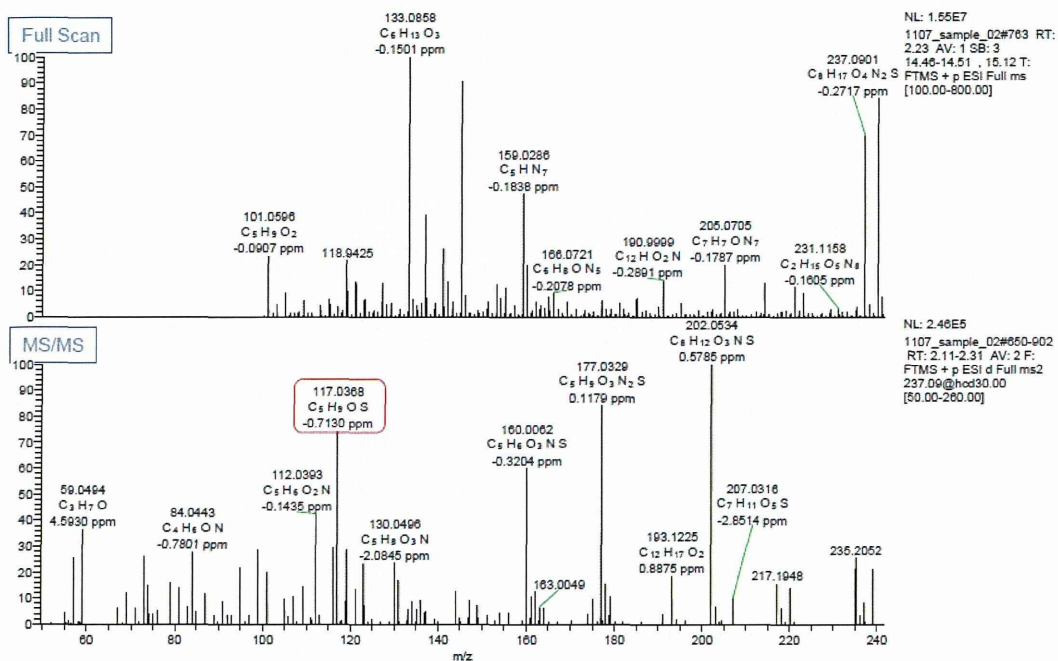
max results 10

m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
237.09009	237.09035	-1.11	1.5	C ₈ H ₁₇ O ₄ N ₂ S



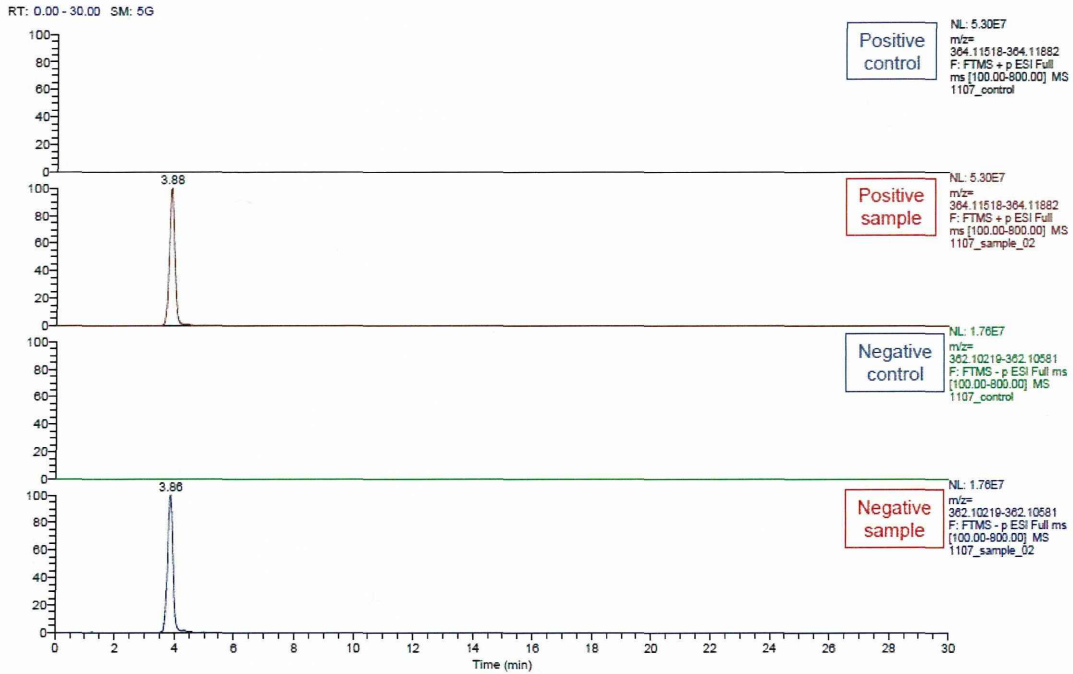
+C₁₀H₁₇N₃O₆S-C₅H₈N₃O₃
Glutathione conjugation
(Glutamate Removal)

No.6 組成解析結果

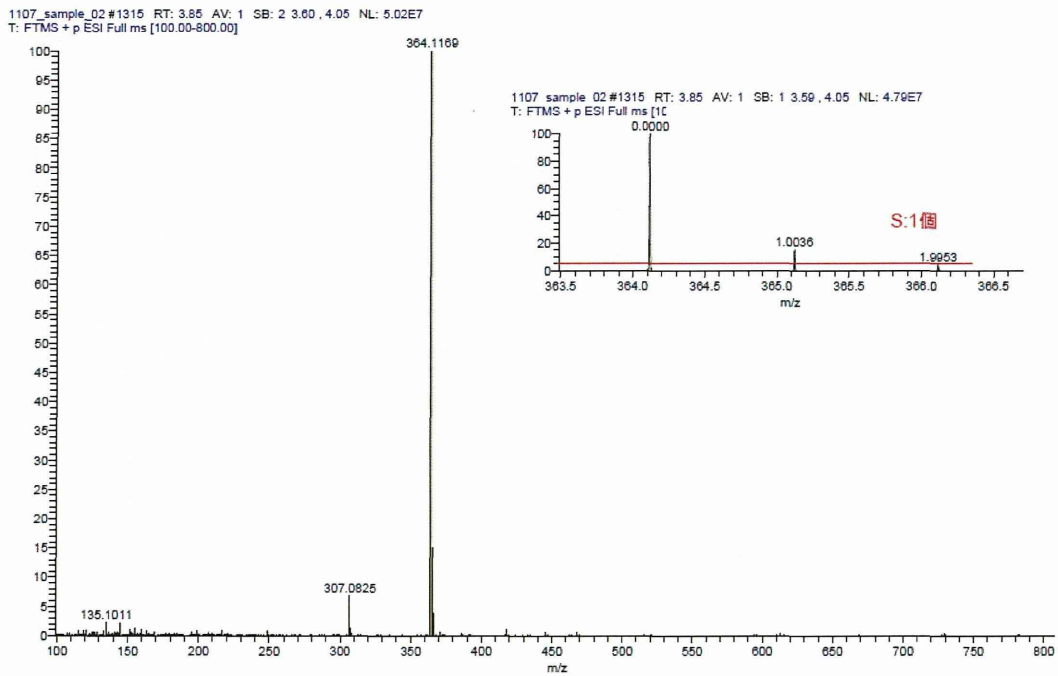


No.6 MS/MSスペクトル

添付資料2-3-13



No.7 マスクロマトグラム



No.7 フルスキャンスペクトル

添付資料2-3-14

Elemental composition search on mass 364.11688

m/z= 359.11688-369.11688

Isotope	Min	Max
N-14	0	5
O-16	0	10
C-12	0	15
H-1	0	30
S-32	0	1
Cl-35	0	0

Charge 1

Mass tolerance 5.00 ppm

Nitrogen rule : Even electron ions

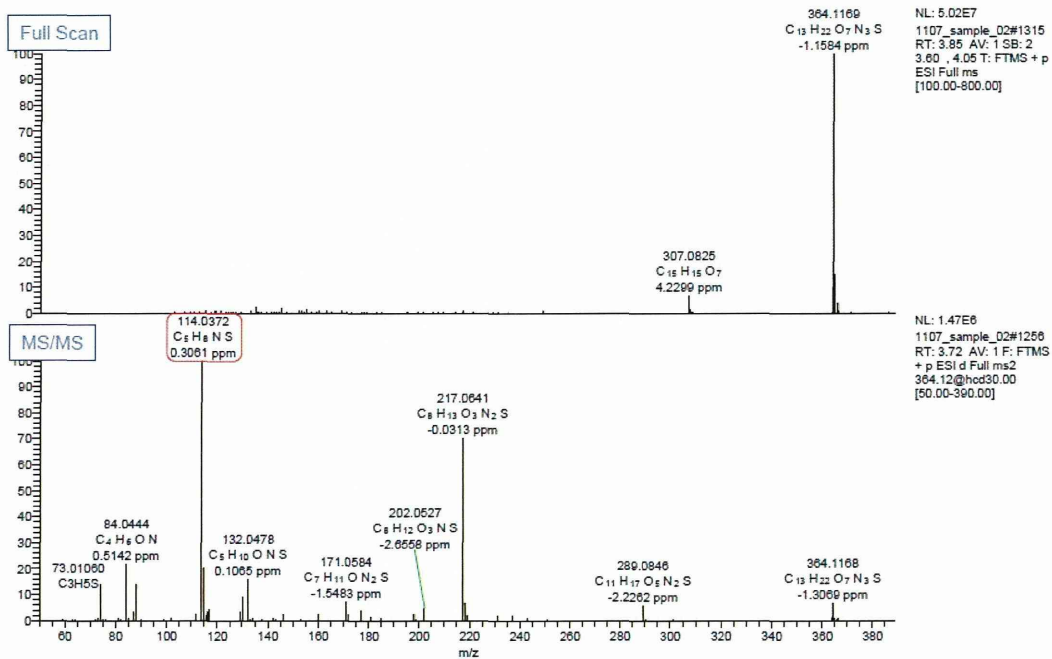
RDB equiv -1.00-100.00

max results 10

m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
364.1169	364.1173	-1.15	4.5	C ₁₉ H ₂₂ O ₇ N ₃ S



No.7 組成解析結果



No.7 MS/MSスペクトル