【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第６部門第１区分
【発行日】令和4年3月15日(2022.3.15)

【公開番号】特開2021-81365(P2021-81365A)
【公開日】令和3年5月27日(2021.5.27)
【年通号数】公開・登録公報2021-024
【出願番号】特願2019-210660(P2019-210660)
【国際特許分類】
Ｇ０１Ｎ 27/62(2021.01)
Ｇ０１Ｎ 33/50(2006.01)
Ｈ０１Ｊ 49/26(2006.01)
【ＦＩ】
Ｇ０１Ｎ 27/62 V
Ｇ０１Ｎ 27/62 X
Ｇ０１Ｎ 33/50 Z
Ｈ０１Ｊ 49/26

【手続補正書】
【提出日】令和4年3月7日(2022.3.7)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項４】
前記ペプチド質量算出部は、Ｎ結合型糖ペプチドに特徴的であるトリプレットピークが検出されたＭＳ／ＭＳスペクトルを糖ペプチド関連スペクトルとして選定し、該ＭＳ／ＭＳスペクトルにおいてトリプレットピークの中で質量が最も小さいイオンピークを糖鎖のみが脱離したペプチドイオンであると仮定してペプチドの質量を算出する、請求項１に記載の糖ペプチド解析装置。
【手続補正２】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項６】
前記質量分析装置においてＭＳ分析を実行してＭＳスペクトルを取得し、該ＭＳスペクトルにおいて検出されるピークの中で所定の条件を満たすピークの質量電荷比をプリカーサイオンに設定したＭＳ／ＭＳ分析を前記ＭＳ分析に引き続いて実行するように、前記質量分析装置の動作を制御する分析制御部、をさらに備える、請求項１～５のいずれか１項に記載の糖ペプチド解析装置。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１０】
こうしたことから、単一の糖タンパク質に由来するグリコフォームを同じＬＣ条件で以て分離する場合であっても、ペプチド毎にグリコフォームの溶出時間範囲を予め推定し、そ

の溶出時間範囲内に得られたＭＳ／ＭＳスペクトルに基づいて構造情報が得られたグリコフォームに対応した糖鎖解析を行う必要がある。ペプチド毎のグリコフォームの溶出時間範囲の推定は面倒であるうえに、これを高い精度で推定することは難しい。

【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１９】
【図１】本発明の一実施形態である糖ペプチド解析装置の要部のブロック構成図。
【図２】本実施形態の糖ペプチド解析装置における解析処理手順を示すフローチャート。
【図３】本実施形態の糖ペプチド解析装置におけるグリコフォーム溶出時間範囲推定の手順の説明図。
【図４】本実施形態の糖ペプチド解析装置におけるグリコフォーム溶出時間範囲推定の実例を示す図。
【図５】本実施形態の糖ペプチド解析装置での解析対象である糖ペプチドを分類する糖ペプチド選別分類部の要部のブロック構成図。
【図６】糖ペプチド選別分類部での糖ペプチド分類処理の手順を示すフローチャート。
【図７】糖ペプチド選別分類部において階層的クラスタ解析による分類結果の一例を示す図。

【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００２１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００２１】
この糖ペプチド解析装置は、試料に対して所定の分析を実行してデータを収集する分析部１と、収集されたデータを解析処理するデータ解析部２と、入力部３と、表示部４と、を備える。分析部１は、逆相カラムを用いた液体クロマトグラフ部（ＬＣ部）１１と、ＭＳ／ＭＳ分析が可能である質量分析部（ＭＳ／ＭＳ部）１２と、を含む。

【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００２２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００２２】
データ解析部２は、機能ブロックとして、スペクトルデータ格納部２１と糖鎖解析部２２とを含み、糖鎖解析部２２は、ペプチド質量算出部２３、スペクトル類似度算出部２４、グリコフォーム関連スペクトル選別部２５、グリコフォーム溶出時間算出部２６、糖鎖組成推定部２７、解析結果表示処理部２８などを含む。

【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００２５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００２５】
次に、本実施形態の糖ペプチド解析装置を用いた解析動作の一例を、図１に加え、図２、図３を参照しつつ説明する。図２は、本実施形態の糖ペプチド解析装置における解析処理手順を示すフローチャート、図３は、グリコフォーム溶出時間範囲推定の手順の説明図である。

【手続補正８】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３１】
上述したように収集されたデータに基づいて、糖鎖解析部２２は次のような解析処理を実行する。
【手続補正９】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３２】
ペプチド質量算出部２３は、まず、全てのＭＳ／ＭＳスペクトルの中から、糖ペプチド由来のＭＳ／ＭＳスペクトルである可能性が高いもの、つまりは或る程度高い確度で以て糖ペプチド由来であると判断できるＭＳ／ＭＳスペクトルを、糖ペプチド関連スペクトルとして選出する（図３（ａ）参照）。そして、選出したＭＳ／ＭＳスペクトル（糖ペプチド関連スペクトル）毎にそれぞれ、そのＭＳ／ＭＳスペクトルにおいて観測されるメインピークの情報からペプチド質量、つまり糖ペプチドのうちのペプチド部分のみの質量を推算する（ステップＳ１）。糖ペプチド関連スペクトルの選出は例えば次のような方法のいずれかで行うことができる。
【手続補正１０】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００６７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００６７】
（第４項）第１項に記載の糖ペプチド解析装置において、前記ペプチド質量算出部は、Ｎ結合型糖ペプチドに特徴的であるトリプレットピークが検出されたＭＳ／ＭＳスペクトルを糖ペプチド関連スペクトルとして選定し、該ＭＳ／ＭＳスペクトルにおいてトリプレットピークの中で質量が最も小さいイオンピークを糖鎖のみが脱離したペプチドイオンであると仮定してペプチドの質量を算出するものとすることができる。
【手続補正１１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００７１】
（第６項）第１項～第５項のいずれか１項に記載の糖ペプチド解析装置では、前記質量分析装置においてＭＳ分析を実行してＭＳスペクトルを取得し、該ＭＳスペクトルにおいて検出されるピークの中で所定の条件を満たすピークの質量電荷比をプリカーサイオンに設定したＭＳ／ＭＳ分析を前記ＭＳ分析に引き続いて実行するように、前記質量分析装置の動作を制御する分析制御部、をさらに備えるものとすることができる。
【手続補正１２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００７４】

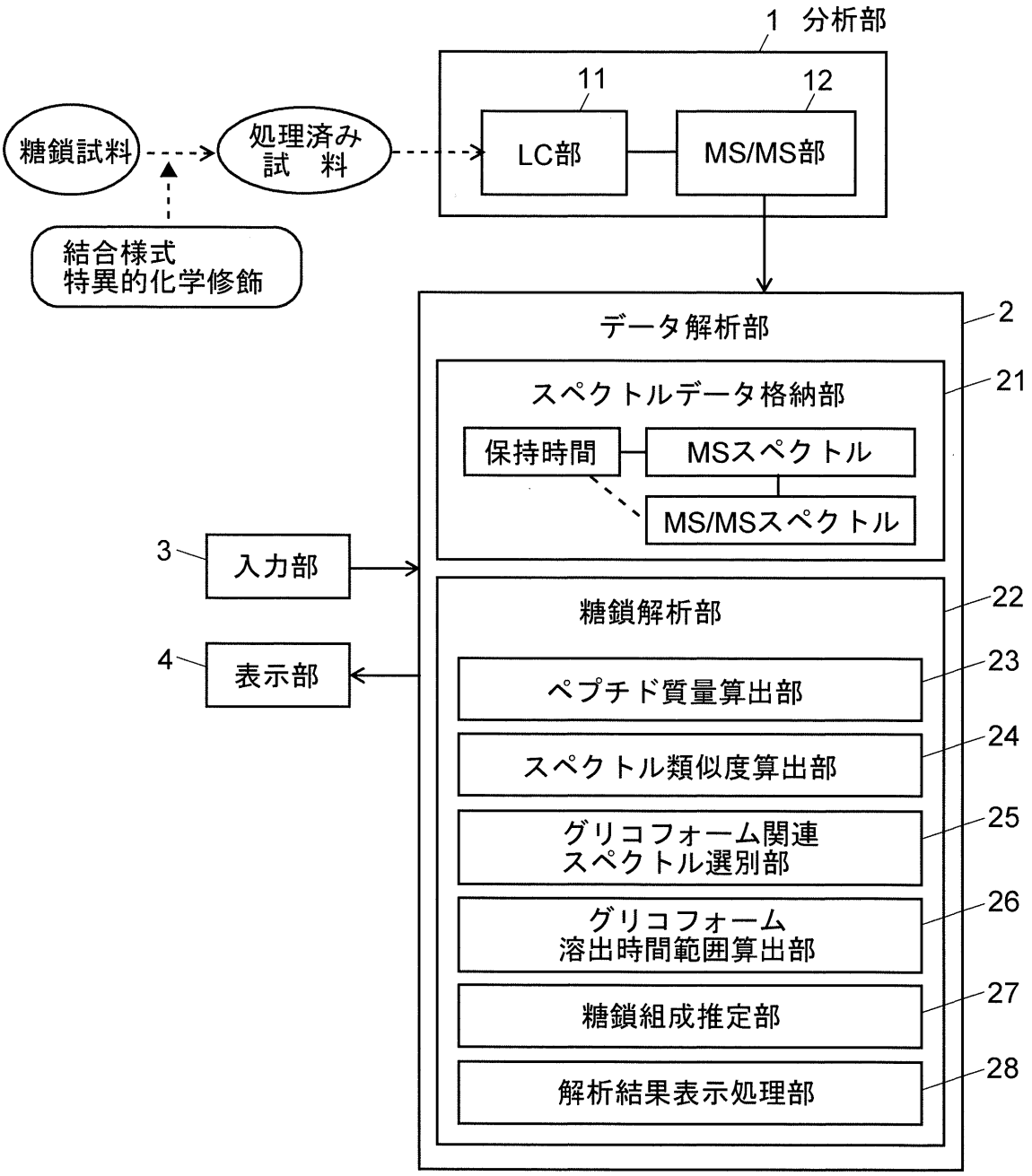
第７項に記載の糖ペプチド解析装置によれば、未知である糖ペプチド混合物試料を測定することで得られた多数のＭＳ／ＭＳスペクトルの中から糖ペプチド由来である可能性が高いものを選別し、さらにペプチド構造が同じ又は類似しているペプチド毎に分類したうえで解析処理を行うことができる。それにより、多数のＭＳ／ＭＳスペクトルに基づいて取りこぼし無く糖ペプチド構造解析を行うことができる。擬陽性を減らして高い精度の糖ペプチド解析を行うことができる。

【手続補正１３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００７５】
また、上記第７項に記載の糖ペプチド解析装置は第１～第６項に記載の糖ペプチド解析装置に限定されず、別の手法による糖ペプチド解析を行う際のＭＳ／ＭＳスペクトルの前処理の手法としても有効である。即ち、未知である糖ペプチド混合物試料を測定することで得られたＭＳ／ＭＳスペクトルに基づいて網羅的な糖ペプチド構造解析を行う際に、できるだけ取りこぼし無く糖ペプチド解析を行うとともに、擬陽性を減らしてその推定精度を向上させることを目的として、第８項に記載の糖ペプチド解析装置を用いることができる。

【手続補正１４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００８１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００８１】
１…分析部
１１…液体クロマトグラフ部
１２…質量分析部
２…データ解析部
２１…スペクトルデータ格納部
２２…糖鎖解析部
２３…ペプチド質量算出部
２４…スペクトル類似度算出部
２５…グリコフォーム関連スペクトル選別部
２６…グリコフォーム溶出時間範囲算出部
２７…糖鎖組成推定部
２８…解析結果表示処理部
３…入力部
４…表示部
２００…糖ペプチド選別分類部
２０１…糖鎖フラグメントピーク検出部
２０２…糖ペプチド候補スペクトル選別部
２０３…糖鎖フラグメントピーク除去部
２０４…スペクトル類似度算出部
２０５…糖ペプチド候補スペクトル分類部

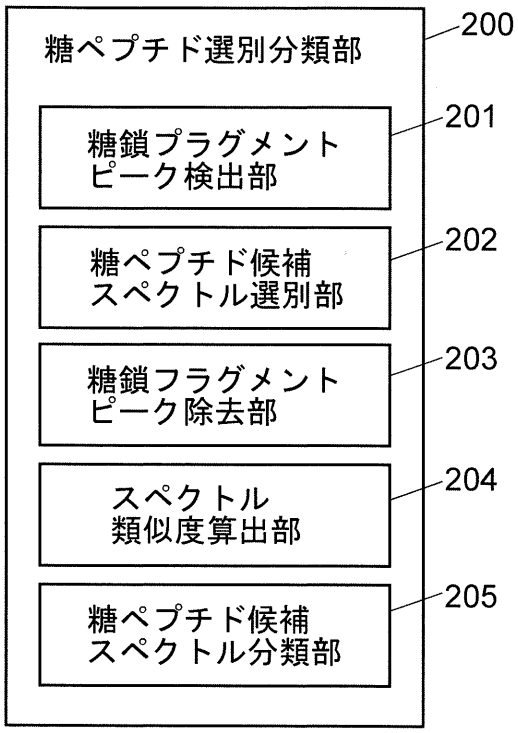
【手続補正１５】
【補正対象書類名】図面
【補正対象項目名】図１
【補正方法】変更
【補正の内容】

【図１】



【手続補正１６】
【補正対象書類名】図面
【補正対象項目名】図５
【補正方法】変更
【補正の内容】

【図５】


糖ペプチド選別分類部
200
糖鎖プラグメント
ピーク検出部
201
糖ペプチド候補
スペクトル選別部
202
糖鎖フラグメント
ピーク除去部
203
スペクトル
類似度算出部
204
糖ペプチド候補
スペクトル分類部
205