

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：14602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24619003

研究課題名(和文)カビ代謝ペプチドの解析のためのフラグメンテーション理論の新展開

研究課題名(英文) New Approaches to the Fragmentation Theory for Peptide Analyses Using Mass Spectrometry: Fragmentation of Metal-Polypeptide Complexes and Fungal Metabolites

研究代表者

竹内 孝江 (Takae, Takeuchi)

奈良女子大学・自然科学系・准教授

研究者番号：80201606

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,400,000円

研究成果の概要(和文)：カビはペニシリンをはじめ、有用物質の合成手段として利用されている。カビの生合成反応の解明のためには、高感度でハイスループットな質量分析法によるカビ代謝物質の構造決定法の確立が求められている。代謝ポリペプチドの構造解析を質量分析法で行うためのフラグメンテーション予測理論を確立するため、[1]分子理論計算によるフラグメンテーション反応の理論予測、[2]カビ代謝物質の質量スペクトルデータの多変量解析によるカビ種予測、および[3]カビ代謝物質の生成関連遺伝子検索を行った。細胞内で重要な金属イオン付加ペプチドの電子移動解離(ETD)に対して、金属-ペプチドコンプレックス形成が与える影響因子を解明できた。

研究成果の概要(英文)：1. New approaches to the fragmentation theory for peptide analyses using Mass Spectrometry were performed. To address the general mechanism of ETD on peptide, the electron transfer dissociation process of the Zn²⁺-histidine oligomer complexes in the absence of remote protons was investigated with the ab initio DFT and the statistical RRKM theory.
2. Software, named MVOC Finder, for fungal species identification based on multivariate statistical analysis of IMS and GC-MS spectral data of MVOC was created. The function of this software is to detect and identify fungal species using atmospheric samples in order to quicken the detection process. In addition, the software can predict the ion mobility drift time of molecular ions from molecular geometries.
3. Microbial volatile organic compounds (MVOC) emitted from *Aspergillus nidulans* were investigated and the effects of modified expression of some sesquiterpene biosynthesis genes in the genome of *A. nidulans* were analyzed.

研究分野：化学質量分析学

キーワード：フラグメンテーション理論 質量分析 カビ代謝物質 電子移動解離 金属ペプチド イオンモビリティ
イ 多変量解析 セスキテルペン

1. 研究開始当初の背景

カビは、ペニシリンをはじめ、有用物質の合成手段として利用されている。カビの生合成反応を効率よく利用するためには、その反応機構の解明することが重要である。高感度でハイスループットな質量分析法によるカビ代謝物質や代謝ポリペプチドの構造決定法の確立が求められている。

詳細なイオンの構造情報は、タンデム質量分析(MSⁿ)法により、生成イオンのフラグメンテーションを観測することで得られる。これまでに質量スペクトルに出現するフラグメンテーション反応が実験及び理論的に研究されてきたが、MSⁿ法によって得られたスペクトルのフラグメンテーションは、測定装置や実験条件により異なるため、統一的に解釈できる理論は未だ完成していない。

2. 研究の目的

①分子理論計算によるフラグメンテーション反応の理論予測：金属イオンとポリペプチドの間の相互作用は、細胞内において重要となる。金属-ペプチド複合体形成が電子移動解離(ETD)に与える影響を解明する。

②多変量解析によるカビ代謝物質の質量スペクトルデータからのカビ種予測：文化財で発生する主要な4種のカビ *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Fusarium solani*, *Penicillium paneum* を対象として、それらのカビから発生する微生物由来揮発性代謝物質(MVOC)のデータベースおよび多変量解析によるカビ種同定ソフトウェアを制作する。

③カビ代謝物質の生成関連遺伝子の検索：カビ代謝物質であるセスキテルペンの生成経路を解明するため、*A. nidulans* の発現誘導株が放出するセスキテルペンの構造を決定し、セスキテルペン生成関連遺伝子を探査する。

3. 研究の方法

①ECD/ETD はペプチドやタンパク質の多価イオンと電子の再結合反応に伴うラジカル分解であり、この分解反応を説明するために、複数のフラグメンテーション機構が提案された。McLafferty らはプリカーサーイオン中に存在するプロトンと電子の再結合反応による"Cornell"モデルを提唱した。また、より一般に拡張可能な ECD/ETD のメカニズムとして Simons と Turecek によって "Utah-Washington"モデルが提唱された。このモデルでは、電子は骨格のアミド基のπ*軌道へ電子が直接付加し、アミノケチルラジカルアニオンが生成する。本研究では、remote proton を持たない Zn²⁺-ポリヒスチジン複合体の ETD における c/z⁺フラグメント生成反応の機構を、*ab initio* 理論によるポテンシャルエネルギー超曲面および RRKM-QET 統計理論による単分子分解反応速度定数の計算結果から検討した。

Zn²⁺-トリヒスチジン複合体[HHH(NH₂)+Zn]²⁺から [z₂⁺-H+Zn]⁺, [c₂⁺-H+Zn]⁺ および

[HHH(NH₂)-NH₃+Zn]⁺ が生成する過程を B3LYP/6-31G(d) level、Gaussian 09 program. を用いて計算した。

②本研究で開発のソフトウェアは以下の構成であり、ユーザーは WEB 経由ですべての機能を利用することが可能である。

a) MVOC データ (IMS、GC-MS) の取込と管理用の WEB データベース機能

b) IMS データを対象にしたカビ種判定方法 (PLS 回帰分析)

c) IMS の衝突断面積算出機能

③カビの揮発性代謝物の生成経路を調べるために、*A. nidulans* のゲノムに見つかるテルペン生成関連遺伝子 10 個を対象に、ノックアウト株、さらにはプロモータ交換株(発現誘導株)を作成した。*A. nidulans* の AN3277 遺伝子の発現誘導株である LO6191 株を 1 L フラスコ中、発現誘導培地上で 3 日間 37°C で培養後、SPME ファイバーを用いて VOC の吸着を行った。GC/MS 測定により示された C₁₅H₂₄ の強いピークを GC 分取後、NMR、GC/MS/MS、circular dichroism (CD) スペクトルを測定することで化合物の構造を決定した。

4. 研究成果

①金属-ペプチド複合体の電子移動解離(ETD)におけるフラグメンテーション機構

remote proton をもたない Zn²⁺-トリヒスチジン複合体[HHH(NH₂)+Zn]²⁺の ETD における c/z⁺フラグメント生成反応機構を検討した。遷移金属カチオンは、ペプチドやタンパク質において His 側鎖の中性イミダゾール基と強く結合した。

構造最適化計算より、[HHH(NH₂)+Zn]²⁺ は双性イオンをもたない構造が最も安定であることがわかった。[HHH(NH₂)+2H]²⁺ はプロトンが C 末端側と N 末端側の His 側鎖に付加していた。His の側鎖に軌道が広がり、ペプチド骨格に軌道が広がっていた。

[HHH(NH₂)+Zn]²⁺ の LUMO は C 末端 His と中央の His にかけて、next LUMO は N 末端側の His に軌道が広がっており、LUMO と next LUMO のどちらにも電子が入るかでラジカル位置が変わる。*ab initio* 計算結果から、ETD により 2 つの構造のイオンが生成されると予測できた。これら 2 つの構造を反応物として z⁺ と c⁺ イオン生成反応のフラグメンテーション過程および NH₃ 脱離のポテンシャルエネルギー超曲面の計算を行い、反応機構を理論的に検討した。

中央の His のアミド H と N 末端 N のまわりには結合性軌道が広がっており、中央の His のアミド H が N 末端 N へ移動することで、N-Cα結合が開裂する反応の遷移状態(TS1)構造を求めた。振動解析の結果、ただ 1 つの虚数振動数(394.59i cm⁻¹)をもち、H が移動しながら N-Cα結合が伸びる基準振動であった。IRC 計算結果から、この反応の障壁エネルギーは 149.3 kJ/mol であることがわかった。

計算した $[c_2\text{-H+Zn}]^+$ の生成反応のエネルギー障壁は小さく、このために、 $[\text{HHH}(\text{NH}_2)\text{+Zn}]^{2+}$ のETDは、 $[c_2\text{-H+Zn}]^+$ や $[\text{HHH}(\text{NH}_2)\text{-NH}_3\text{+Zn}]^+$ に比べて、 $[c_2\text{-H+Zn}]^+$ を優先的に生成することがわかった。

本研究の計算結果から、 $[\text{HHH}(\text{NH}_2)\text{+Zn}]^{2+}$ のETDスペクトル結果は、“Utah-Washington” modelによって説明できることがわかった。

②(a)カビ種判定ソフトウェアと多変量解析

カビ種やMVOC標準物質などのIMS、GC/MSによる測定データをデータベース化し、データの登録や関連キーワード等による検索機能をもったソフトウェアを作成した。未知のIMS、GC/MS測定データをアップロードすることにより、今回開発した同定プログラムによるカビ種同定が可能となった。

(b)IMSスペクトル予測プログラムの構築

分子構造からIMSスペクトルを同定・予想するプログラムとアルゴリズムの開発を行った。イオン・分子間相互作用を取り入れない、剛体球近似での解析プログラムを用いて計算した結果、分子が小さくイオン・分子間相互作用が強く表れる場合、誤差が10%以上に拡大した。そこでイオン・分子間相互作用を取り入れた。IMS測定は、大気圧中でIMS装置を使うため、水分子の影響や分子構造の完全な予測が困難であるが、構築した予測アルゴリズムを用いて、カビ代謝物の分子構造からIMSスペクトルを高精度で予測することが可能になった。

カビ臭のIMS、GC/MSおよびLC/MSデータベースを構築し、多変量解析を用いてカビ種の同定を行うソフトウェア“MVOC Finder”を開発した。特にIMSは大気圧で測定可能であるという利便性の反面、湿度などの測定環境条件にIMSスペクトルが左右されるという欠点があったが、本研究によって開発されたMVOC Finderを使うことによって、IMSスペクトルから90%以上の正答率でカビ種を同定できるようになった。

③発現誘導株LO6191株のMVOCの化合物同定

GC/MS/MS測定の結果、LO6191株から放出されたMVOCのGC保持時間21.5分のピークの分取物質は m/z 204に分子イオンピークを示し、これは $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$ であることがわかった。MSおよびNMRスペクトルから、この分取物質は環状セスキテルペンであるAristolocheneまたはその対掌体3であると推定した。CDスペクトルの測定により $[\alpha]_D^{29.7}=+31.7$ の値が得られたことから、分取化合物は(+)-Aristolocheneであると決定した。このことから、AN3277遺伝子はAristolochene合成遺伝子であると特定することができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7件)

- ① Takae Takeuchi, Tomoko Kimura, Haruna Tanaka, Sachiyo Kaneko, Shoko Ichii, Masato Kiuchi, Takahito Suzuki: "Analysis of Volatile Metabolites Emitted by Soil-Derived Fungi Using Head Space Solid-Phase Microextraction/Gas Chromatography/Mass Spectrometry I. *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Fusarium solani* and *Penicillium paneum*", *Surf. Interface Anal.*, **44**, 694-698(2012) 査読有.
- ② Takae Takeuchi, Masato Kiuchi, Takahito Suzuki: "Fungal Oder Analysis for Conservation of Cultural Properties", *J. Jpn. Assoc. Oder Environ.*, **43**, 211-216 (2012) 査読有.
- ③ 鈴木孝仁, 木内正人, 竹内孝江: "文化財の生物被害の現状と対策 11 臭い化合物による汚染微生物の検出技術の開発", *J. Antibact. Antifung. Agents*, **41**, 93-97 (2013) 査読無.
- ④ 竹内孝江, 岩井薫, 櫛彰子, 菅原絵里香, 黒崎由香: "Ab Initio MO Calculation of Electronic Structures of Organic Ions", *RCCS センターレポート*, **13**, 23-24 (2013) 査読無.
- ⑤ Daiki Asakawa, Takae Takeuchi, Asuka Yamashita, Yoshinao Wada: "Influence of Metal-Peptide Complexation on Fragmentation and Inter-Fragment Hydrogen Migration in Electron Transfer Dissociation", *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **25**, 1029-1039 (2014) 査読有.
- ⑥ 木原山奈々, 河原一樹, 深草俊輔, 鈴木孝仁: "膠を分解する真菌の分泌プロテアーゼ真菌の生育による文化財微生物汚染の観点から", *古代学*, **6**, 40-48 (2014) 査読有.
- ⑦ 鈴木孝仁, 中島明日香, 徳山直宜: "文化財保存環境におけるカビ汚染の制御", *古代学*, **7**, 26-31 (2014) 査読有.

[学会発表] (計 4 7件)

- ① Takae Takeuchi, Tomoko Kimura, Shoko Ichii, Masato Kiuchi, Sachiyo Kaneko, Takahito Suzuki: "The Effect of Incubation Temperature on Microbial Volatile Organic Compounds Emitted by *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium paneum*", *60th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Vancouver, May 20, 2012.
- ② Takae Takeuchi, Erika Sugawara, Yuka Kurosaki, Tomoko Kimura, Shigeki Kajihara, Hiroko Morinaga, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka; "Ab initio DFT Study on the Fragmentation Mechanism of Proton Adducts of Phosphorylated Tetrapeptide in Collision-Induced Dissociations", *60th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Vancouver, Canada, May 22, 2012.
- ③ T. Suzuki, Y. Kiuchi, S. Kaneko, T. Kimura, M. Kiuchi, T. Takeuchi: "Allelochemical function of microbial organic compounds produced by *Fusarium solani*", *18th Congress of the International Society for Human and Animal*

Mycology, Berlin, June 12, 2012.

④ Takae Takeuchi, Haruna Tanaka, Shoko Ichii, Tomoko Kimura, Sachiyo Kaneko, Takahito Suzuki: “Analysis of Microbial Volatile Organic Compounds for Conservation Technology of Cultural Heritage”, *JSPS Bilateral Program: Japan-Hungary Joint Seminar*, Nara, July 8, 2012.

⑤ 竹内孝江: “文化財の環境分析：かびの臭いが決め手”, *日本学術会議講演会*, 東京, 2012年8月7日.

⑥ Takae Takeuchi, Ayaka Takahashi, Erika Sugawara, Tomoko Kimura, Yuka Kurosaki, Shigeki Kajihara, Hiroko Morinaga, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka: “*Ab initio* MO Study on the Fragmentation Mechanisms of Protonated Phosphopeptides in “On-Resonance” and “Off-Resonance” Pulsed Gas Introduction Collision-Induced Dissociations”, *19th International Mass Spectrometry Conference*, Kyoto, Sep. 20, 2012.

⑦ Yayoi Hongo, Takemichi Nakamura, Takae Takeuchi: “Energy-resolved ion-mobility tandem mass spectrometry: a new tool for probing gas-phase isomerization and fragmentation of small molecules”, *19th International Mass Spectrometry Conference*, Kyoto, Sep. 20, 2012.

⑧ Shoko Ichii, Tomoko Kimura, Haruna Tanaka, Sachiyo Kaneko, Yoko Kiuchi, Takahito Suzuki, Toshiki Sugai, Takae Takeuchi: “Analysis of Metabolites emitted by Soil-Derived Fungi using Ion Mobility Spectrometry based on GC/MS Data Analysis”, *19th International Mass Spectrometry Conference*, Kyoto, Sep. 20., 2012.

⑨ 竹内孝江, 櫛彰子, 木村知子, 中村義隆, 菅井俊樹, 紅朋浩, 木内正人: “カビ臭分析によるカビ種推定ソフトウェアの開発：文化財保全への応用”, *JSPS マイクロビームアナリシス第141委員会 第150回研究会*, 京都大学, 2012年12月4日.

⑩ Takae Takeuchi, Haruna Tanaka, Shoko Ichii, Tomoko Kimura, Yoko Kiuchi, Yoshitaka Nakamura, Toshiki Sugai, Tomohiro Akashi, Masato Kiuchi, Takahito Suzuki: “Analysis of Microbial Volatile Organic Compounds for Conservation Technology of Cultural Heritage: Fungal Odor Detection Technique in Early Growth Stages and Software for Fungal Species Estimation”, *36th International Symposium on the Conservation and Restoration of Cultural Property 2012—Microbial Biodeterioration of Cultural Property*, Tokyo, Dec. 6, 2012.

⑪ 竹内孝江: “マススペクトルのフラグメンテーション解析の理論的研究とデータベース解析ソフトウェアの開発”, *第60回イオン反応研究会・第139回質量分析関西談話会*, 京都, 2013年2月9日 (招待講演).

⑫ 竹内孝江, 櫛彰子, 釣沙也香, 木村知子, 山下明日香, 中村義隆, 菅井俊樹, 紅朋浩: “カビ臭の質量分析およびイオンモビリティ分析によるカビ種推定ソフトウェアの開発”,

日本化学会第93春季年会, 立命館大学くさつキャンパス, 2013年3月23日.

⑬ 竹内孝江: “文化財保存のための環境モニターシステムの開発~カビ臭質量スペクトルおよびイオンモビリティデータベースとカビ種推定ソフトウェア“MVOC Finder”~”, *第2回イオン移動度研究会*, 大阪府立大学, 2013年5月8日 (招待講演).

⑭ Takae Takeuchi, Shoko Ichii, Yoshitaka Nakamura, Toshiki Sugai, Masato Kiuchi, Tomohiro Akashi: “Development of Software for Detecting and Identifying Fungal Species Using GC/MS, LC/MS and IMS Data of Microbial Volatile Organic Compounds”, *61st ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Minneapolis, USA, June 13, 2013.

⑮ T. Takeuchi, S. Ichii, Y. Nakamura, T. Sugai, T. Akashi, M. Kiuchi, T. Suzuki: “Analysis of Microbial Volatile Organic Compounds for Conservation Technology of Cultural Heritage: Development of Software for Fungal Species Identification”, *44th IUPAC Congress*, Istanbul, Turkey, Aug. 13, 2013.

⑯ 山下明日香, 河合志希保, 梶原茂樹, 村瀬雅樹, 田中耕一, 竹内孝江: “リン酸化ペプチドプロトン付加分子の On-Resonance 励起衝突誘起解離機構の理論的研究 IV. *Ab initio* ポテンシャルエネルギー曲面と内部エネルギー分布”, *第61回質量分析総合討論会*, つくば, 2013年9月11日.

⑰ 渡辺健宏, 菅原幸太郎, 竹内孝江, 山垣亮: “イオンモビリティ分離質量分析法および MS/MS 断片化によるフラボノイド配糖体異性体のキャラクタリゼーション”, *第61回質量分析総合討論会*, つくば, 2013年9月11日.

⑱ 田尻道子, 竹内孝江, Feifei Zhu, Maissa M. Gaya, 本郷やよい, 中村健道, 廣瀬賢治, David E. Clemmer, 和田芳直: “糖ペプチドのイオンモビリティ質量分析と分子力学法を用いたコンフォメーション探索”, *第61回質量分析総合討論会*, つくば, 2013年9月11日.

⑲ 坂上美緒, 鈴木孝仁, 木村知子, 木内正人, 竹内孝江: “SPME/GC/MS 法による貧栄養の水環境に生育する細菌由来揮発性有機化合物(MVOC)の同定 I. *Brevundimonas vesicularis*, *Pseudomonas fluorescens* および *Sphingomonas paucimobilis*”, *第61回質量分析総合討論会*, つくば, 2013年9月11日.

⑳ 竹内孝江, 釣沙也香, 木村知子, 鈴木孝仁, 木内葉子, Berl R. Oakley, 紅朋浩: “*Aspergillus nidulans* の揮発性代謝物の GC/MS 分析とセスキテルペン生成関連遺伝子の探索 I. ノックアウト株と発現誘導株”, *第61回質量分析総合討論会*, つくば, 2013年9月12日.

㉑ 竹内孝江: “フラグメンテーション機構の研究: On-および Off-Resonance CID”, *第5回 LC/MS ワークショップ*, 掛川, 2013年10月25日 (招待講演).

㉒ 坂上美緒, 鈴木孝仁, 木村知子, 木内正人, 竹内孝江: “揮発性有機化合物に注目した貧

栄養の水環境に生育する細菌に関する研究”, 第16回日本水環境学会シンポジウム, 琉球大学, 2013年11月9日.

③ 竹内孝江, 鈴木孝仁, 中村義隆, 菅井俊樹, 木内正人, 紅朋浩: “土壌由来カビ分析におけるMS技術の新展開～揮発性代謝物MVOCのプロファイル解析～”, 第16回日本水環境学会シンポジウム, 琉球大学, 2013年11月9日.

④ Takae Takeuchi, Shoko Ichii, Tomoko Kimura, Takahito Suzuki, Masato Kiuchi, Yoshitaka Nakamura, Toshiki Sugai, Tomohiro Akashi: “Fungal Odor Detection Technique and Software for Identifying Fungal Species: Analysis of Microbial Volatile Organic Compounds (MVOCs) by SPME-GC/MS and IMS for Conservation Technology of Cultural Properties”, *Workshop on Strategic Japanese-Croatian Cooperative Program*, Nara, Nov. 14, 2013 (招待講演).

⑤ Takae Takeuchi, Shoko Ichii, Yoshitaka Nakamura, Toshiki Sugai, Masato Kiuchi, Tomohiro Akashi: “Development of a Combined SPME-IMS System and the Software for Detecting and Identifying Fungal Species”, *9th International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices '13*, Kona, USA, Dec. 2, 2013.

⑥ Michiko Tajiri, Takae Takeuchi, Yoshinao Wada: “Ion mobility mass spectrometry and MM conformational search of glycopeptides”, *5th JCS International Symposium on Theoretical Chemistry*, Nara, Dec. 3, 2013 (招待講演).

⑦ 竹内孝江: “ニオイで菌を探る: 文化財環境における真菌検出システムの開発”, 鳥取大学ポストグローバルCOE公開シンポジウム, 国立科学博物館上野本館講堂, 2014年3月1日 (招待講演).

⑧ 山下明日香, 梶原茂樹, 村瀬雅樹, 田中耕一, 竹内孝江: “リン酸化ペプチドプロトン付加分子のOn-Resonance励起衝突誘起解離機構の理論的研究 V. *Ab initio*法によるTRDIYETDpYYRKプロトン付加分子からのH₃PO₄脱離機構”, *日本化学会第94春季年会*, 名古屋大学, 2014年3月27日.

⑨ 釣沙也香, 紅朋浩, 鈴木孝仁, 竹内孝江: “*Aspergillus nidulans*の揮発性代謝物のGC/MS分析とセスキテルペン生成関連遺伝子の探索 II. セスキテルペンの構造解析”, *日本化学会第94春季年会*, 名古屋大学, 2014年3月27日.

⑩ 竹内孝江, 櫛彰子, 中村義隆, 紅朋浩, 菅井俊樹: “揮発性代謝物質のイオンモビリティによる汚染微生物の検出ソフトウェアの開発”, *第3回イオン移動度研究会*, 習志野, 千葉, 2014年4月19日.

⑪ 浅川大樹, 竹内孝江, 山下明日香, 和田芳直: “金属-ペプチド複合体形成が電子移動解離に与える影響”, *第62回質量分析総合討論会*, つくば, 2014年5月15日.

⑫ 釣沙也香, 紅朋浩, 鈴木孝仁, 木村知子,

柘田基子, 岩下孝, 小村啓, 竹内孝江: “*Aspergillus nidulans*の揮発性代謝物のGC/MS分析とセスキテルペン生成関連遺伝子の探索 III”, *第62回質量分析総合討論会*, つくば, 2014年5月15日.

⑬ 竹内孝江: “質量スペクトル解析における基礎理論と文化財保存への応用”, *理研シンポジウム: 物質構造解析2014:MSとNMRの基礎と実践*, 理化学研究所(和光市), 2014年6月20日 (招待講演).

⑭ Takae Takeuchi, Haruna Tanaka, Shoko Ichii, Tomoko Kimura, Takahito Suzuki, Yoshitaka Nakamura, Toshiki Sugai, Tomohiro Akashi: “Can GC-MS and IMS data of MVOCs identify fungal species? Development of a software for conserving cultural heritage sites”, *5th Asia Oceania Mass Spectrometry Conference*, Peking Univ., Beijing, China, July 18, 2014 (招待講演).

⑮ Michiko Tajiri, Takae Takeuchi, Yayoi Hongo, Takemichi Nakamura, Kenji Hirose, Yoshinao Wada: “Ion mobility spectrometry and MM conformational search of glycopeptides”, *20th International Mass Spectrometry Conference*, Geneva, Switzerland, Aug. 26, 2014.

⑯ Yayoi Hongo, Hiroyuki Koshino, Syunya Takahashi, Takemichi Nakamura, Takae Takeuchi: “Structure and energy dependent ion isomerizations of folates detected using ‘ER-IMS/MS’”, *20th International Mass Spectrometry Conference*, Geneva, Switzerland, Aug. 26, 2014.

⑰ Takae Takeuchi, Shoko Ichii, Tomoko Kimura, Yoshitaka Nakamura, Toshiki Sugai, Takahito Suzuki, Tomohiro Akashi: “Development of Software for Identifying Soil-derived Fungal Species with PLS Analysis of SPME GC/MS and IMS Data of Microbial Volatile Organic Compounds for Conservation Technology of Cultural Properties”, *20th International Mass Spectrometry Conference*, Geneva Switzerland, Aug. 27, 2014.

⑱ Takemichi Nakamura, Asuka Yamashita, Yayoi Hongo, Shunya Takahashi, Takae Takeuchi: “Formation of isomeric ions in collision-induced dissociation process probed by energy-resolved ion mobility tandem mass spectrometry (ER-IMS/MS²)”, *20th International Mass Spectrometry Conference*, Geneva, Switzerland, Aug. 28, 2014.

⑲ 釣沙也香, 木村知子, 木内葉子, 鈴木孝仁, 柘田基子, 竹内孝江: “土壌由来真菌 *P. paneum*の揮発性代謝物のSPME/GC/MS分析—生育温度および培地による効果”, *第17回日本水環境学会シンポジウム*, 滋賀県立大学(彦根市), 2014年9月8日.

⑳ 木村知子, 櫛彰子, 釣沙也加, 山田悠貴, 柘田基子, 鈴木孝仁, 竹内孝江: “土壌由来カビから放出される揮発性有機化合物のIMSおよびGCMSデータの多変量解析 II”, *第17回日本水環境学会シンポジウム*, 滋賀県立大

学(彦根市), 2014年9月8日.

④ 竹内孝江: “ニオイ分析による文化財保存のためのカビ種推定ソフトウェア研究”, *日本分析化学会ガスクロマトグラフィー研究懇談会 第334回ガスクロマトグラフィー研究会特別講演会*, 東京, 2014年12月12日 (招待講演).

⑤ 小野紗矢香, 渡辺健宏, 山垣亮, 竹内孝江: “フラボノイド配糖体のイオンモビリティ質量スペクトル解析に関する理論的研究 I. ケンペロール-3-O-グルコシド, ケンペロール-3-O-ルチノシド, ケルセチン-3-O-グルコシド, ケルセチン-3-O-ルチノシド”, *日本化学会第95春季年会*, 船橋市, 2015年3月27日.

⑥ 山下明日香, 竹内孝江: “リン酸化ペプチドのプロトン付加分子の On-Resonance 励起衝突解離機構の量子化学的研究 VI. 単分子分解反応速度の計算”, *日本化学会第95春季年会*, 船橋市, 2015年3月28日.

⑦ 河合志希保, 坂部輝御, 竹内孝江: “ヒンダードアミン系光安定剤の MALDI マススペクトルにおけるフラグメンテーション機構の量子化学的研究 I. コハク酸ジメチルと 4-ヒドロキシ-2,2,6,6-テトラメチル-1-ピペリジンエタノールの重縮合物”, *第63回質量分析総合討論会*, つくば, 2015年6月17日.

⑧ 浅川大樹, 山下明日香, 和田芳直, 竹内孝江: “金属-ペプチド複合体を用いた電子移動解離質量分析法の本質解明に向けたアプローチ”, *第63回質量分析総合討論会*, つくば, 2015年6月17日.

⑨ 田尻道子, 竹内孝江, 本郷弥生, 中村健道, 廣瀬賢治, 和田芳直: “糖ペプチドのイオンモビリティ質量分析法”, *第63回質量分析総合討論会*, つくば, 2015年6月17日.

⑩ Takae Takeuchi, Tomoko Kimura, Motoko Masuda, Sayaka Tsuru, Takahito Suzuki, Yoshitaka Nakamura, Toshiki Sugai, Tomohiro Akashi, Hitoshi Fujimiya, “Determination of solid-derived fungal species by ion mobility spectrometric analysis of microbial volatile organic compounds for conservation technology of cultural heritage”, *International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015 Congress)*, Hawaii, USA, Dec. 16, 2015.

〔図書〕(計 2件)

① 竹内孝江: “11章イオンの計算化学”, 高山光男, 早川滋雄, 瀧浪欣彦, 和田芳直編, “現代質量分析学”, pp. 157-166, 化学同人, 2013年1月15日.

② 鈴木孝仁, 木内正人, 竹内孝江: “第9章第5節 文化財の微生物汚染と簡易迅速検査法”, “微生物の簡易迅速検査法”, pp. 483-489, テクノサイエンス, 2013年11月16日.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2件)

①名称: 特定カビ種存在判定システム, 特定カビ種存在判定関数取得装置, 特定カビ種存

在判定装置, 特定カビ種存在判定方法, 及びプログラム

発明者: 青木良晃, 竹内孝江

権利者: 株式会社ダイナコム, 奈良女子大学
種類: 特許

番号: 特許出願 2012-238876, 特許公開 2014-87282

出願年月日: 2012年10月30日

国内外の別: 国内

②名称: IMS ドリフトタイム予測装置, IMS ドリフトタイム予測方法およびプログラム

発明者: 橘亜友子, 竹内孝江, 菅井俊樹

権利者: 株式会社ダイナコム, 奈良女子大学, 東邦大学

種類: 特許

番号: 特許出願 2012-254179, 特許公開 2014-102149

出願年月日: 2012年11月20日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://koto10.nara-wu.ac.jp/Profiles/5/0000420/profile.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

竹内 孝江 (Takae Takeuchi)

奈良女子大学・自然科学系・准教授

研究者番号: 80201606

(2)研究分担者

鈴木 孝仁 (Takahito Suzuki)

奈良女子大学・古代学学術研究センター・

特任教授

研究者番号: 60144135

紅 朋浩 (Tomohiro Akashi)

名古屋大学大学院・医学系研究科・助教

研究者番号: 00222513

(3)連携研究者

()

研究者番号: