

平成 30 年 12 月 5 日

機能性成分と健康寿命との相関究明に応用可能な定量解析法の新規開発

概要・研究のポイント

健康か、病気かの違いに、私たちの身体のタンパク質の量（発現）の違いで分かることがあります。例えば、癌の腫瘍マーカーなどが良い例です。このタンパク質の量をどのように決めるかというと、血液検査でタンパク質の量を決めますが、その方法は煩雑で時間もかかります（図 1）。

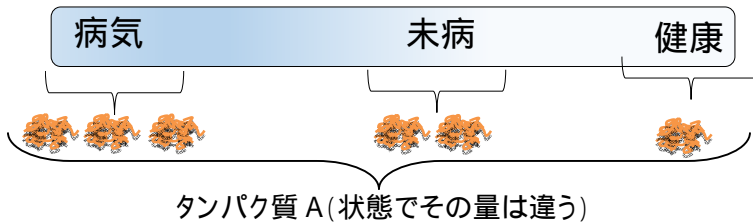
Py-Tag* という試薬を用いてタンパク量を簡単に（一度の測定で）決める新規定量解析法を開発しましたので、今回、論文発表しました。今後の展開として、前述のような病気に対するタンパク質を測定したり、これまで見つかっていない、疾患に関するタンパク質の発見に役立つことが期待されます。

*Py-Tag: 大陽日酸、福井大学、北陸大学が共同開発したピリリウム骨格(炭素原子数: 13 個)を有する新規化合物で、タンパク質のリジン基および遊離アミンのアミノ基に特異的に反応。化学構造中の炭素原子(¹²C)を質量が 1 重い炭素原子(¹³C)に変換することで重さの差(最大 12)を付与できる誘導体化試薬で、大陽日酸が独占販売権を保有。

【掲載誌・論文】

International Journal of Mass Spectrometry (出版社: Elsevier (Nederland), IF:1.826)
 "Concurrent mass spectrometric analysis of multiple samples using Py-Tag reagents"
 S. Taira (責任著者) 他 Vol.434 pp.158-163 (2018)

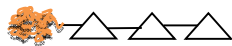
【要旨】



これまでの検査法: 別々に測定するので時間がかかる

もし、これらを一度に測定すると、単に、同じタンパク質が 6 個検出されるだけ。

近年の方法: 同じタンパク質でも質量(重さ)の差(下図の)をつける誘導体化が開発された。これにより一度に異なる状態の同じタンパク質が測定可能となった。



既存法: 差が小さく判別しにくい

病気

未病

健康

$\Delta 1\text{Da}$ $\Delta 1\text{Da}$



本論文: 差が大きく解析が簡便、迅速に

病気 * 3 : 2 : 1 で発現していることが分かる

未病

健康

$\Delta 6\text{Da}$ $\Delta 6\text{Da}$

図 1 重さの差をつけた解析法: グラフは横軸質量、縦軸はタンパク質の発現量を表している。

課題: 重さの差が小さく (1 - 3 Da)、精度の良い測定装置が必要であった。(左図)

本論文: 重さの差を世界初の「6」とすることでより解析しやすくなった。(右図)

この重さの差を実現するのが新規誘導体化試薬「Py-Tag」(大陽日酸製)である。

【研究の背景】

タンパク質の発現量を把握することは、基礎科学だけでなく、我々生体内の様々なイベント(成長、体調、病気の有無)を理解する上で重要です。昔は、遺伝子の量を測定することでタンパク質の発現量を予測していましたが、最近では、そこに相関関係があまりないということがわかってきました。結局、最終産物(タンパク質以外にも代謝物がある)を測ることが重要であるというのがここ10年の生物学の流れです。しかし、例えば、タンパク質の量を健常時と疾患時を比較するときには、最低でも2回(健常時と疾患時の比較)測定する必要があるため、時間がかかります。一度に測定することが問題解決の鍵となります。

近年、そういった背景を受け、質量分析技術(2002年に田中耕一氏がノーベル賞受賞)を応用した、誘導体化試薬によるタンパク質発現一斉解析法が考案されました。これは、測定したい同じタンパク質でも、例えば健常時と疾患時の同じタンパク質に質量(重さ)の差をつけることで、両者を混合したサンプルを測定しても別々の分子量で測定されるため、一度にその発現量の差が分かるという手法です。ただし、これまでの誘導体化試薬でつけられる「重さの差」はせいぜい、「3」で、これはそれほど大きいとは言えず、精度の良い装置を必要としていました。我々は、Py-Tagの大きな質量差に着目し、より簡便で迅速にタンパク質の発現量を把握する方法の開発に取り組みました。

【今回の成果】

- ・重さの差を「6」とするPy-Tagを用いてタンパク質の定量解析に成功した。
- ・たんぱく質(分子量大)だけでなく、分子量の小さい代謝物(アミノ酸など)も測定可能とした。
- ・煩雑な前処理なしで、たんぱく質の定量解析に成功した。

【今後の展開】

福島大学食農学類では、「おいしさと健康をひとつ」をテーマの一つに掲げ、食を通じた健康管理、食品の安全性向上、福島ブランドの競争力向上に取り組めます。今回開発した定量解析法を用いて、体内モノアミン他、タンパク質の同定・定量を行うことで、機能性成分摂取と健康寿命との相関についての解明を目指します。

【謝辞】

本研究は、福島大学・農学群、福井大学・医学部・大陽日酸(株)の研究グループ、JST、H30 A-STEP 機能検証フェーズの一部を用いてなされた。

【用語解説】

たんぱく質：生体物質の一つでアミノ酸が多数連結された状態のもの。生体内の様々な調節を担っている。

質量分析：物質をイオンにして重さ(質量)を測定する方法。

(お問い合わせ先)

平 修 (福島大学・農学群・食農学類準備室、准教授、副室長)

Mail staira@agri.fukushima-u.ac.jp