

ペプチド配列を決定する新規ペプチドミクス技術を確立

見逃されてきた短いペプチドを正確に読み解く新技術、食品・生命科学研究への応用に期待

ポイント

- ① 食品や生体試料に含まれる短いペプチド(※1)は、生命現象や食品機能に関わる重要な分子であるが従来の解析技術では配列を正確に決定することが難しく、その実態や機能の解明が課題
- ② 本研究では、質量分析法(※2)を用いてこれまで見逃されてきた短いペプチドの配列を正確に決定できる、新規ペプチドミクス(※3)技術の開発に成功
- ③ 本技術により、食品や生体試料中に存在する短いペプチドの機能解明が進み、今後、食品の品質や機能性の評価、疾患関連ペプチドの探索、生命科学研究への応用が期待

概要

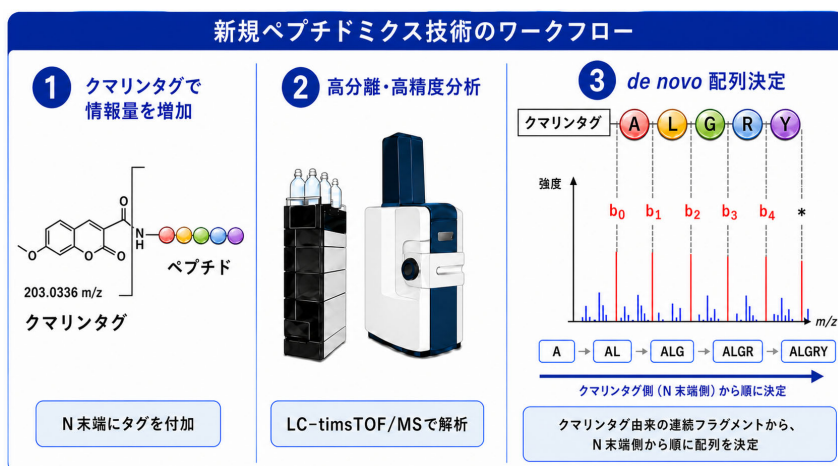
近年、ゲノミクス、プロテオミクス、メタボロミクスなどのオミクス(※4)技術の発展により、生命現象を分子レベルで理解する研究が進んでいます。なかでも、食品や生体試料に含まれる短いペプチドは、生命現象や食品機能、生体応答を反映する重要な分子であると考えられています。

しかし、従来のペプチドミクス解析では、質量分析 (MS) において得られた情報を既知のタンパク質配列データベースと照合してペプチドを同定する方法が主流でした。そのため、データベースに登録されていないペプチドや、7 残基以下の短く情報量の少ないペプチドを正確に解析することは困難でした。

今回、九州大学五感応用デバイス研究開発センターの外山友美子助教、大学院農学研究院の田中充准教授らの研究グループはクマリン誘導体化 MS 法を MS/MS 解析(※5)に応用し、既存の配列データベースに依存せず、質量分析データから低分子ペプチドの配列を直接読み解く新規ペプチドミクス技術を確立しました(図1)。本技術により、これまで見逃されてきた短いペプチドの配列を高精度かつ網羅的に決定できるようになり、食品や生体試料中に存在する未知の短鎖ペプチドの探索が可能になります。

今回の成果は、食品の機能性評価、生理活性ペプチドの発見、疾患関連ペプチドの探索などに役立つことが期待されます。

本研究成果は、米国の学術雑誌「Analytical Chemistry」に2026年6月15日(月)(日本時間)に掲載されました。



研究者からひとこと：

「計測は科学の母」という言葉の通り、優れた分析法は科学の進歩を支える根幹です。私たち分析化学者の最大の喜びは、複雑な試料の中に潜む情報を余すことなく引き出せるツールを世に送り出すこと。本手法が一人でも多くの研究者の手に渡り、新しいサイエンスを切り拓く一助となれば、これ以上の喜びはありません。分析屋冥利に尽きる、そんな研究を今後も追求していきます。(田中充)

図1. 新規ペプチドミクス技術のワークフロー

【研究の背景と経緯】

食品や生体内には、アミノ酸が数個つながった短いペプチドが多数存在しています。これらの短いペプチドは、食品の味や機能性、消化吸収、生体内の調節機能に関わる可能性があり、近年注目されています。

しかし、短いペプチドは分子が小さく、質量分析で得られる情報が限られるため、アミノ酸の並びを正確に決めることが困難でした。従来の解析では、既知のタンパク質配列データベースに照合する方法が多く用いられてきましたが、未知のペプチドや、情報量の少ない短いペプチドは見逃される可能性がありました。

そのため、食品や生体試料に含まれる未知の短いペプチドを、データベースに頼らずに読み解く技術が求められていました。本研究では、この課題を解決するために、新たなペプチドミクス技術を開発しました。

【研究の内容と成果】

本研究の最大の成果は、従来法では検出できなかった、もしくは、誤って同定されていた短いペプチドを、正確に読み解けるようにした点です。

本研究では、短いペプチドの配列を正確に読み解くため、ペプチドの末端にクマリン骨格を有するタグを付ける方法に着目しました。このタグを付けることで、質量分析で得られる配列情報が増え、従来は読み取りが難しかった短いペプチドを、より正確に解析できるようになりました（図2）。

具体的には、質量分析において認められたペプチドに対してMS/MS解析を行うことにより、N末端(※6)に修飾したクマリンタグを起点として、1残基ずつペプチド結合が開裂したフラグメントイオン(bイオン)(※7, 8)が検出されます。したがって、その分子量差から結合しているアミノ酸の種類をN末端側から一つずつ決定することが可能となり、ペプチド配列の決定に至ることができます。

開発した方法の有効性を調べるため、配列が分かっている132種類の標準ペプチドを用いて、従来法と比較しました。その結果、従来法では86種類のジペプチドのうち42種類、46種類のオリゴペプチドのうち25種類しか正しく同定できませんでした。一方、本手法では、132種類すべてのペプチドを正しく同定することに成功しました（図3）。

さらに、従来法では誤った配列として判定されるペプチドが確認されましたが、本手法ではそのような例は認められませんでした。これは、本手法が単に多くのペプチドを検出できるだけでなく、短いペプチドを高い精度で読み解けることを示しています。

また、食品由来試料であるカゼインペプトン(※9)を解析したところ、本手法では従来法よりも多くのペプチドを同定できました。特に、2~5個のアミノ酸からなる短いペプチドの検出数が増加しました。これにより、本手法が食品中の複雑なペプチド混合物にも適用できることが示されました。

【今後の展開】

本技術は、食品や生体試料に含まれる未知の短いペプチドを見つけ出すための新たな基盤技術になると期待されます。今後は、発酵食品、タンパク質分解物、血液や尿など、より複雑な試料への応用を進めます（図4）。

これにより、食品のおいしさや機能性に関わるペプチド、生体内で健康状態や疾患と関係するペプチドの発見につながる可能性があります。将来的には、食品科学、生命科学、医薬・健康科学分野において、短いペプチドを手がかりとした新たな研究展開が期待されます。

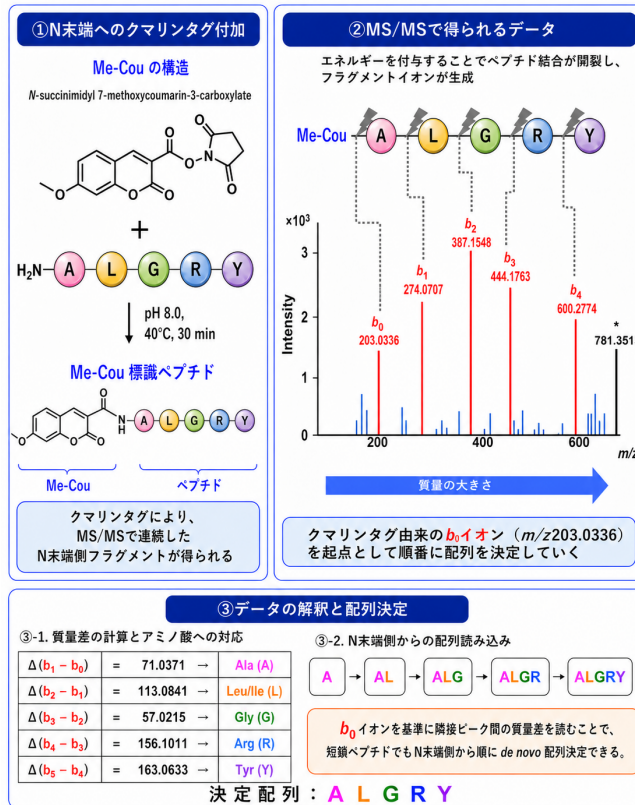


図2. クマリンタグを利用したペプチド配列決定の原理

MS/MS 解析では、クマリンタグ由来の特徴的な b_0 イオン (m/z 203.0336) が観測され、このイオンを起点として連続する b イオン系列の m/z 差を読み取ることで、N末端側からアミノ酸配列を推定できる。

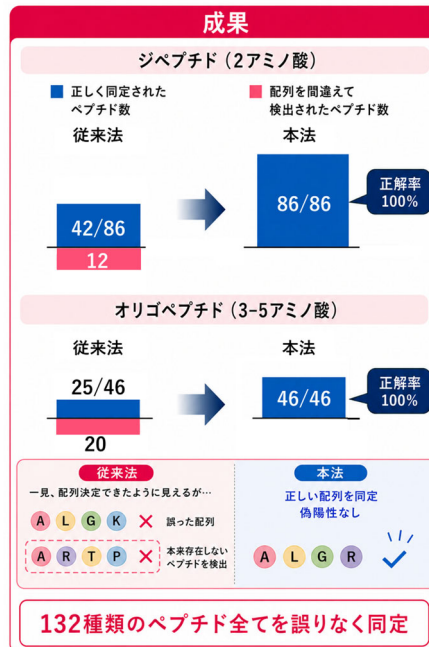


図3. 従来法と本法の比較

従来法では、ジペプチドおよびオリゴペプチドの一部で配列誤認や偽陽性検出が認められたのに対し、本法では計 132 種類のペプチドをすべて正しく同定した。

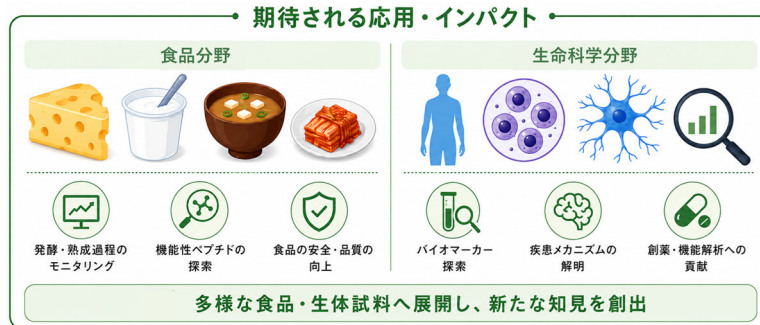


図4. 今後の展望

短いペプチドを正確に読み解く本技術は、食品の品質や機能性に寄与するペプチドの探索に加え、生体試料を用いたバイオマーカー探索や疾患研究にも展開できる可能性がある。

【用語解説】

(※1)ペプチド

・・・アミノ酸が複数つながった分子。

(※2)質量分析法

・・・分子の重さを手がかりに、試料中の成分を調べる分析方法。

(※3)ペプチドミクス

・・・オミクス研究の一つで、試料中に含まれる多くのペプチドをまとめて解析し、その種類や量、アミノ酸配列を調べる研究分野。

(※4)オミクス

・・・生体内に存在する分子を一つずつ調べるのではなく、まとめて網羅的に解析する研究分野の総称。遺伝子を対象とするゲノミクス、タンパク質を対象とするプロテオミクス、代謝物を対象とするメタボロミクスなどがある。

(※5)MS/MS 解析

・・・質量分析を2段階で行う方法。まず1段階で「調べたい分子」だけを取り出し、次にその分子をわざと壊して、2段階においてできた破片のパターンから分子の構造や種類を詳しく特定する方法。

(※6)N 末端

・・・ペプチドやタンパク質の一方の端。アミノ酸が鎖状につながった分子には向きがあり、N 末端側から順に配列を読むことで、アミノ酸の並びを決定できる。

(※7)フラグメントイオン

・・・質量分析中に分子が切れてできる断片イオン。ペプチドでは、どの位置で切れた断片かを調べることで、アミノ酸配列の情報が得られる。

(※8)b イオン

・・・MS/MS 解析でペプチドが切断されたときに生じるフラグメントイオンの一種。N 末端側を含む断片であり、連続したb イオンを比較することで、N 末端側からアミノ酸配列を読み取ることができる。

(※9)カゼインペプトン

・・・牛乳に含まれる主要なタンパク質であるカゼインを分解して得られるペプチド混合物。

【謝辞】

本研究は JSPS 科研費 (JP25K24293, JP24K21842, JP25K01968)、JST SPRING (JPMJSP2136)、生研支援センター「スタートアップ総合支援プログラム[SBIR 支援] (JPJ010717)」、大学発新産業創出基金事業「スタートアップ・エコシステム共創プログラム (JPMJSF2317)」の助成を受けたものです。

【論文情報】

掲載誌：Analytical Chemistry

タイトル：N-terminal Coumarin Derivatization-aided De Novo Peptide Sequencing and its Application to Peptidomics using LC-trapped Ion Mobility Spectrometry-qTOF /MS

著者名：Luan, Hui; Toyama, Yumiko; Honda, Fumiya; Asai, Ryotaro; Katagihara, Risa; Xiao, Yizhi; Nakamura, Saya; Matsui, Toshiro; Tanaka, Mitsuru

D O I : 10.1021/acs.analchem.6c01542

【お問合せ先】

<研究に関すること>

九州大学 大学院農学研究院 食料化学工学講座 食品分析学分野

准教授 田中 充 (タナカ ミツル)

TEL : 092-802-4753 FAX : 092-802-4753

Mail : mitsurut@agr.kyushu-u.ac.jp

<報道に関すること>

九州大学 広報課

TEL : 092-802-2130 FAX : 092-802-2139

Mail : koho@jimu.kyushu-u.ac.jp