

(東京家政大院 健康栄養)

○岩崎優, 重村泰毅, 佐藤吉朗

【目的】タンパク質及びペプチドの一次構造解析には **LC-MS** やプロテインシーケンサが用いられる。**LC-MS** は高感度な検出が可能であるが、目的物質の標準品が必要であり、同一分子量が多く混在する食品や生体試料からの検出が困難である。高感度検出が困難なプロテインシーケンサは、ペプチド N 末端からアミノ酸 1 残基ごとに **PTH-アミノ酸**に変換することで、未知のペプチドのアミノ酸配列の特定が可能である。プロテインシーケンサ内でペプチドから生成した **PTH-アミノ酸**を **LC-MS** で検出できれば、標準ペプチドを使用せずにアミノ酸配列の高感度特定が可能であると考えられる。そこで、両装置を併用し、**PTH-アミノ酸**の **LC-MS** 検出と生体試料中のペプチドのアミノ酸配列同定を試みた。

【方法】まず、20 種の **PTH-アミノ酸**混合標準品(和光純薬)を **LC-MS**(島津 LCMS-2020)で分析した。次にフラクションコレクタを接続させたプロテインシーケンサ(島津 PPSQ-31B)を用いて、遊離標準アミノ酸(和光純薬)を分析し、**PTH** 化されたアミノ酸を分取後 **LC-MS** で分析した。**Pro-Hyp** を標準ペプチドとして使用し、同様の手法からプロテインシーケンサで回収した **PTH-アミノ酸**を **LC-MS** で分析した。

【結果】20 種の **PTH-アミノ酸**標準品は全て **LC-MS** で検出することが可能であり、遊離標準アミノ酸は 18 種類のうち 18 種類が検出された。**LC-MS** の分析結果から、遊離アミノ酸の約 1-30%がプロテインシーケンサによって **PTH** 化され回収されたことが分かった。また 5pmol の標準 **Pro-Hyp** を **PTH** 化し、同様に **LC-MS** で **PTH-Pro** と **PTH-Hyp** として検出することが可能であった。**Pro-Hyp** はプロテインシーケンサを経て約 40%が **LC-MS** で **PTH** 態として検出されることが分かった。