

# 微量組織の個体間分析を実現する高感度ペプチドミクス

生物科学専攻 生物物理学

DS-18905 中川 譲

生体内の内因性ペプチドには、シグナル伝達を始めとした生体機能の恒常性維持に重要な調節因子として機能するものが多く存在する。この中には、近年の次世代シーケンサー技術により発見された G タンパク質共役型受容体に対するリガンドとなるシグナル伝達ペプチドも同定されている。しかし、未だ多くのオーファン受容体が存在していることから、発見できていないリガンドとなる新規生理活性ペプチドも多数存在していることが示唆されている。

近年目覚ましい発展を遂げている液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS) を用いたプロテオミクスは、タンパク質を網羅的に同定・定量できるため、疾患特異的なバイオマーカーの同定を含む幅広い生物学的研究に応用されている。これに伴い、少数例ではあるがラットやマウス 10~30 匹分の組織を対象としたペプチドーム解析が行われ、多くの論文では 1000~2000 ペプチドが、最も多い論文では約 16,000 ペプチドの同定が報告されている。しかし、現在のペプチド研究は 1 個体中の内因性ペプチドが低濃度であることに加え、ペプチド抽出効率の低さから数十匹のマウスやラットを対象として行われており、ペプチドの個体差や組織特異性の解析は未だ達成できていなかった。

そこで、本研究では、微量試料での個体差や組織特異性の分析を可能にするために高効率なペプチド抽出法の開発に挑戦した。その結果、135  $\mu\text{g}$  の凍結視床下部から Neuropeptide Y や Orexin-B などの 35 種類の既知の生理活性ペプチドを含む 1535 種類の同定に成功した。そして、この中の約半分を占めるプロホルモン前駆体タンパク質に由来するペプチドが、生理活性ペプチドの持つ特徴的な切断パターンを持っていることも確認できた。このことは、従来のペプチド抽出において必要とされてきた熱処理を行わなくても、試料調製時のペプチド分解の影響を従来法と同程度に軽減できていることを示しており、凍結試料をもとにしたペプチド分析の可能性を広げる非常に重要な結果である。さらに、この確立した方法を用いて 3 回独立に抽出した試料を分析した結果、非常に高い再現性を有することも確認できた。本研究で開発した方法は、微量組織から高効率にペプチドを抽出し、高い再現性を示す比較解析が可能な方法である。この方法は、今まで困難だった個体差や組織特異性の解析を可能にただけでなく、新規生理活性ペプチド探索など様々なペプチド研究を拓く強力な戦略となる。