

トマトのオスモチン様タンパク質 Protein NP24 の定量法

タバコに含まれるオスモチン（タンパク質）は、アディポネクチン受容体を活性化することから、メタボリックシンドローム抑制効果が期待されています。液体クロマトグラフタンデム質量分析装置（LC-MS/MS）と安定同位体標識内部標準ペプチドを用いて、タバコと同じナス科に属するトマトのオスモチン様タンパク質（Protein NP24、図1）の定量法を開発しました。

☆ 技術の概要

1. 本定量法は、内部標準物質として安定同位体標識ペプチド GQTWINAPR [¹³C₆, ¹⁵N₄] を添加したトマトタンパク質のトリプシン消化物を LC-MS/MS で分析します。多重反応モニタリング（MRM）クロマトグラムの保持時間 5.6 分の位置に、Protein NP24 のトリプシン消化ペプチド GQTWINAPR（図1、赤字の amino 酸配列）のピーク（図2、赤色）と GQTWINAPR [¹³C₆, ¹⁵N₄] のピーク（図2、青色）が観測され、これらピークを比較することで、Protein NP24 を定量できます。
2. Protein NP24 には、NP24 I と NP24 II のアイソフォームが存在します（図1）。本定量法は、NP24 I と NP24 II の合計値を与えます。

```

      10          20          30          40          50          60
MGYLTSSFVL  FFLLCVITYY  AATIEVRNNC  PYTVWAASTP  IGGGRRLNRG  QTWVINAPRG
TKMARIWGRT  GCNFNAAGRG  TCQTGDCGGV  LQCTGWGKPP  NTLAEYALDQ  FSNLDFWDIS
LVDGFNIPMT  FAPTKPSGGK  CHAIHCTANI  NGECPRALKV  PGGCNPCTT  FGGQYCCCTQ
GPCGPTELSK  FFKKRCPDAY  SYPQDDPTST  FTCPGGSTNY  RVVFCPNGVA  DPNFPLEMPA
STDEVAK
  
```

図1. Protein NP24 のアミノ酸配列

赤字：定量に用いるトリプシン消化ペプチドを生成する配列、青字：I, S; NP24 I→F, F; NP24 II

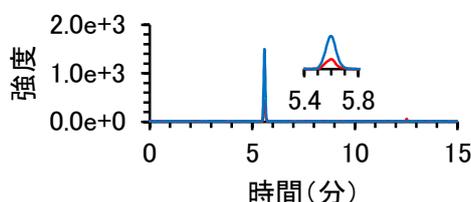


図2. トマトタンパク質トリプシン消化物のMRMクロマトグラム

☆ 活用面での留意点

1. 複数の試薬メーカーが、安定同位体標識ペプチドの受託合成を行っています。
2. 詳細については、農研機構食品総合研究所機能性評価技術ユニット (TEL: 029-838-8094) にお問い合わせください。

(農研機構 食品総合研究所 一法師 克成)