

2020年7月3日

報道関係各位

慶應義塾大学先端生命科学研究所

生体内ジペプチドの一斉分析法を開発 ～メタボローム解析にさらなる新技術～

慶應義塾大学先端生命科学研究所（以下慶大先端生命研、山形県鶴岡市、所長 富田勝）の小澤仁嗣君（大学院政策・メディア研究科 博士課程3年）、平山明由特任講師、曾我朋義環境情報学部教授らの研究グループは、名古屋大学医学部と共同で、生体内に含まれるジペプチドの一斉分析法を開発しました。

ジペプチドは2つのアミノ酸がペプチド結合でつながった化合物であり、アミノ酸とは異なる物理的特性や機能性を有するためにポストアミノ酸として近年注目を集めています。ジペプチドの中には生理活性を有するものや、アルツハイマー病などの疾患バイオマーカー（病気の指標になる代謝物）として期待されているものもあり、さらには醤油や味噌などの発酵食品中の機能性成分としても良く知られています。

今回、慶大先端生命研では、原理の異なる2種類の分析法を併用することによって、生体内に含まれるジペプチドを一斉分析する方法を開発しました。さらに、この方法を使って、高脂肪食負荷マウスの肝組織中から236種類のジペプチドを検出、定量することに成功しました。

この方法は、農作物や食品中の新たな機能性成分の探索、新規疾患バイオマーカーの発見など、多方面への応用が期待されています。

なおこの研究成果は、2020年6月15日、米国化学会誌「Analytical Chemistry」オンライン速報版に掲載されました。

1. 研究の背景

ジペプチドは2つのアミノ酸がペプチド結合でつながった化合物であり、アミノ酸とは異なる物理的特性や機能性を有するためにポストアミノ酸として近年注目を集めています。ジペプチドの中には生理活性を有するものや疾患バイオマーカー（病気の指標になる代謝物）として利用されているものもあり、さらには醤油や味噌などの発酵食品中の機能性成分としても良く知られています。しかしながら、ジペプチドは400種類以上と膨大であり、またアミノ酸の結合順序が逆になった異性体が存在するため、既存の方法では多くのジペプチドを一斉分析するのは困難でした。

2. 研究成果と意義

本研究では、液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（LC-MS/MS）とキャピラリー電気泳動タンデム質量分析法（CE-MS/MS）を用いてジペプチドを一斉分析する方法の開発を行いました。化学的に不安定なシステインを除く361種類のジペプチドに対し、液体クロマトグラフィーに用いるカラムの種類やキャピラリー電気泳動に用いる泳動液の種類、pH（水素イオン濃度）を詳細に検討し、各異性体が効率良く分離する条件を決定しました。

例えば、I (イソロイシン)、L (ロイシン) から構成されるジペプチドは、CE-MS/MS では分離が不十分 (図 1A) であるのに対し、LC-MS/MS では 4 つの異性体が完全に分離できました (図 1B)。一方、K (リジン)、G (グリシン)、Q (グルタミン) から構成されるジペプチドは、LC-MS/MS では全く分離しない (図 1D) のに対し、CE-MS/MS では完全分離が可能でした (図 1C)。

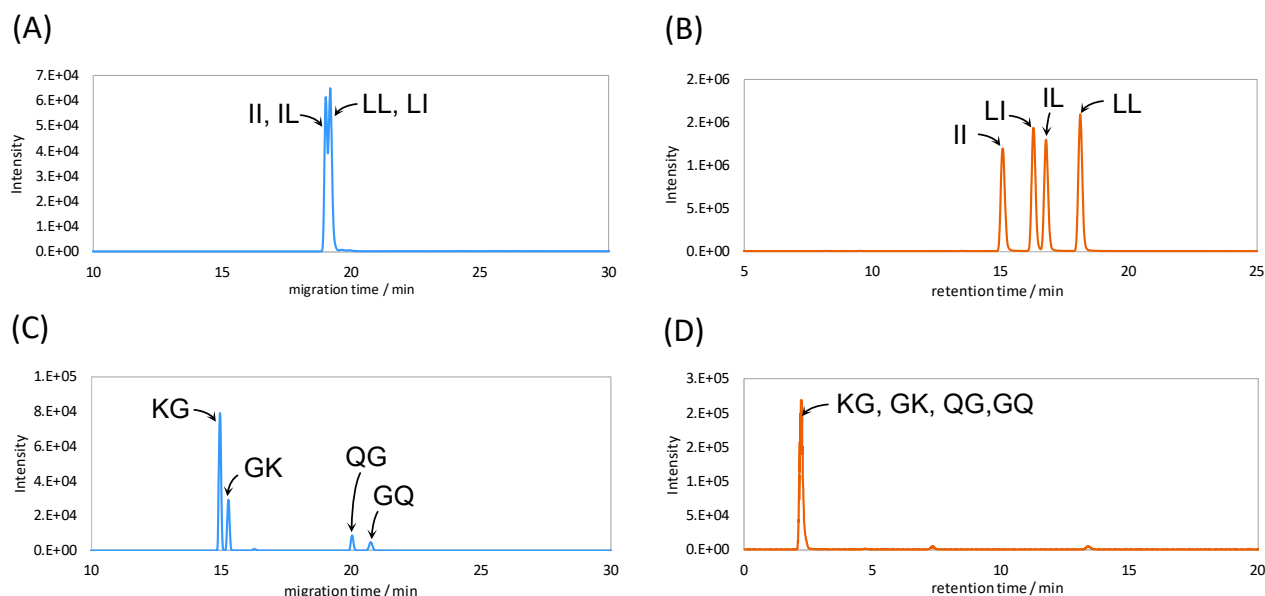


図 1 CE-MS/MS (A, C) および LC-MS/MS (B, D) によるジペプチド異性体の分離

このように、各異性体の測定方法について検討した結果、最終的に 335 種類 (約 93%) のジペプチドについて、その異性体の影響を受けず単独で検出することが可能であることが分かりました (図 2)。

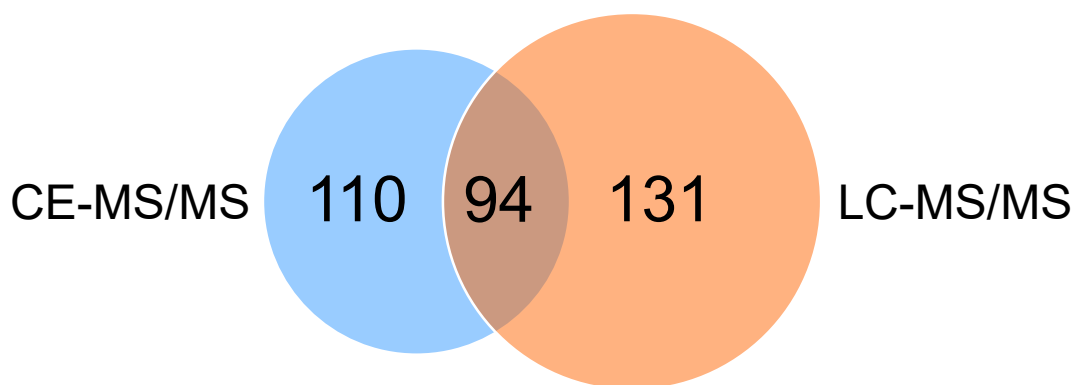


図 2 各分析法によるジペプチドの検出数

中間の 94 物質については、CE-MS/MS、LC-MS/MS どちらでも分離・検出可能であった。

本法を異なる食事 (通常食と高脂肪食) を与えたマウスの肝組織の分析に適用したところ、236 種類のジペプチドの検出に成功しました。これは、これまでに報告された肝組織中のジペプチドの数としては最多です。また、検出されたジペプチドについて統計解析を行った結果、29 種類のジペプチドの量が高脂肪食負荷マウスの肝組織中で減少していた一方で、増加していたジペプチドは 1 つもありませんでした。高脂肪食を多く摂取すると、体内で活性酸素種が多く産生されることが知られており、減少したジペプチドの一部はこれらの消去に使われた可能性が示唆されました。

今回開発したジペプチドの一斉分析法は、食品中の機能性成分の探索や疾患バイオマーカーの探索など、今後さまざまな分野への応用が期待されています。

この研究は、日本医療研究開発機構の創薬基盤推進研究事業「多層的オミックス解析による、がん、精神疾患、腎疾患を対象とした医療技術開発（研究開発分担者：平山明由）」、科学研究費助成事業（新学術領域、基盤研究 C 研究開発代表者：平山明由）および山形県と鶴岡市の支援によるものです。

平山明由特任講師は、「今回、これまで詳細に分析できなかったジペプチドの一斉分析法が確立されたことにより、慶大先端生命研のメタボローム解析技術がさらに強固になりました。今後はさまざまな分野に応用すべく、共同研究などを加速させていきたい」と述べています。

原著論文：Hitoshi Ozawa, Akiyoshi Hirayama, Takamasa Ishikawa, Ryuhei Kudo, Midori Maruyama, Futaba Shoji, Tomohito Doke, Takuji Ishimoto, Shoichi Maruyama, Tomoyoshi Soga and Masaru Tomita. “Comprehensive Dipeptide Profiling and Quantitation by Capillary Electrophoresis and Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry”
Analytical Chemistry

DOI: 10.1021/acs.analchem.0c01258

※本リリースは山形県政記者クラブ、鶴岡市記者会に配信しております。

本発表資料のお問い合わせ先

慶應義塾大学先端生命科学研究所 渉外担当

TEL 0235-29-0802 FAX 0235-29-0809

Email office@ttck.keio.ac.jp

<http://www.iab.keio.ac.jp/>