

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明
2. 研究開発課題名：宿主・腸内フローラ相互作用の理解に向けたミリューリピドミクス基盤技術の構築
3. 研究開発代表者：池田 和貴（国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター）
4. 研究開発の成果

哺乳動物の代謝系で生成しない腸内細菌由来の脂質は、ユニークで複雑な複合体なども形成することが明らかになってきており、宿主と腸内細菌との共生関係から生まれる代謝クロストークを捉えるためには、ノンターゲット型の LC-MS スクリーニング技術のさらなる向上が不可欠である。この技術的な限界を乗り越えるために、平成 27 年度は、「(i) 脂質の新たな分離法」と「(ii) 脂質の新たな構造分析法」にポイントを置いて研究開発を進めた。

「脂質の新たな分離法」としては、構造異性体の分離選択性を上げるために、イオンモビリティ一分離系の確立に取り組んだ。腸内細菌はヒドラーゼやイソメラーゼなどによって、宿主側にはないユニークな構造異性体を産生することが明らかとなっているが、既存の LC 分離技術ではこれらの構造の違いを識別するのが困難である。

このため、平成 27 年度では LC 分離に加えイオンモビリティによる新たな次元の分離技術を複合的に組み合わせて、より構造選択性を高めた新たなアプローチに取り組んだ。その結果、従来 LC では分離が不十分であったリノール酸由来の水酸化脂肪酸の異性体である HYA

(10-hydroxy-cis-12-18:1) や HYC (10-hydroxy-trans-11-18:1) について、イオンモビリティにより分離が可能になった。同様に LC 分離が困難な共役型脂肪酸の CLA1 (cis-9, trans-11-18:2) と CLA3 (trans-10, cis-12-18:2) は、未だイオンモビリティで安定的な分離が難しいために、Modifier ガス等の分析条件の再検討を進めている。

「脂質の新たな構造分析法」としては、二重結合位置の識別を可能にするために、二段階 CID フラグメンテーションとイオンモビリティを組み合わせた新たなアプローチに取り組んだ。各段階のフラグメンテーション条件の最適化と一段階目のフラグメンテーション後に行うイオンモビリティ分離条件の最適化をそれぞれ進めた結果、リン脂質の標準品 (PC, PE) レベルで、一段階目のフラグメンテーション後に生成する各種のリゾリン脂質をイオンモビリティでそれぞれ分離することができた。次に、これらの二段階目のフラグメンテーションの条件検討を行った結果、リゾリン脂質の脂肪酸部の炭素間結合をそれぞれ切断することが可能になった。しかしながら、脂肪酸のエステル結合側と末端側の両端から炭素間結合が切断されることが分かり、複数の二重結合を持つ脂肪酸の場合はフラグメンテーションが複雑化して、二重結合位置を同定するのが困難であることが分かった。現在フラグメンテーションに用いているアルゴンガスでは切断エネルギーが大きいため、よりマイルドなオゾンガスを適用することで二重結合位置に特異的な切断が見込まれるために、装置改良の可否について調査中である。

平成 27 年度から新規に取り組んだ「脂質の新たな分離法」と「脂質の新たな構造分析法」において、分析上の課題がそれぞれ明らかとなったが、これらの改良を進めることで今後リピドミクス技術のブレークスルーに繋がりたいと考えている。