

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	キラルプロテオミクス実現のための異性化ペプチド分離分析法の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	水野 初
	研究分担者	所属・職名	産総技術総合研究所・主任研究員	氏名	浅川 大樹
		所属・職名	産総技術総合研究所・主任研究員	氏名	七種 和美
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	水野 初

講演題目	キラルプロテオミクス実現のための異性化ペプチド分離分析法の開発
------	---------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望	<p>タンパク質中のアスパラギン酸 (Asp) 残基は異性化により立体構造を変化させ、変性したタンパク質が蓄積することで、白内障やアルツハイマー型認知症などの加齢性疾患の原因となることが知られている。このため、タンパク質中の異性化Asp部位や異性化の程度の情報は疾患メカニズムを解明する上で重要な手がかりとなる。しかし、一般的なLC-MS/MSを用いたプロテオミクスでは、タンパク質中の質量の変化を伴わない異性化Asp残基の検出が困難である。</p> <p>本研究では、タンパク質をトリプシン消化したペプチドに含まれるAsp残基側鎖のカルボキシル基に対し、逆相LCによる光学異性体分離を可能とするジアステレオマー誘導体化を行うことで、異性化Asp残基を含むペプチドの新たなLC-MS/MS分析法を開発した。</p> <p>ヒト水晶体構成タンパク質であるα-Crystallinのトリプシン消化ペプチドをモデルとして、異性化Asp残基 (L-α-Asp, L-β-Asp, D-α-Asp, D-β-Asp) を含むペプチドを合成した。これらのペプチドのカルボキシル基に対して、(S)-1-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl) pyrrolidin-3-amineによるカルボキシル基誘導体化を行った。誘導体化反応時にペプチドが分子内縮合体を形成したと考えられる副反応生成物が確認されたため、まずこれらのペプチドのアミノ基を保護し、その後保護したペプチドに対してカルボキシル基誘導体化を行った。</p> <p>誘導体化した4種の異性化Aspを含むペプチド (IPSGVD(L-α/L-β/D-α/D-β)AGHSER) を測定した結果、m/z 469.25 に[M+4H]⁴⁺のイオンピークが検出された。MS/MS解析の結果、誘導体化試薬はペプチドのAsp残基側鎖及びC末端のカルボキシル基に結合していることが確認された。これらの誘導体化ペプチドはAsp残基D-β/L-α/L-β/D-αの順に溶出し、ピーク間の分離度Rsは2.38, 1.86, 1.67と良好な結果を得ることができた。また、これらの誘導体化ペプチドの構造をシュミレーションすることにより、誘導体化によりどのくらい構造変化が起きているかについても検証した。</p>
-----------------	---