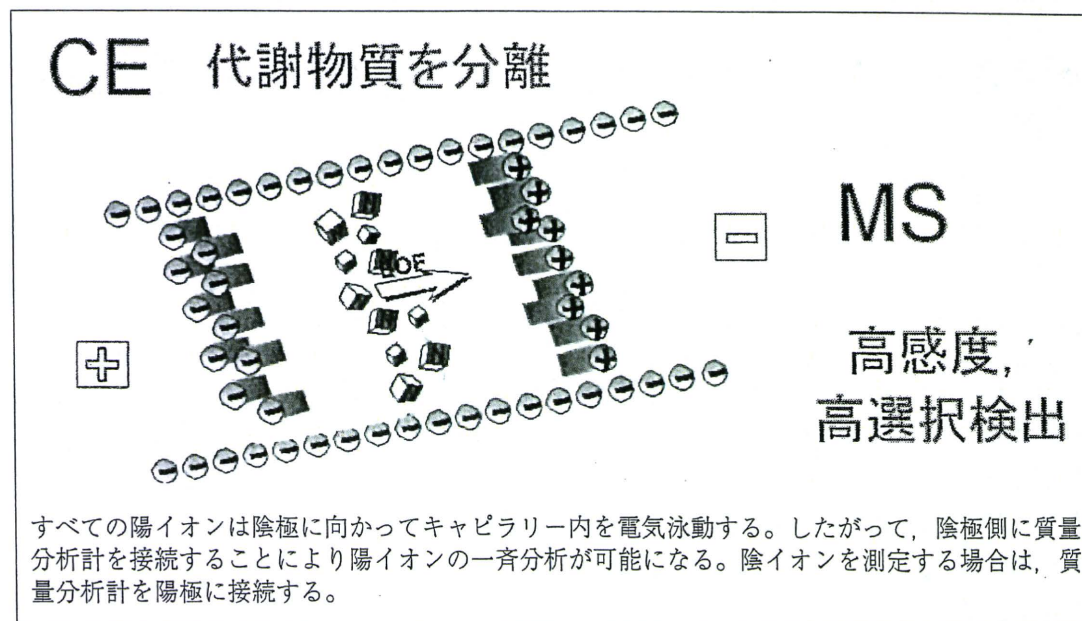


図1 CE-MS によるメタボローム測定法



再溶解し CE-MS に注入する。

3. データ解析

現在、筆者らのグループでは、精密質量の高分解能をもつ飛行時間型質量分析計 (TOFMS) を CE に組み合わせた Agilent 社の CE-TOFMS が主力装置であるが、CE-MS 法は試料間で各物質の泳動時間がずれることがある。筆者らはこの問題を解決するため、CE-TOFMS 解析に特化したソフトウェア (KEIO MasterHANDS) を開発し⁸⁾⁻¹⁰⁾、試料間の泳動時間の自動補正を可能にした。このソフトは慶應メタボロームコンソーシアム (<http://www.iab.keio.ac.jp/metabolome-consortium/>) に参加すればライセンスが可能である。

II. 癌のエネルギー代謝研究

癌細胞が、酸素濃度が十分な条件でも主に解糖系によってエネルギー産生を行う現象はワールブルグ効果¹¹⁾と呼ばれ、この現象は様々な癌種で確認されている。癌が増殖するにはエネルギー (ATP) が不可欠であり、ATP は主に解糖系か酸化的リン酸化反応 (クエン酸回路で生産された NADH を用いて電子伝達系で ATP を生成する反応) によって産生される。しかしながら、血流が少ないところで増殖する大腸や膵臓の癌細胞は、解糖系に必要なグルコース量も酸化的リン酸化反

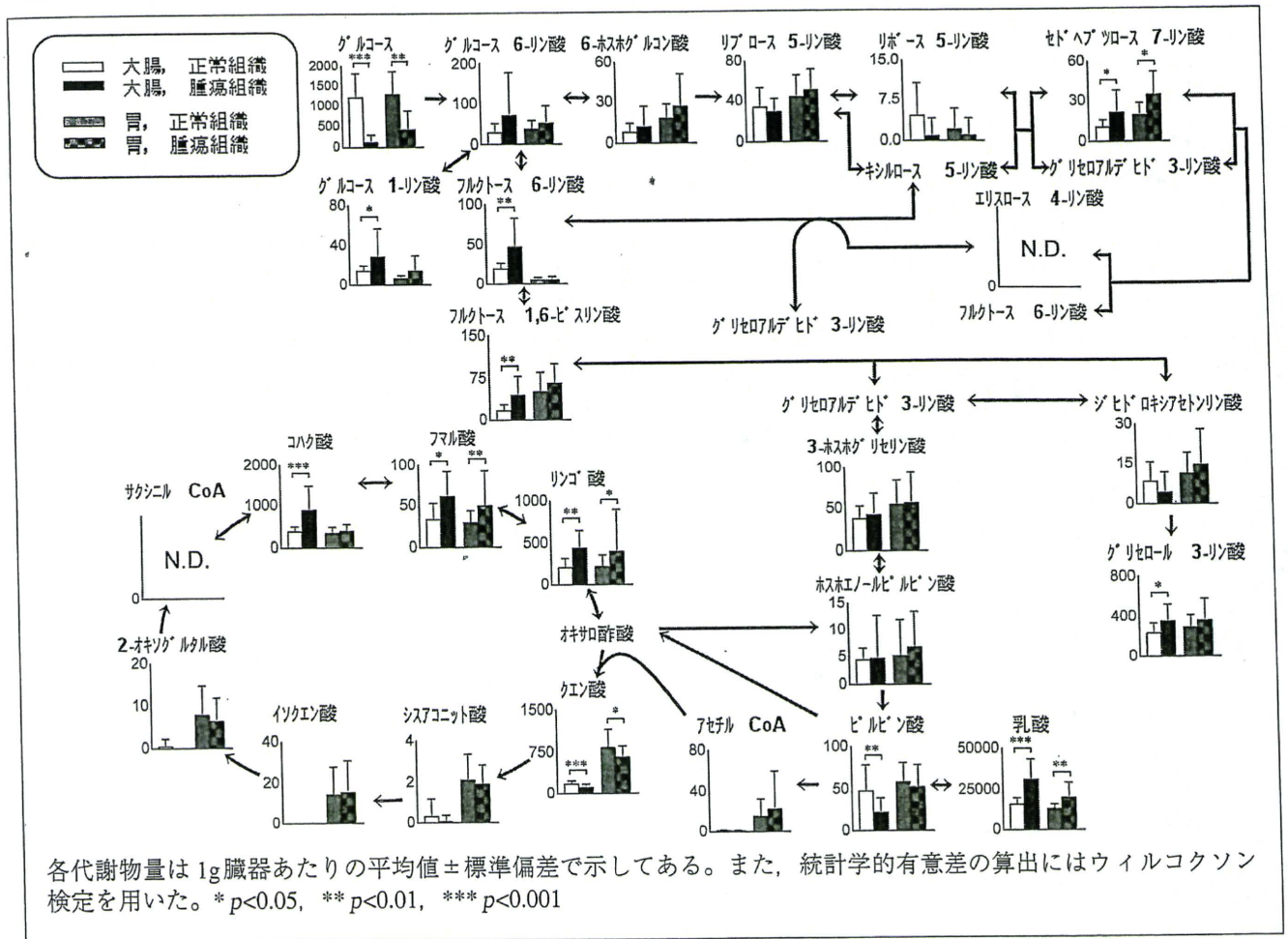
応で必要とされる酸素も不足しており、どのようにして ATP を生産しているか謎である。筆者らは国立がんセンター東病院の江角浩安院長らと共同で、大腸癌および胃癌患者から採取した癌組織および正常組織のメタボローム解析を行い、癌組織のエネルギー産生の機序に迫った。

1. 解糖系、ペントースリン酸回路およびクエン酸回路

CE-TOFMS を用いたメタボローム測定によって、16 名の大腸癌患者と 12 名の胃癌患者の腫瘍組織中から、それぞれ 877 種類、1142 種類の代謝物質由来のピークを得、解糖系、ペントースリン酸回路、クエン酸回路にある代謝物の測定結果をマッピングした (図 2)。腫瘍組織中のグルコース量は、正常組織の量に比べて大腸癌で 1/10、胃癌で 1/3 程度であった。一方で、解糖系の最終産物である乳酸は両腫瘍組織中において有意に高かった。この結果は、Warburg が述べたように、ヒトの癌組織でも解糖系が有意に亢進していることを示唆した。

今回のメタボローム測定によって、クエン酸回路の代謝に興味深い知見が得られた。大腸では正常組織、癌組織ともクエン酸回路前半の代謝物 (クエン酸からサクシニル CoA まで) がほとんど検出されておらず、ATP 量も極めて低かった。大腸の

図2 解糖系, ペントースリン酸回路, クエン酸回路に関与する代謝物の変動 (文献5より改変)



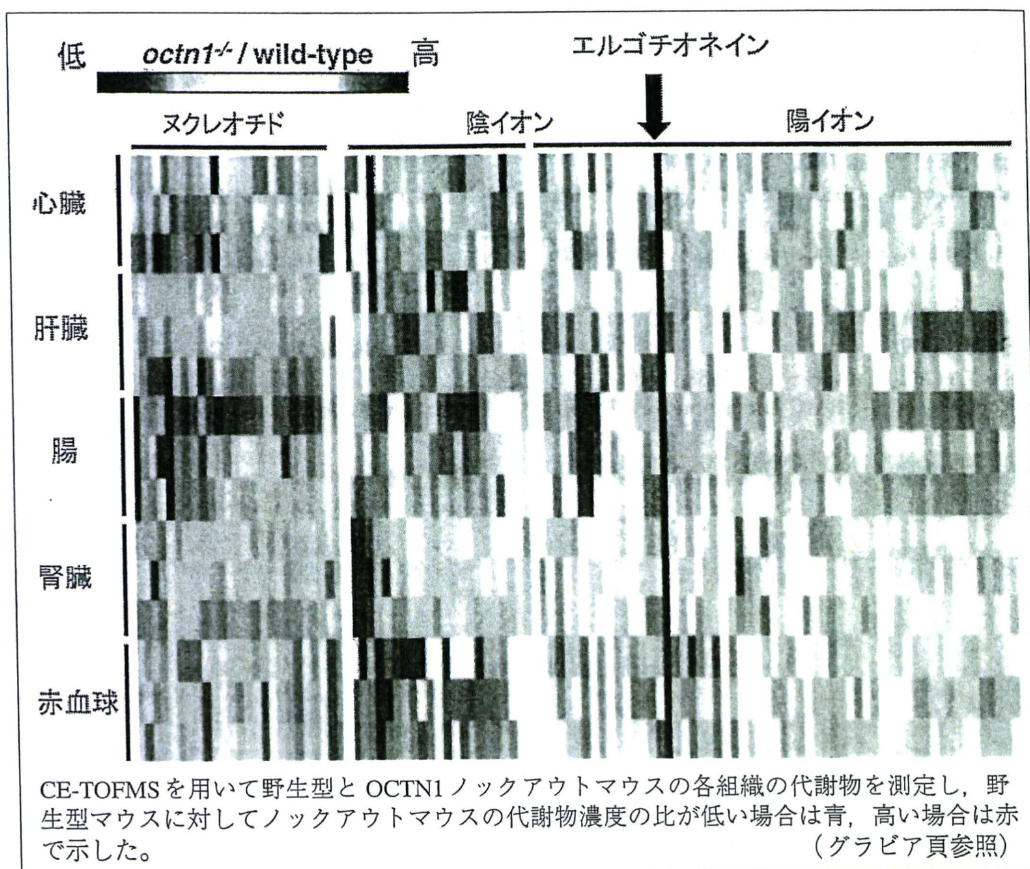
酸素分圧は胃の 1/5 であることから、大腸では酸化的リン酸化反応は行われていない可能性が高い。一方、特に大腸の癌組織でクエン酸回路の後半部分の代謝物 (コハク酸, フマル酸, リンゴ酸) の増加がみられた。微生物, 回虫などの寄生虫は、嫌気的条件下でフマル酸呼吸¹¹⁾によって ATP を産生し、コハク酸が蓄積することが知られている¹²⁾¹³⁾。大腸の癌細胞でもコハク酸が有意に蓄積しており、フマル酸呼吸を示唆する結果であった。江角らは、フマル酸呼吸阻害薬が膵臓癌などの嫌気的な条件下でも増殖が活発な癌細胞を死滅させることも見出しており¹⁴⁾、筆者らは、大腸癌, 膵臓癌など血流が乏しいところでも活発に増殖する癌細胞は、フマル酸呼吸かそれに近い代謝を用いて ATP を生産しているのではないかと考えている。

III. トランスポーターの機能解明

分子クローニングによって哺乳類の多くの重要

なトランスポーターの分子実体が明らかにされてきたが、いまだに多くの機能未同定のトランスポーター遺伝子が存在する¹⁵⁾。筆者らは金沢大学大学院自然科学研究科の辻彰教授のグループと共同で、両性イオントランスポーターである OCTN1¹⁶⁾¹⁷⁾の機能解明を行った。野生型マウスの組織には存在するが、OCTN1 ノックアウトマウスの組織に存在しない代謝物は、OCTN1 の基質である可能性が高い。またノックアウトマウスの組織のみに代謝物が存在しない場合は、その組織に OCTN1 が発現しているはずである。そこで野生型マウスと OCTN1 ノックアウトマウスの心臓, 肝臓, 腸, 腎臓, 赤血球中の代謝物を CE-TOFMS によって測定したところ、ノックアウトマウスではすべての組織でエルゴチオネインという抗酸化物質が検出されなかった (図3)。一方、野生型マウスではすべての組織からエルゴチオネインが検出された。さらに全部で 15 の組織・血液について解析したところ、

図3 野生型マウスと OCTN1 ノックアウトマウスの各組織の代謝物濃度の比較 (文献 16 より改変)



OCTN1 ノックアウトマウスでは、これらのすべての組織でエルゴチオネインは検出されなかった。この結果から、OCTN1 は生体のほとんどの組織に発現しており、エルゴチオネインが基質であると推定された¹⁶⁾。

トランスポーターノックアウトマウスとメタボローム解析技術の組み合わせは、オーファントランスポーターの機能を探索する新手法として、今後のトランスポーター研究に大きく貢献するはずである。なお本研究の詳細に関しては、本誌の金沢大学大学院の加藤将夫教授らの稿 (77~82 頁) を参照されたい。

おわりに

本稿では、CE-MS を用いたメタボローム測定法の概要と、本法を癌組織の代謝研究およびトランスポーターの機能解明に応用した例を紹介した。メタボローム解析は生まれたばかりの新しい新手法であるが、各種疾病の機序の解明、早期診断マーカーや副作用マーカーの発見、創薬標的の探索など幅広い医薬分野にすでに大きな波及効果を与えつつある。メタボロミクスがこの分野のさらなる発展に貢献することを期待したい。

用語解説

1. **フマル酸呼吸**: 嫌気呼吸の一種。呼吸鎖複合体 II において電子受容体としてフマル酸を用い、共役する呼吸鎖複合体 I のプロトンポンプ機構を駆動して ATP 産生を行う。この時に生成される副産物がコハク酸である。フマル酸呼吸は微生物や回虫などの寄生虫で見つかっている。
2. **OCTN1 (organic cation transporter 1)**: 両性イオンを輸送する有機カチオントランスポーターファミリーの 1 つ。クローン病 (口腔から肛門までの全消化管全域に非連続の炎症および潰瘍を起こす非特異性炎症疾患) の発症リスクに OCTN1 の遺伝子多型が関与していることが報告されているが、まだ不明である。

参考文献

- 1) Soga T, Ohashi Y, et al : J Proteome Res 2, 488-494, 2003.
- 2) Ishii N, Nakahigashi K, et al : Science 316, 593-597, 2007.
- 3) Sato S, Soga T, et al : Plant J 40, 151-163, 2004.
- 4) Soga T, Baran R, et al : J Biol Chem 281, 16768-16776, 2006.
- 5) Hirayama A, Kami K, et al : Cancer Res 69, 4918-4925, 2009.
- 6) Minami Y, Kasukawa T, et al : Proc Natl Acad Sci USA 106, 9890-9895, 2009.
- 7) Kato Y, Kubo Y, et al : Pharm Res 58, 62-68, 2010.
- 8) Baran R, Kochi H, et al : BMC Bioinformatics 7, 530, 2006.
- 9) Baran R, Robert M, et al : BMC Bioinformatics 8, 72, 2007.
- 10) Sugimoto M, Hirayama A, et al : Metabolomics 6, 78-95, 2010.
- 11) Warburg O : Science 123, 309-314, 1956.
- 12) Kita K, Hirawake H, et al : Biochim Biophys Acta 1553, 123-139, 2002.
- 13) Ullmann R, Gross R, et al : J Bacteriol 182, 5757-5764, 2000.
- 14) Esumi H, Lu J, et al : Cancer Sci 95, 685-690, 2004.
- 15) 金井好克, 平田 拓 : 実験医学 26, 18-23, 2008.
- 16) Kato Y, Kubo Y, et al : Pharm Res, 27, 832-840, 2010.

参考ホームページ

- ・メタボローム研究グループ
<http://metabolome.iab.keio.ac.jp/>

曾我朋義

- 1984年 慶應義塾大学工学部応用化学科卒業
 横河電機株式会社
- 1992年 横河アナリティカルシステムズ株式会社
- 2000年 工学博士 (豊橋技術科学大学)
- 2001年 慶應義塾大学環境情報学部および先端生命科学研究所助教授
- 2003年 ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社取締役
- 2005年 理化学研究所植物科学研究センター客員主管研究員
- 2006年 慶應義塾大学環境情報学部および先端生命科学研究所教授
- 2008年 慶應義塾大学医学部教授 (兼担)

CE-MS メタボロミクスの最新動向

キャピラリー電気泳動-質量分析計 (CE-MS) を用いたメタボローム測定法は、細胞や組織中に存在する数千種類のイオン性代謝物の一斉分析を可能にした。本法は、生命科学の基礎研究のみならず、医薬、食糧、環境、エネルギーなど人類が直面している問題に有効な解決策をもたらすのではないかと期待されている。本稿では、最新の CE-MS によるメタボローム測定法とその応用例について概説したい。

曾我朋義

1 はじめに

メタボロミクスは、細胞内の代謝産物を網羅的に探索することにより、細胞の動的な振る舞いを理解しようとする方法論である。メタボロミクスは、新規代謝経路や代謝調節機構の解明に威力を発揮するばかりでなく、これまで未知であった遺伝子やタンパク質の機能解明や生体内の分子間ネットワークの理解にも有用な情報を提供する。さらに近年は、医薬分野における各種のがんや疾病の機序の解明、病態の診断、各種バイオマーカーの探索、高温、乾燥、病害などのストレスに強い農作物の開発、食品中の機能性成分の探索、微生物や植物を利用したバイオ燃料の開発など幅広い産業分野にもメタボローム解析が用いられている。

ほとんどの生物が有する解糖系、クエン酸回路、ペントースリン酸回路に代表されるエネルギー代謝やアミノ酸、核酸合成経路などの中間代謝物の多くは、リン酸基、カルボキシル基、アミノ基等を持つ分子量 1000 以下のイオン性物質であり、UV 吸収がない、不揮発性などの特徴を有す。さらに、物理的・化学的性質が類似する異性体から、性質が全く異なる化合物が混在する。生体内にはこのような性質の代謝物が数百種類から数万種類存在するため、すべての代謝物を一斉分析することは極めて困難である。

これまでに、GC/MS¹⁾、LC-MS²⁾³⁾、フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析 (FT-ICR/MS)⁴⁾、NMR⁵⁾ などを用いるメタボローム測定法が開発された。しかし、いまだに決定的なメタボローム測定法は確立されていない。

GC/MS 法は高感度、高分離が可能であるが、細胞内の代謝物の多くがイオン性であり、代謝物を気化するための誘導体化反応が必要である。しかし誘導体化できない代謝物や誘導体化されても GC/MS では測定できな

い代謝物も多い。

LC-MS 法は脂質など疎水性の代謝物の測定に適した方法である。しかし、イオン性代謝物の多くは、LC-MS で一般に用いられる逆相系のカラムでは保持されず、測定することが困難である。最近 HILIC カラムなどの親水性相互作用クロマトグラフィーを用いて、代謝物を測定する方法も開発されているが、LC-MS や FT-ICR/MS は、イオンサプレッションを受けやすいため、定量性の問題を考慮する必要がある。

NMR 法は、簡便な測定法であるが、質量分析計を用いた他の測定法に比べて感度が乏しく、検出される代謝物に限りがある。

筆者らは代謝物のほとんどがイオン性であることに着目し、イオン性物質に対して高分離能を示すキャピラリー電気泳動 (CE) と高い選択性と感度を提供する質量分析装置 (MS) を組み合わせた CE-MS 法を用いたメタボローム測定法を世界に先駆けて開発し、数千種類の代謝物の一斉分析を可能にした⁶⁾。

これまでに本法を、微生物^{6)~8)}、植物⁹⁾、動物^{10)~12)} など細胞、組織のメタボローム測定に応用し、新規知見を報告してきた。

本稿では、キャピラリー電気泳動-質量分析計 (CE-MS) 法⁶⁾¹⁰⁾ によるメタボローム測定法の特徴と本法の生命科学への応用例を紹介し、最後にメタボロミクスの課題と方向性について展望する。

2 CE-MS によるメタボローム測定法

2.1 CE-MS 法

前述のように中心代謝経路に存在する代謝中間体は、ほとんどがイオン性物質である。CE-MS に注入された試料中の代謝物は、電気泳動によりキャピラリー内で分離後、質量分析計 (MS) で検出される。図 1 に示すようにすべての陽イオン性物質は陰極方向に、また陰イオンは陽極方向に移動する。各物質の移動速度はその物質の (電荷/水和イオン半径) の比に基づくため、この比

CE 高分離

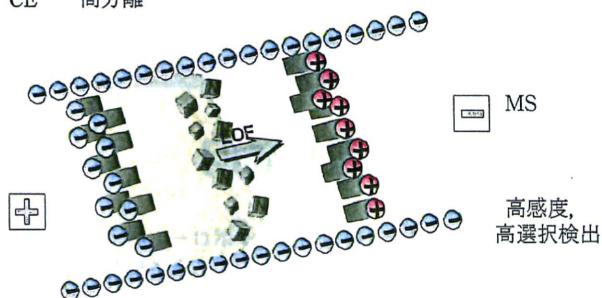


図1 CE-MSによるメタボローム測定法

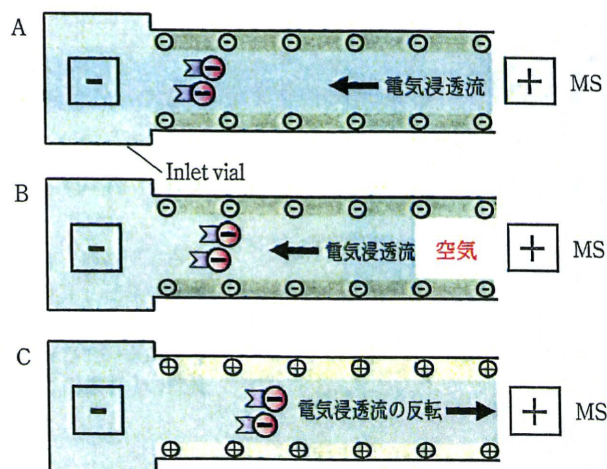
率が異なる物質はキャピラリー内で分離され、キャピラリーの出口に接続した質量分析計で、各成分の固有の質量に基づき選択的に検出される。CE-MS法の利点は、二種類の測定条件で、ほとんどのイオン性物質を直接定量分析できること¹⁰⁾、イオンサプレッションの影響を受けず定量性が高いことである¹³⁾。

2.2 陽イオン代謝物の測定法

陽イオンは、陰極方向に電気泳動するため、陽イオン性代謝物質を測定する場合は、キャピラリーの出口が陰極となるように電圧を印加する(図1)。泳動緩衝液には、1Mのギ酸(pH2以下)を使用した¹⁴⁾。この条件ではpHが低いため、カルボキシル基、リン酸基などの解離は抑制され、一方アミノ基は完全解離する。したがって、アミノ基を持つ多くの代謝物が陽イオンとなり、陰極方向に電気泳動する。陰極に接続した質量分析計での検出は、各化合物の質量数にプロトンが付加したプロトン化分子 $[M+H]^+$ で行った¹⁴⁾。本法を用いることにより、各陽イオンを一斉にかつ選択的に測定することが可能になった⁹⁾。現在までに一つの分析条件で、717種類の陽イオン性代謝標準物質の測定が確認されている。

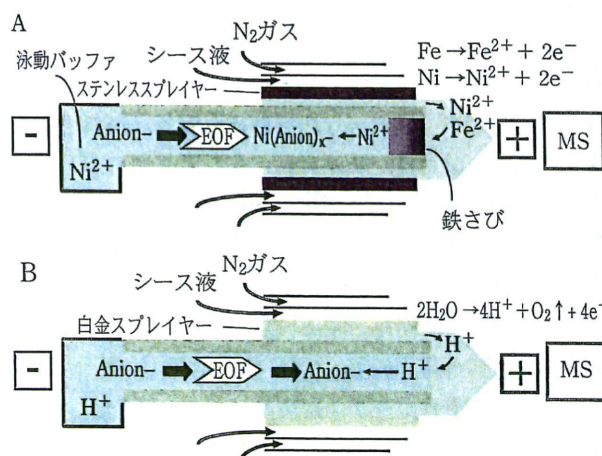
2.3 陰イオン代謝物の測定法

解糖系、TCA回路、ペントースリン酸回路などエネルギー代謝経路に存在する代謝中間体はすべて陰イオン性化合物である。しかし、通常のフューズドシリカキャピラリーを使用したCE-MS陰イオン測定システム(図2A)では、試料を注入後、数分で電流が流れなくなる問題が発生する¹⁵⁾。理由は、このシステムでは電圧を印加した際に、電気浸透流¹⁶⁾と呼ばれる液流が陽極(MS側)から陰極(キャピラリーの入口側)に発生し、この液流によってキャピラリーの出口側に空気が入り、電流が落ちるからである¹⁵⁾(図2B)。この問題を解決するため、塩基性物質をキャピラリー表面にコーティングしたCOSMO¹⁷⁾やSMILE(+)¹⁸⁾などのキャピラリー(いずれもNacalai Tesque)を用いて、電気浸透流を陰極から陽極に反転する方法を考案した¹⁵⁾



A: 内表面が陰イオン性のフューズドシリカキャピラリーでは電気浸透流が陰極(入口)方向に発生。B: キャピラリーの出口に空気が入り、数分で電流が流れなくなる。C: 内表面が陽イオン性ポリマーのキャピラリーを用いることで電気浸透流が反転し、陰イオンが測定可能に。

図2 CE-MSによる陰イオンの測定法



A: ステンレス製スプレーヤーは電気分解によって金属イオンが溶出し、キャピラリー内を陰極方向に電気泳動する。Fe²⁺はキャピラリー出口で鉄さびとして析出、Ni²⁺は陰イオンと錯体を形成し、陰イオンの感度の低下を招く。B: 白金製スプレーヤーは水が電気分解するため、上記の現象は起きず、高感度で安定した陰イオンの測定が可能になった。

図3 陰イオン測定におけるCE-MS用スプレーヤーの材質の影響

(図2C)。

しかし、この陰イオン測定法では、図3Aに示すように、ステンレス製などの材質のスプレーヤーを用いると電気分解によってスプレーヤーから金属イオンが溶出し、短時間でスプレーヤーが腐食した。また溶出した鉄やニッケルなどの金属イオンがキャピラリー内を電気泳動によって陰極方向に逆流することも判明した¹⁷⁾。また、鉄イオンはキャピラリーの出口側に鉄さびとなって析出し、数回から十数回の分析でキャピラリーが詰まった。さらに、逆流する鉄やニッケルイオンは、電気泳動中の有機酸やリン酸化合物などと金属錯体

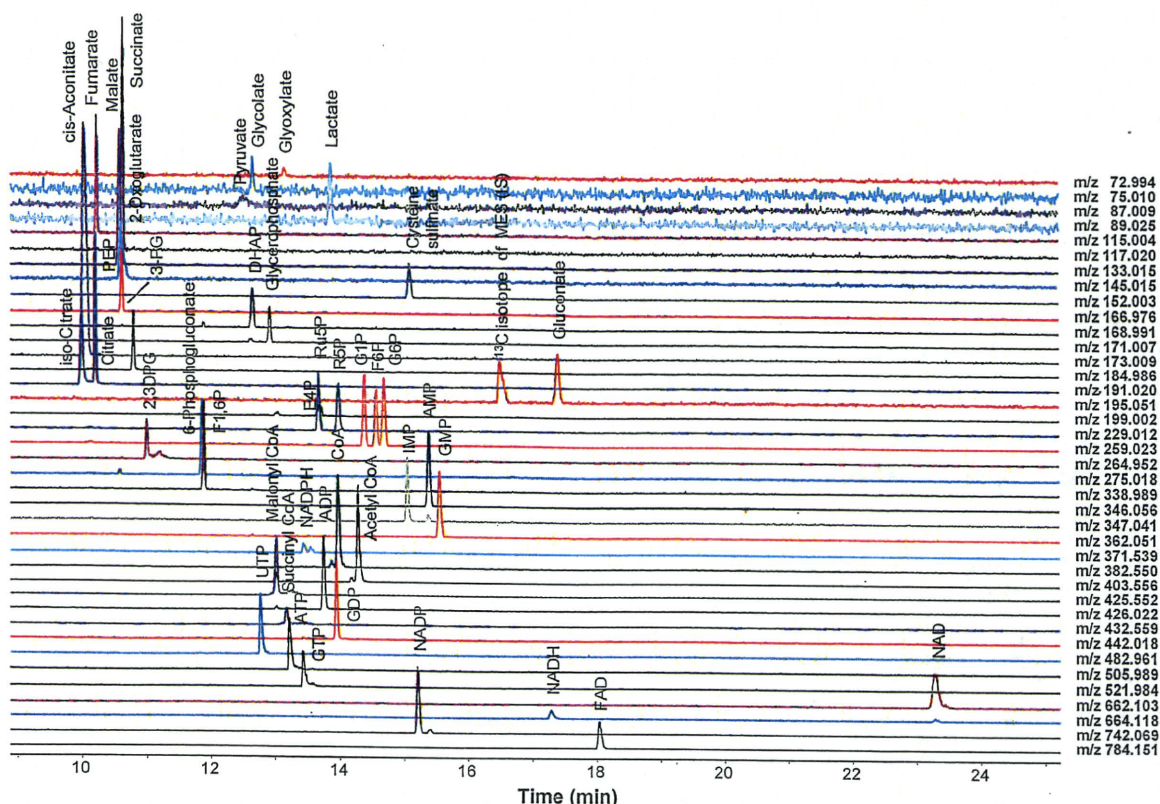


図4 CE-TOFMSによる陰イオン性代謝物の測定例

を形成し、これらの陰イオン性化合物の感度が著しく低下した¹⁷⁾ (図3A)。

電気分解による金属イオンの溶出を抑制するため、筆者らは、水よりイオン化傾向の小さい白金製のスプレイヤーを製造し、使用することによって (この場合は水の電気分解が発生)、この問題を解決し (図3B)、数倍から数十倍の高感度化と安定した陰イオン性化合物の測定を可能にした¹⁷⁾ (図4)。本法では、519種類の陰イオン性代謝標準物質の一斉分析が確認されている。

なお、電気分解で溶出した金属イオンがキャピラリー内を入口方向に電気泳動する現象に関しては、高周波誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS)、金属イオンと陰イオン性代謝物との錯体形成に関しては、CE-TOFMSで確認済である¹⁷⁾。

2.4 試料の前処理

細胞内の代謝物量を正確に定量するためには代謝を瞬時に止めることが不可欠である。また前処理によってCE-MS測定に悪影響を与えるタンパク質や脂質などの夾雑物を除去することが重要であり、筆者らは生体組織に関しては、以下のような前処理を行っている。採取された組織は瞬時に液体窒素で凍結後、メタノール溶液中に浸漬し、ジルコニアなどの金属酸化物ビーズを用いた細胞破碎機で処理する。この操作によって酵素は失活し、代謝の亢進が止まる。次いで、メタノール、クロロホルム、水の液々分配を行い、水相を分画分子量5000

の限外濾過フィルターによって除タンパク後、濾液を減圧乾固する。測定前に Milli-Q 水で再溶解し、CE-MSに注入する。

2.5 データ解析

筆者らのグループでは、精密質量の高分解能を持つ飛行時間型質量分析計 (TOFMS) を CE に組み合わせた CE-TOFMS¹⁰⁾ がメタボローム測定の主力装置である。しかし CE-MS 法は、試料間で各物質の泳動時間がずれることがある¹⁰⁾。この問題を解決するため、CE-TOFMS 解析に特化したソフトウェア KEIO MasterHANDS を独自に開発し^{10) 19)~21)}、試料間の泳動時間の自動補正を可能にした。KEIO MasterHANDS は得られたピークを積分後、ピークの同定、定量を自動で²²⁾ 行うことも可能であり、メタボロームデータの解析時間を飛躍的に短縮した。このソフトは慶應メタボロームコンソーシアム (<http://www.iab.keio.ac.jp/metabolome-consortium/>) に加入すればライセンスを受けることができる。

3 生命科学への応用

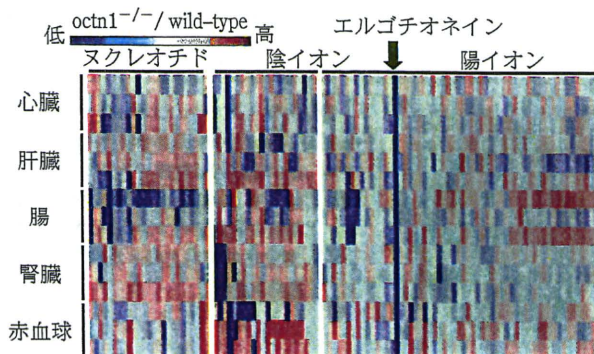
筆者が所属する慶應義塾大学先端生命科学研究所では、医療、環境・エネルギー、食糧問題に最新のメタボローム解析を応用し、これらの問題の解決に取り組んでいる。本稿では、CE-MSメタボロミクスを医薬分野の研究に応用した例について紹介する。

3.2 トランスポーターの機能解明

トランスポーターは、低分子化合物の細胞膜の通過を可能にする膜タンパク質である。創薬研究においては、トランスポーターの輸送メカニズムを制御することにより、薬効部位・副作用発現部位への薬物デリバリーの増大・軽減を可能にして理想的な動態特性をもつ薬の開発が行われている。この研究開発には、細胞内に存在する各種のトランスポーターの機能解析は不可欠である。これまで、分子クローニングによって哺乳類の重要なトランスポーターの分子実体が明らかにされてきたが、いまだに多くの機能未同定のトランスポーター遺伝子が存在する。

最近筆者らは、金沢大学大学院自然科学研究科の辻彰教授のグループと共同で、メタボローム解析を用いて、両性イオントランスポーターである OCTN1 の基質（被輸送物）や発現組織を探索したので紹介したい²⁵⁾。

野生型マウスの組織には存在するが、OCTN1 ノックアウトマウスの組織に存在しない代謝物は、OCTN1 の基質である可能性が高い。またノックアウトマウスの組織のみに代謝物が存在しない場合は、その組織に OCTN1 が発現しているはずである。そこで野生型マウスと OCTN1 ノックアウトマウスの心臓、肝臓、腸、腎臓、赤血球中の代謝物を CE-TOFMS によって網羅的に測定したところ、図 6 に示したように、ノックアウトマウスではすべての組織でエルゴチオネインという抗酸化物質が検出されないことが判明した²⁵⁾。一方、野生型マウスではすべての組織からエルゴチオネインが検出された。さらに全部で 15 の組織、血液についてエルゴチオネイン量を測定したところ、OCTN1 ノックアウトマウスでは、すべての組織でエルゴチオネインは検出されなかった。これらの結果から、OCTN1 は生体のほ



野生型マウスと OCTN1 ノックアウトマウスの各組織 ($n=3$) をメタボローム測定し、野生型に対する OCTN1 ノックアウトマウスの代謝物の濃度比を色で示した。各代謝物は、スクレオチド、陰イオン性、陽イオン性の順に左から並べた。OCTN1 ノックアウトマウスの濃度比が高い代謝物は赤、低い代謝物は青で示した。エルゴチオネインは OCTN1 ノックアウトマウスすべての組織で検出されなかった。

図 6 野生型マウスと OCTN1 ノックアウトマウスの各組織中の代謝物質量の比較

とんどの組織に発現しており、エルゴチオネインを基質としていることが判明した²⁵⁾。

トランスポーターノックアウトマウスとメタボローム解析技術の組み合わせは、機能未知トランスポーターの役割を迅速かつ簡便に解明する新手法として、今後のトランスポーター研究の進展に貢献すると思われる。

4 メタボロミクスの課題と展望

前述のようにメタボロミクスは、破壊力のある生命科学の新規手法であるが、いまだに細胞内のすべての代謝物の一斉分析を可能にする方法論は開発されていない。また現在は、 10^5 から 10^6 個の細胞を測定に用いており、1 細胞測定には、さらに 10^5 倍以上の高感度化など、メタボローム解析を完全に行うためには、さらなる技術革新が必要不可欠であり、今後の分析化学の進展に期待したい。

また、メタボローム解析では、得られた代謝物のうち同定できる成分が 20~30% 程度しかないことも大きな問題である。代謝物が特定できない大きな理由は、代謝物の標準化合物が大幅に欠如していることである。例えば KEGG の LIGAND データベース²⁶⁾には、1 万種類以上の代謝物が登録されているが、標準試薬が入手できる代謝物は、2500 種類弱しかない。したがって、メタボローム解析で極めて有望な化合物（例えば、ある疾患特異的なバイオマーカー候補）を発見しても、同定できないことが頻繁に起こる。逆に標準試薬が揃っていれば、一つの機関で各疾患のバイオマーカーの特許を独占することも可能である。

筆者らのグループは、市販されていない代謝物の標準試薬を地道に化学合成している。しかし、8000 種類以上の化合物を化学合成しなければならず、気の遠くなるような時間と労力が必要である。そこで、国家プロジェクトを立ち上げて標準化合物を早急に整備することを強く求めたい。代謝標準物質が揃えば、研究成果から医薬などの産業が飛躍的に発展するばかりでなく、メタボロミクスで日本が世界を凌駕することが可能である。

一方、ヒトの各組織に存在する代謝物は 3000 種類程度と言われており、他のオミクスに比較して、メタボロミクスは、解析対象となる物質数が圧倒的に少ない。また、多くの生物種について主要な代謝経路はすでに明らかになっており、得られたデータの解釈がしやすいなどメタボロミクスには他のオミクスにない利点がある。

さらに、メタボロームは、ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム情報の最終産物（表現型）であり、ほとんどのオミクスの動的な振る舞いは、関与する代謝経路や代謝物の変動として現れるはずである。したがって、メタボロミクスは、細胞や生体の活動や異常を理解するための重要かつ簡便な方法論として、生命科学の基礎研究のみならず医薬、化学、農学、食

品、環境、エネルギーなど様々な産業分野でも今後ますます広がるであろう。

5 おわりに

CE-MS を用いたメタボローム測定法の概要とその応用例を紹介した。CE-TOFMS 法は細胞内の代謝物に限らず、イオン性物質であれば、二種類の分析条件で数千種類の物質を一度に測定できる分離分析手法である。理論段数は数万段から数十万段であり、極めて高い分離性能を持つ。また CE で対象成分が分離できなくても、質量がミリマス（小数点以下3桁^{はた}の質量）の違いがあれば MS で区別することが可能である。検出下限は、10~100 nM であり、LC-MS で問題となるイオンサプレッションもほとんど起きない極めて汎用的かつ定量的な分析手法である。

筆者らは、この方法論をこれまで様々な生物種の組織、細胞に応用し、興味深い知見を得ることができた。一方、CE-MS では試料間で時間のずれが生じるなどの問題、試料から得られた膨大な数のピークを正確に積分し、定性、定量を行う問題など、オミクスならではの困難に直面した。これらの問題を解決するためには、測定技術の進展や IT 技術の開発が不可欠であった。CE-MS メタボローム解析技術を開発し、それを実試料に応用する上で、科学技術が発展するためには、高い目標設定と直面した問題を乗り越えるための強い意志と絶えまぬ努力が必要なことを改めて感じた次第である。

文 献

- 1) O. Fiehn, J. Kopka, R. N. Trethewey, L. Willmitzer : *Anal. Chem.*, **72**, 3573 (2000).
- 2) R. Plumb, J. Granger, C. Stumpf, I. D. Wilson, J. A. Evans, E. M. Lenz : *Analyst*, **128**, 819 (2003).
- 3) H. Yoshida, T. Mizukoshi, K. Hirayama, H. Miyano : *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 551 (2007).
- 4) A. Aharoni, C. H. Ric de Vos, H. A. Verhoeven, C. A. Maliepaard, G. Kruppa, R. Bino, D. B. Goodenowe : *Omic*, **6**, 217 (2002).
- 5) N. V. Reo : *Drug Chem Toxicol*, **25**, 375 (2002).
- 6) T. Soga, Y. Ohashi, Y. Ueno, H. Naraoka, M. Tomita, T. Nishioka : *J. Proteome Res.*, **2**, 488 (2003).
- 7) N. Ishii, K. Nakahigashi, T. Baba, M. Robert, T. Soga, A. Kanai, T. Hirasawa, M. Naba, K. Hirai, A. Hoque, P. Y. Ho, Y. Kakazu, K. Sugawara, S. Igarashi, S. Harada, T. Masuda, N. Sugiyama, T. Togashi, M. Hasegawa, Y. Takai, K. Yugi, K. Arakawa, N. Iwata, Y. Toya, Y. Nakayama, T. Nishioka, K. Shimizu, H. Mori, M. Tomita : *Science*, **316**, 593 (2007).
- 8) Y. Ohashi, A. Hirayama, T. Ishikawa, S. Nakamura, K. Shimizu, Y. Ueno, M. Tomita, T. Soga : *Mol. Biosyst.*, **4**, 135 (2008).
- 9) S. Sato, T. Soga, T. Nishioka, M. Tomita : *Plant J.*, **40**, 151 (2004).
- 10) T. Soga, R. Baran, M. Suematsu, Y. Ueno, S. Ikeda, T. Sakurakawa, Y. Kakazu, T. Ishikawa, M. Robert, T. Nishioka, M. Tomita : *J. Biol. Chem.*, **281**, 16768 (2006).
- 11) A. Hirayama, K. Kami, M. Sugimoto, M. Sugawara, N. Toki, H. Onozuka, T. Kinoshita, N. Saito, A. Ochiai, M. Tomita, H. Esumi, T. Soga : *Cancer Res.*, **69**, 4918 (2009).
- 12) Y. Minami, T. Kasukawa, Y. Kakazu, M. Iigo, M. Sugimoto, S. Ikeda, A. Yasui, G. T. van der Horst, T. Soga, H. R. Ueda : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 9890 (2009).
- 13) T. Soga, T. Ishikawa, S. Igarashi, K. Sugawara, Y. Kakazu, M. Tomita : *J. Chromatogr. A*, **1159**, 125 (2007).
- 14) T. Soga, D. N. Heiger : *Anal. Chem.*, **72**, 1236 (2000).
- 15) T. Soga, Y. Ueno, H. Naraoka, Y. Ohashi, M. Tomita, T. Nishioka : *Anal. Chem.*, **74**, 2233 (2002).
- 16) K. D. Lukacs, J. W. Jorgenson : *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, **8**, 407 (1985).
- 17) T. Soga, K. Igarashi, C. Ito, K. Mizobuchi, H. P. Zimmermann, M. Tomita : *Anal. Chem.*, (2009).
- 18) H. Katayama, Y. Ishihama, N. Asakawa : *Anal. Chem.*, **70**, 5272 (1998).
- 19) R. Baran, H. Kochi, N. Saito, M. Suematsu, T. Soga, T. Nishioka, M. Robert, M. Tomita : *BMC Bioinformatics*, **7**, 530 (2006).
- 20) R. Baran, M. Robert, M. Suematsu, T. Soga, M. Tomita : *BMC Bioinformatics*, **8**, 72 (2007).
- 21) M. Sugimoto, D. T. Wong, A. Hirayama, T. Soga, M. Tomita : *Metabolomics*, **6**, 78 (2010).
- 22) O. Warburg : *Science*, **123**, 309 (1956).
- 23) K. Kita, H. Hirawake, H. Miyadera, H. Amino, S. Takeo : *Biochim Biophys Acta*, **1553**, 123 (2002).
- 24) H. Esumi, J. Lu, Y. Kurashima, T. Hanaoka : *Cancer Sci.*, **95**, 685 (2004).
- 25) Y. Kato, Y. Kubo, D. Iwata, S. Kato, T. Sudo, T. Sugiura, T. Kagaya, T. Wakayama, A. Hirayama, M. Sugimoto, K. Sugihara, S. Kaneko, T. Soga, M. Asano, M. Tomita, T. Matsui, M. Wada, A. Tsuji : *Pharm. Res.*, **27**, 832 (2010).
- 26) S. Goto, Y. Okuno, M. Hattori, T. Nishioka, M. Kanehisa : *Nucleic Acids Res.*, **30**, 402 (2002).



曾我朋義 (Tomoyoshi SOGA)
慶應義塾大学先端生命科学研究所 (〒997-0052 山形県鶴岡市覚岸寺水上 246-2)。
慶應義塾大学工学部応用化学科卒。工学博士。
《現在の研究テーマ》CE-MS メタボローム測定法の開発と様々な研究への展開。
《趣味》釣り。