

2018年4月5日

報道関係各位

慶應義塾大学先端生命科学研究所

高感度メタボローム解析の開発
～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）の平山明由特任講師、曾我朋義教授らの研究グループは、シーストレス CE-MS による高感度メタボローム測定法を新開発しました。

慶大先端生命研が世界に先駆けて開発したキャピラリー電気泳動－質量分析法（CE-MS）によるメタボローム解析法は、細胞内に数千種類存在するイオン性代謝物質を一斉分析できる強力なバイオテクノロジーであり、医薬、化学、食品、農業、環境、エネルギーなどの基礎から応用に至るまで幅広く展開されています。

今回、慶大先端生命研では、CE-MS 用の新規インターフェイスを開発し、これを従来のインターフェイスと置きかえることによって、陽イオン性代謝物の測定感度を最大 13 倍、平均すると約 4.4 倍向上させることに成功しました。

この研究は、日本医療研究開発機構（以下 AMED）の革新的先端研究開発支援事業 AMED-CREST「疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療基盤技術の創出（清水孝雄 研究開発総括）」および山形県と鶴岡市の支援によるものであり、この研究成果は 2018 年 3 月 25 日、Electrophoresis 電子版に掲載されました。

1. 研究の背景

慶大先端生命研では、これまでキャピラリー電気泳動-質量分析法（CE-MS）を用いた生体内のイオン性代謝物の一斉分析法を開発し、医療、環境、農業、食品をはじめ、様々な分野に応用してきました。

通常の CE-MS においては、測定対象化合物を含んだ泳動液はスプレーの先端にてシーズ液と呼ばれる液体と混合された後にイオン化され、質量分析装置に送られます。シーズ液の中にはメタノール等の有機溶媒が含まれており、これによってイオン化が促進されると共に、電気分解によって生じる酸素や水素等のガスを効率的に除去することにより安定的な連続分析が可能となっています。

一方で、シーズ液の流量は泳動液の流量と比べると圧倒的に（約 200 倍）多いため、スプレー先端においてサンプルの希釈がおこり、感度低下の原因となっていました（図 1）。

シーズフロー-CE-MSにおけるサンプル希釈の問題点

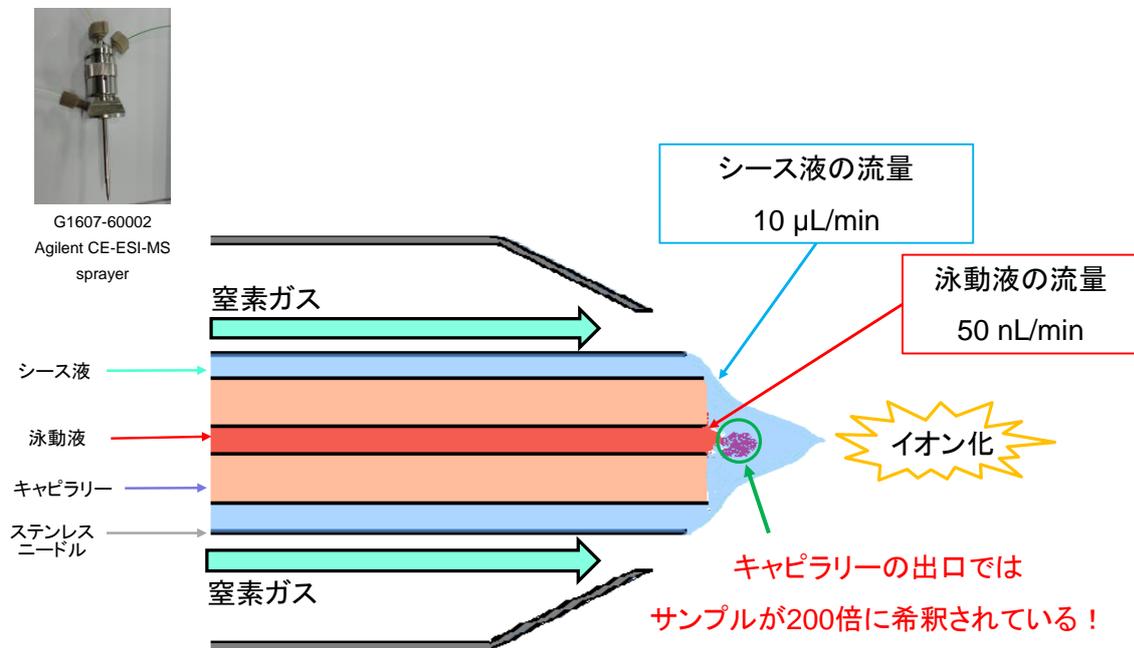


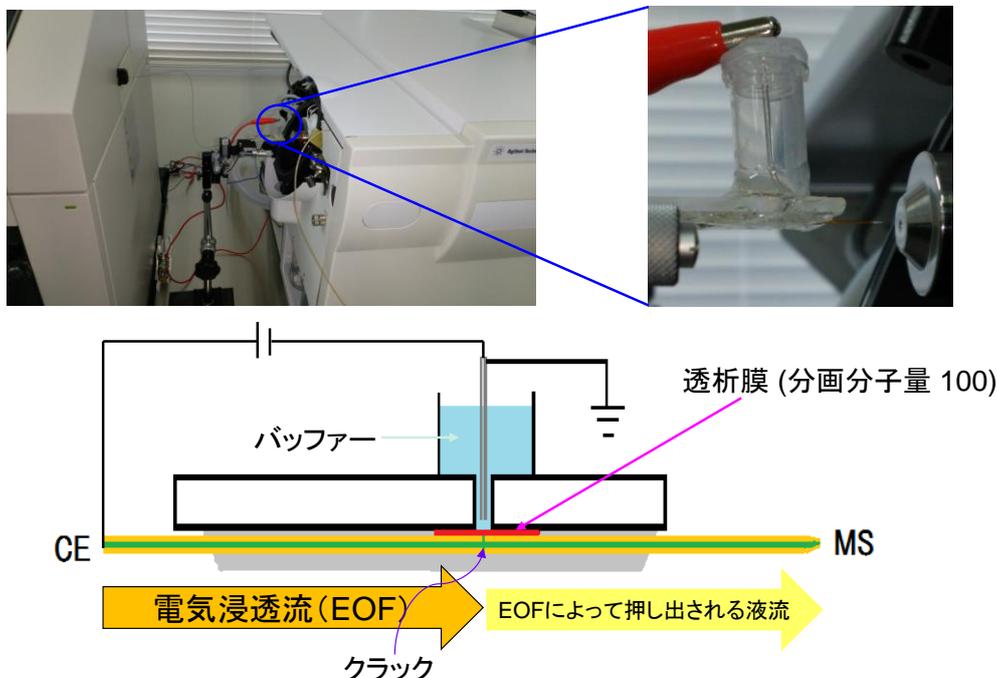
図 1 従来法におけるサンプル希釈の問題点

そこで研究グループは、シーズ液を用いない CE-MS（シーズレス CE-MS）を新規に開発し、メタボローム解析の高感度化を検討しました。

2. 発明の内容

今回、研究グループは、新規シーレス CE-MS インターフェイスを開発し、特許を出願しました（図 2）（特願 2015-075494、PCT/JP2016/058131）。

シーレスCE-MS用新規インターフェイスの作成



特願 2015-75494、PCT/JP2016/058131

図 2 今回作成したシーレス CE-MS 用インターフェイスの概略図

[インターフェイスの概要]

分析用キャピラリーの出口から約 2 cm 上流に小さなクラック（きず）を作成し、その真上に容器を設置しその中に泳動液を入れます。ここに白金電極を挿入し電圧を印加すると、クラックを介して電子の移動が可能となり分析が始まります。クラックまで泳動してきた各代謝物は、電気浸透流と呼ばれる液の流れにのってキャピラリー出口まで移動し、イオン化されて質量分析計に導入されます。さらに、クラックの表面に透析膜を張ることによって、クラックから外に代謝物が漏れいすることを防いでいます。

このデバイスは、高価な顕微鏡や工作機械を一切必要とせず安価に作成可能であり、またあらゆる市販のキャピラリーに適用可能などのメリットがあります。

3. 本発明の効果

3-1. 従来法との比較

図 3 に本法と従来法の比較結果を示しています。アミノ酸やアミン、核酸塩基といった陽イオン性代謝物質 52 物質において、従来法と比べて本法では平均で面積値が 72.4 倍、ピーク高さが 18.2 倍、感度を表す指標であるシグナルノイズ比が 4.4 倍という結果でした。つまり、従来法を本法に置き換えると平均 4.4 倍の高感度化が達成されたこととなります。

従来法との比較

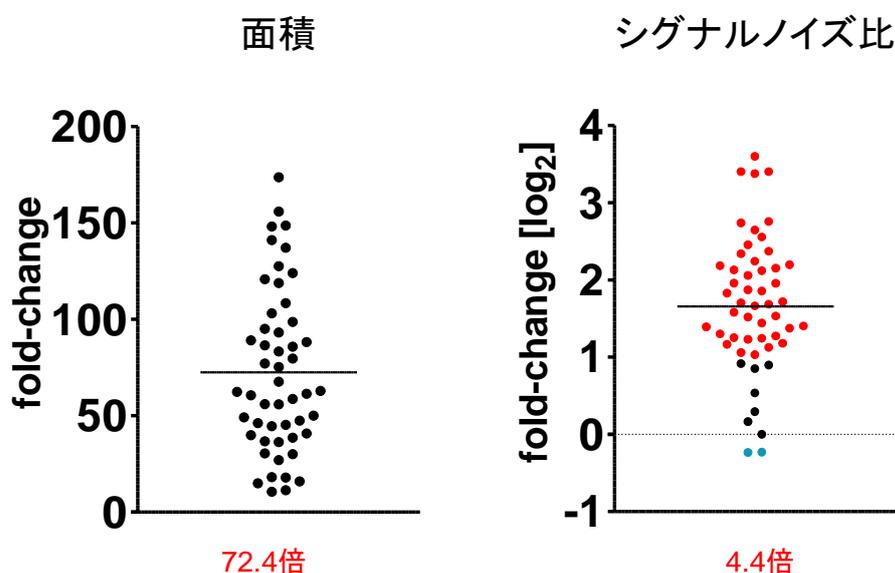


図3 従来法との比較（左；面積値、右；シグナルノイズ比）

3-2. がん培養細胞のメタボローム解析への適用

本法をがん培養細胞のメタボローム解析に適用しました。通常は1検体あたり100万個の細胞が必要ですが、今回はその約1/100に相当する12000細胞で測定を行いました。今回開発した方法を適用した結果、約250ピークを検出することが可能であり、これは従来法で検出できたピーク数の約2.5倍でした。つまり、本法を用いれば、より少ない細胞数から多くの代謝物ピークを検出することが可能となります。

培養する細胞数が少なくて済めば、用いる試薬量や培養スペースの削減が可能となり、同じ研究予算でより多くの実験を行うことができるようになる等の効果が期待されます。

この研究は、AMEDの革新的先端研究開発支援事業（AMED-CREST）「疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療基盤技術の創出（清水孝雄 研究開発総括）」研究開発領域における研究開発課題「代謝産物解析拠点の創成とがんの代謝に立脚した医療基盤技術開発」（研究開発代表者：曾我 朋義）※、および山形県と鶴岡市の支援によるものであり、この研究成果は2018年3月25日、Electrophoresis 電子版に掲載されました（<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elps.201800017>）。（※ 2015年4月の日本医療研究開発機構の発足に伴い、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）より移管。）

曾我朋義教授は、「平山特任講師を中心に、シーレス CE-MS 法という高感度測定法が開発できました。メタボローム解析の強力な武器になると思います。特許登録の見込みなので、今後、大手分析メーカーにライセンスアウトするなど商品開発にも取り組みたい」と話しています。

慶應義塾大学先端生命科学研究所の富田勝所長は、「感度が4.4倍にアップしたことで、今まで検出できなかったごく微量な代謝物でも検出できるようになりました。慶應鶴岡の世界最高峰のメタボローム解析拠点はさらに進化を続けます」と語りました。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。
※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、山形県政記者クラブ、鶴岡市記者会等に送信
させていただきます。

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 坂井

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

Email pr@iab.keio.ac.jp

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