

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

研究テーマ	1 細胞内代謝物の超高感度質量分析法の開発とがん細胞メタボロミクスへの展開				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	古庄 仰
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	古庄 仰

講演題目	1 細胞内代謝物の超高感度質量分析法の開発とがん細胞メタボロミクスへの展開
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>がん細胞は、急速な成長・増殖のために正常細胞とは異なる代謝機構を利用しており、がん特異的な代謝経路は診断や治療に有用な新規ターゲットとして注目されている。がん細胞における代謝物の解析（メタボロミクス）は主に細胞集団を用いて行われてきたが、腫瘍組織は不均一性を有し微小環境の変化に敏感に応答するため、集団の平均的な情報では詳細な代謝変動を捉えているとは言い難い。細胞の状態を1個単位で測定可能な手法としてナノエレクトロスプレーイオン化（nanoESI）によるダイレクト質量分析法が開発され、がん細胞のリン脂質プロファイル等が明らかになってきた。しかし、代謝物であるアミノ酸・有機酸等は本手法での検出感度が不足し、測定が困難であった。そこで本研究では、誘導体化による検出感度の向上をはかり、1細胞内有機酸の超感度質量分析法の開発を試みた。</p> <p>代表的な有機酸としてピルビン酸、乳酸およびクエン酸回路の中間代謝物を選択し、誘導体化試薬と検出条件を検討した。誘導体化試薬にはカルボキシ基と選択的に反応する3-Nitrophenylhydrazine を使用し、標準品溶液および縮合剤と混和して反応させた。反応液を液体クロマトグラフィー質量分析装置（LC-MS）に導入して誘導体化物の生成を確認し、検出条件の最適化を行った。その後、金属コーティングしたガラスキャピラリー（Cellomics Tip, HUMANIX）に反応液を注入し、nanoESI専用のイオン源に設置して直接質量分析した。</p> <p>LC-MS 分析の結果、比較的温和な条件下で有機酸の誘導体化反応が進行することが確認された。またそれぞれの誘導体化物に特徴的なフラグメントイオンが認められ、乳酸では m/z 224.07>152.05、コハク酸では m/z 387.11>234.06 といった組み合わせを使用することでタンデム質量分析計での選択的かつ高感度な検出が可能であった。一方で、nanoESI 測定では誘導体化物が十分に検出されず、細胞内の有機酸の測定が困難であった。誘導体化反応に使用する縮合剤や溶媒、測定条件についてさらに詳細な検討が必要である。また、異なる構造を持つカルボキシ基誘導体化試薬についても複数種の検討を進めており、1細胞内有機酸の網羅的解析に向けて分析法の構築を引き続き進める予定である。</p>