

小椋 康光 (Yasumitsu OGRA)

昭和薬科大学 (Showa Pharmaceutical University)

メタロミクス (metallomics) とは、国際純正および応用化学連合 (IUPAC) により定義された学術用語で、金属を中心とした生体微量元素と生体反応との統合的かつ網羅的な研究分野である。その解析手法の一つに、生命反応に関与する微量な元素を、定性的かつ定量的に分析する化学形態分析 (スペシエーション) が利用されている。しかし、そもそも微量にしか存在しない元素が測定対象であるため、分析に供される試料や得られる情報が限定されていた。そのような現状に、新たな技術とノウハウを導入し、これまでには得られなかった情報を得ることにより、生体微量元素の関与する新たな知見を提示した研究成果を紹介したい。

1. モレキュラスペシエーション —生体微量金属含有代謝物の同定法の確立とそれに基づく代謝過程の解析—: 動物にとってセレンという元素は、生命を維持する上で欠くことのできない生体必須微量元素である。生体内に極微量にしか存在しないセレンの代謝過程の全容は、長らく不明のままであったが、90年代に入り、誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) が開発され、実用化されると、セレンを高感度に測定することが可能となったことに端を発し、セレンの代謝過程の全容解明に向けたチャレンジがなされるようになっていた。特に、生理条件下で尿中に排泄されるセレン代謝物が何であるということは、長らく不明であり、解決すべき重要な課題であった。セレンは金属性を有する元素であるが、生体内では同族の硫黄と同様に共有結合性の代謝物を形成する。すなわち、代謝物の化学構造が解明できれば、セレンの代謝過程の一端が解明できると期待されていた。生理的条件下では、極微量のセレン代謝物が尿中に排泄されることが知られており、ICP-MS の出現により、確かに尿中にセレン代謝物が存在していたが、それは既知のセレン代謝物とは異なる代謝物であることが確認されていた。しかし、ICP-MS はセレンの高感度な検出装置ではあるものの、未知の代謝物を同定するには不向きな機器であった。一方既に、エレクトロスプレーをイオン源とした質量分析装置 (ESI-MS) が市販されており、未知の医薬品代謝物の同定等に利用されていたものの、ESI-MS が高感度な測定機器とはいえ、セレンの測定に関しては ICP-MS と比べて当時の状況下で、3~4桁ほど感度が悪いこと、尿などの多量のマトリクスを含む試料については高度な前処理を必要とすることなどが原因で、生体微量元素分析には応用できない状況であった。そこで ICP-MS と ESI-MS の利点を活かすことにより、セレンの尿中代謝物を明らかにすることができた。それが糖の骨格を持つことからセレン糖 (selenosugar) と名付けた。ICP-MS を用いて、元素特異的な検出を行うエレメンタルスペシエーションに対し、ESI-MS を用いた金属含有代謝物の検出および同定をモレキュラスペシエーションと呼んでおり、この手法をレアメタルとして近年使用が増加している類金属であるアンチモンやテルルの代謝物の同定にも使い、環境毒性学的知見の集積に利用している。

2. ナノスペシエーション —生体微量金属の微量化学形態別分析法の確立とその応用—: ICP-MS を HPLC の検出器として利用する従来の化学形態分析では、通常分析サイズ (内径 4.0~8.0 mm) のカラムが用いている。このために試料要求量として 20~100 μL が必要であり、生体試料としては実験動物から得られる血漿、尿あるいは臓器抽出液など比較的少量に調製できる試料に限られていた。分子生物学的あるいは細胞生物学的研究手法をメタロミクス研究に取り入れるためには、培養細胞を用いることが必要であるが、培養細胞から得られる試料は微量であるため従来の化学形態分析が困難であった。そこで、感度を落とすことなく、微量試料の測定を可能にするための技術開発を行ったところ、試料量を 100 nL まで低減させることができた。従来のスペシエーションが μL レベルの試料要求量であったのに対し、nL レベルの試料要求量で同等の分析が可能となったことから、この手法をナノスペシエーションと呼んでいる。金属の代謝に関与するタンパク質をコードする遺伝子に改変を加えた培養細胞から調製した試料の分析例を紹介したい。