

21PO-pm104S

LC-MS/MSを用いたターゲットメタボロミクスによる TCA 回路代謝物の分析法の開発

○山口 真史¹, 佐藤 完太², 山本 哲志¹, 三田村 邦子¹, 多賀 淳¹ (¹近畿大薬, ²近畿大院薬)

【目的】正常細胞と癌細胞ではエネルギー産生の挙動が異なっており、中でもクエン酸回路上の代謝産物の量に癌患者と健常者の間で違いが生じることが報告されている。そこで、癌細胞におけるクエン酸回路代謝産物の発現異常をより詳細に解明するためには、高感度の定量分析法を開発することが有効であると考えられたため、本研究では、LC-ESI-MS/MSを用いて、クエン酸回路上の代謝物の一斉分析・高感度微量分析を目的とする測定法を開発した。

【方法】標的分子としてオキサロ酢酸やクエン酸をはじめとする TCA サイクル上の代謝物 9 種に、アミノ酸代謝に関わるグルタミン、グルタミン酸を加えた計 11 種を選択した。LC-MS/MSには、選択性が高く、一斉分析に適しているとされる TSQ Endura (Thermo Fisher Scientific)を用いた。カラムには、逆相、HILIC、およびイオン交換カラムの 3 種類を用いた。種々の濃度のギ酸溶液を移動相とし、アイソクラティック溶出を行った。ネガティブモードでイオン化し、SRM 法での最適化を行い、その条件で測定を行った。

【結果・考察】酸性条件に設定して YMC Triart PFP (150×2.1 mm, 3 μm)カラムを用いたところ、11 種類の代謝物の一斉分析が可能であった。移動相に用いたギ酸濃度によりピーク形状、再現性に差があったが、11 種代謝物一斉分析において、移動相に 0.5%ギ酸を用いることにより、良好な結果が得られた。また、この条件で培養癌細胞中の代謝物を分析したところ、細胞内の代謝物を高感度で測定することが可能であった。以上の結果より、*in vitro* 実験系での細胞内や各種癌細胞における TCA 回路代謝物の高精度な一斉定量が可能であり、代謝物を標的にしたバイオマーカーの探索が可能になると考えられた。