

## 世界一包括的な代謝物測定法の開発に成功

～ワンショットで親水性代謝物を高感度かつ網羅的に測定！メタボロミクスに革新！～

### ポイント

- ① 代謝物は疾患と密接に関わるため健康状態を把握するのに有益な指標になります。
- ② これまで高感度にかつ網羅的にメタボロームを測定する方法はありませんでした。
- ③ メタボロームをワンショットで測定する革新的な分析手法の開発に成功しました。
- ④ 今後、様々な疾患メカニズムを解き明かす新規ツールとしての応用が期待されます。

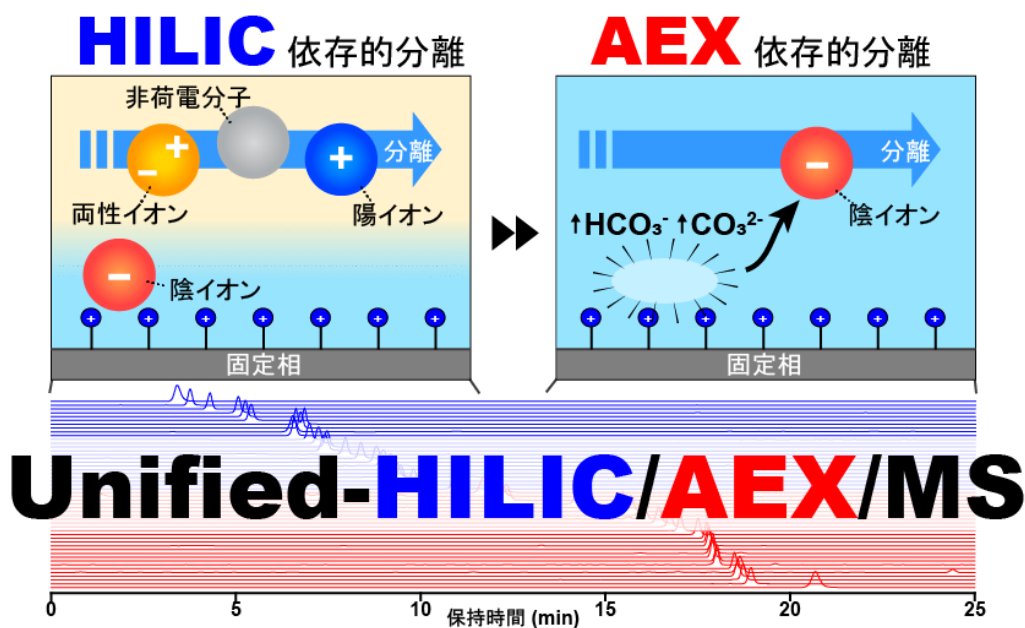
### 概要

タンパク質を構成するアミノ酸や、DNAを構成するATPなどのヌクレオチドに代表される生体中の代謝物の総体をメタボロームと呼びます。メタボロームの中には様々な疾患と密接に関わるものが数多く見つかっており、これら数千にも及ぶ代謝物を一斉計測することのできる分析手法が待望されていました。

九州大学生体防御医学研究所の馬場健史教授、和泉自泰准教授、中谷航太学術研究員、高橋政友助教の研究グループは、代謝物の極性と電荷特性（陰イオン性、陽イオン性、両イオン性、非荷電）の違いを利用した unified-HILIC/AEX という新規分離戦略を用いることで、ワンショットで親水性メタボロームを高感度かつ網羅的に測定する方法を開発することに成功しました。

本研究で開発した分析法では、液体クロマトグラフィー（※1）によりメタボロームを分離し、分離した代謝物を質量分析（※2）で高感度に検出します。この液体クロマトグラフィーでの合理的かつ効率的な分離のために、当該研究グループでは独自の分離カラムを作製し、新しい unified-HILIC/AEX/MS という分離・検出手法を開発しました。Unified-HILIC/AEX/MS は、極性の違いにより陽イオン性、両イオン性、非荷電の親水性代謝物を分離分析する親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC ※3）からまず始まり、次いでイオン強度の違いにより陰イオン性の代謝物を分離する陰イオン交換クロマトグラフィー（AEX ※4）を連続で行い、最終的にクロマト分離した幅広い代謝物をMSにて高感度検出・定量可能です。これまで世界で頻用されている代謝物測定法と比較すると、本手法では約2倍の情報量が得られることが分かりました。今後、本手法は世界各国で汎用されている代謝計測を一新し、様々な疾患メカニズムを解き明かす新規ツールとして応用されることが期待されます。

本研究成果は、米国の国際科学誌「Analytical Chemistry」に2022年11月25日(金)に掲載されました。



(参考図) Unified-HILIC/AEX による分離手法の概要。分析前半 (左) では陰イオンを固定相に吸着させておきながら、その他の陽イオン、両性イオン、非荷電分子を測定。分析後半 (右) では吸着させておいた陰イオンを測定。

### 【研究の背景と経緯】

代謝物には食事から摂取した成分や、それらを基にして体の中で生合成される成分があります。疾患では特定の成分が過剰産生されたり、あるいは枯渇状態になったりする様子が頻繁にみられます。したがって、代謝バランスの詳細かつ継続的なモニタリングは、疾患の早期診断や新規治療戦略への活用が期待されています。しかしながら、数千にも及ぶ代謝物の全体像であるメタボロームを一度の分析により一斉計測することは極めて難しく、これまでは複数のプラットフォームを用いた複数の分析方法を組み合わせる煩雑な方法が実施されていました。大量の検体を扱うコホート研究では、分析手法を選択せざるを得ず、活用できる代謝物情報が限定的になってしまうという課題を抱えています。

### 【研究の内容と成果】

私たちは、代謝物が電荷的に陰イオン性とそれ以外 (陽イオン性、両イオン性、非荷電) という2つのグループに分類できることに着目しました。そこで、1-3級アミン及び4級アンモニウムカチオンを固定相として有する独自の分離カラムを用いた分離手法を検討しました。詳細な条件の検討の結果、陰イオン性の代謝物を正に帯電した固定相に吸着させながら、それ以外の陽イオン性、両イオン性、非荷電の代謝物を極性の違いを利用して分離分析する親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) を分析前半にまず行い、次いでシームレスに、固定相に吸着させておいた陰イオン性の代謝物をイオン強度の違いを利用して

分離分析する陰イオン交換クロマトグラフィー (AEX) を分析後半に行うというユニークな分離手法の開発に成功しました (参考図)。私たちは開発した分離検出手法を unified-HILIC/AEX/MS と命名し、メタボローム解析における分析性能を従来法と比較しました。その結果、精度と代謝物情報量といった点で、本手法は、これまで世界で頻用されてきた測定法を凌駕する性能を示すことが確認されました。

### 【今後の展開】

今後、本手法は世界各国で汎用されている代謝計測を一新し、様々な疾患メカニズムを解き明かす新規ツールとして応用が期待されます。当研究室においても、ヒト検体をはじめとした様々なモデル生物の代謝研究へと本手法を応用し、代謝が関与する生命現象の分子基盤を解明していきたいと考えています。また、本手法は低分子化合物を測定する能力が非常に高いことから、食品の機能性成分、薬物動態、残留農薬といった様々な場面での利活用も期待されます。

### 【用語解説】

#### (※1)液体クロマトグラフィー

化合物を分離する手法。移動相として水や有機溶媒などの液体を使用する。測定試料は移動相と一緒にカラム内をとおる、カラム内の固定相と相互作用をしながら分離される。相互作用の強さにより化合物が溶出する時間が異なるため、この溶出時間を特定の化合物の同定に使用することができる。

#### (※2)質量分析

分子をイオン化し、飛行しているイオンの質量電荷比 (質量数 ÷ 電荷数) を電氣的・磁氣的な作用によって分離し、検出する分析方法。

#### (※3)HILIC

液体クロマトグラフィーにおいて、相互作用の種類によって分離モードの呼称が異なる。親水性相互作用を利用して化合物を分離する方法を親水性相互作用クロマトグラフィー (Hydrophilic interaction chromatography, HILIC) と呼ぶ。

#### (※4)AEX

液体クロマトグラフィーのうち、相互作用がイオン性相互作用によるものをイオンクロマトグラフィーと呼ぶ。特に、陰イオンが分析対象の場合は、陰イオン交換クロマトグラフィー (Anion exchange chromatography, AEX) と呼ぶ。

## 【謝辞】

本研究は、JST 未来創造事業 (JPMJMI20G1) , JST ムーンショット (JPMJMS2011-62), JST-CREST (JPMJCR22N5, JPMJCR15G4), JST A-STEP (JPMJTR204J), AMED-CREST (JP22gm1010010) , NEDO カーボンリサイクル実現を加速するバイオ由来製品生産技術の開発(JPNP20011), JSPS 科研費 (JP21K14472, JP22H01883, JP22K18924, JP22H05185, JP20K15101, JP17H06304, JP18H01800)の助成により実施されました。

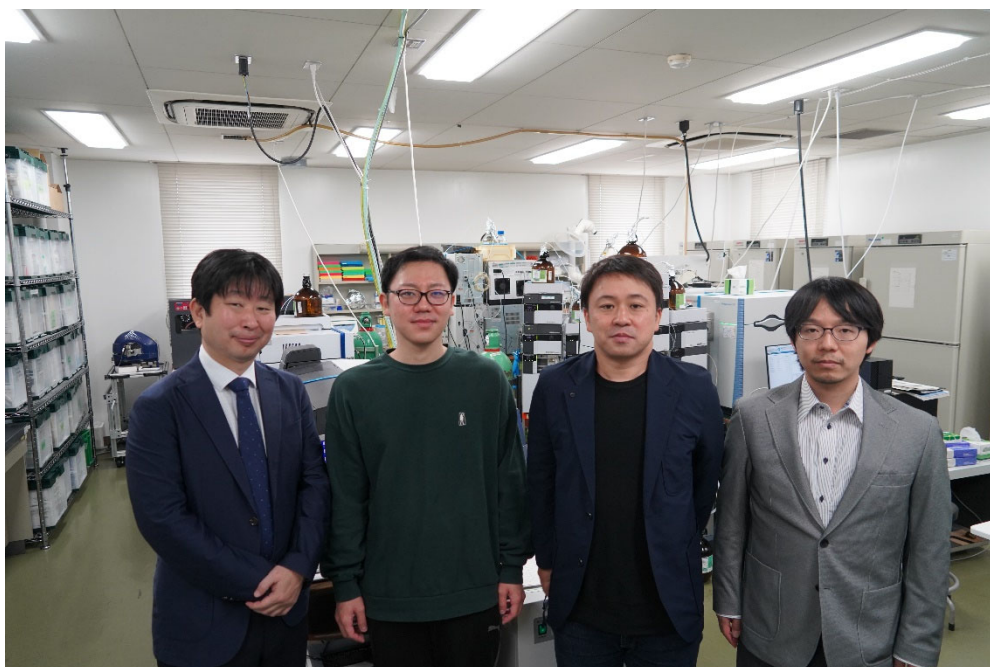
## 【論文情報】

掲載誌: Analytical Chemistry

タイトル: Unified-hydrophilic-interaction/anion-exchange liquid chromatography mass spectrometry (unified-HILIC/AEX/MS): A single-run method for comprehensive and simultaneous analysis of polar metabolome

著者名: Kohta Nakatani, Yoshihiro Izumi\*, Masatomo Takahashi, Takeshi Bamba\*. (\*Co-corresponding author)

DOI: 10.1021/acs.analchem.2c03986



左から馬場健史教授、中谷航太学術研究員、和泉自泰准教授、高橋政友助教

**【お問い合わせ先】**

<研究に関すること>

九州大学 生体防御医学研究所 教授

馬場 健史 (ばんば たけし)

TEL : 092-642-6170

e-mail : bamba@bioreg.kyushu-u.ac.jp

九州大学 生体防御医学研究所 准教授

和泉 自泰 (いずみ よしひろ)

TEL : 092-642-6171

e-mail : izumi@bioreg.kyushu-u.ac.jp

<報道に関すること>

九州大学 広報室

TEL : 092-802-2130 FAX : 092-802-2139

Mail : koho@jimukyushu-u.ac.jp