



Pressure-Assisted Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry Using Combination of Polarity Reversion and Electroosmotic Flow for Metabolomics Anion Analysis

極性反転と電気浸透流を用いたCE/MSによるアニオン性代謝産物網羅的分析法

(JBB, Vol. 101, No. 5, 403–409, 2006)

原田 和生・福崎英一郎*・小林 昭雄

近年注目されているメタボロミクスは生体内に含まれる代謝産物の総体（メタボローム）を解析することにより、細胞内代謝ネットワークの理解を目指したポストゲノムサイエンスである。メタボロミクスにおける基幹技術の一つは網羅的に代謝産物を定性、定量する分析技術である。現在までにNMRやGC/MS、LC/MSなどを用いた分析手法が開発されてきた。しかし、これらの分析手法では糖やアミノ酸、脂質といった細胞内に高濃度で蓄積している代謝産物は測定可能だが、解糖系、ペントースリン酸経路、TCA回路などのような重要な一次代謝中間体である糖リン酸、有機酸、ヌクレオチド、CoA体は測定が困難であった。したがって、これらアニオン性代謝産物を一斉に測定可能な手法の開発が必要とされていた。

曾我らは近年発達が著しいキャピラリー電気泳動/質量分析法（capillary electrophoresis/mass spectrometry, CE/MS）を用い、上述の代謝産物を誘導体化することなく分析可能な手法を開発した。アニオン性化合物を静電引力によりMS側に移動させるためにはCEの極性をinlet側（CE側）を陰極、outlet側（MS側）を陽極と設定しなくてはならない。しかし汎用のフューズドシリカキャピラリーを用いた場合、電気浸透流と呼ばれる電解質の液流が陰極から陽極に向かって流れるため、outlet側のキャピラリー内部に空気の層が生じ電気泳動が成立しない。そこで彼らは特殊なコーティングを施したSMILE(+)キャピラリーを使用し陰極から陽極へ向かう電気浸透流を作り出し、上述の極性で糖リン酸、有機酸を測定することに成功した¹⁾。またヌクレオチド、CoA体はSMILE(+)キャピラリー内壁表面に吸着するため、代わりにDB-1キャピラリーを用い電気浸透流をエアープンプによる送液に代替した手法も開発した²⁾。

上述の方法は特殊なコーティングを施したキャピラリーを使用しなければならない点、アニオン性代謝産物を網羅するためには2種類の手法を併用しなければならない点が課題として挙げられる。そこで筆者らは汎用の

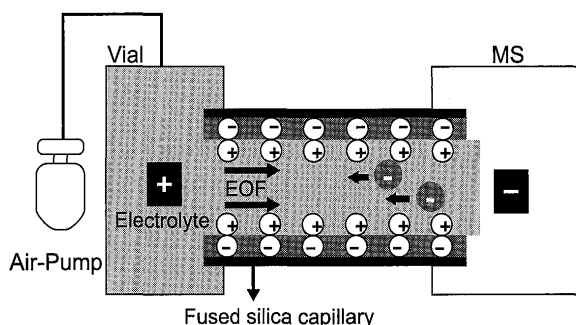


図1. 新CE/MS分析手法の原理

フューズドシリカキャピラリーを用い、CEの極性はinlet側を陽極、outlet側を陰極とすることにより電気浸透流をMS側に向ける手法を考案した。電解質のpHを高くすることにより、電気浸透流の流速がすべての分析対象化合物の電気泳動移動度（静電引力によって移動する速度）よりも上回るようにし、アニオン性化合物を陰極であるMS側に移動させることに成功した（図1）。また、本手法で用いたフューズドシリカキャピラリーの表面は負電荷を帯びており、アニオン性化合物の吸着も防ぐことができる。このようにして54種類のアニオン性化合物を1種類の条件で一斉に測定することが可能となった。現在、筆者らは本手法にさらなる改良を加え、再現性、感度の向上、分析時間の短縮に成功している³⁾。

近年、アニオン性代謝産物を網羅的に分析する手法としてイオンクロマトグラフィー⁴⁾やイオンペアクロマトグラフィー法⁵⁾も報告されているが、これらの手法に比べ、CE/MSを用いた手法はMSの汚染が少ない、分析時間が短いなどのメリットがあり、実用性に優れていると思われる。

- 1) Soga, T. *et al.*: *Anal. Chem.*, **74**, 2233 (2002).
- 2) Soga, T. *et al.*: *Anal. Chem.*, **74**, 6224 (2002).
- 3) 原田ら: 日本生物工学会大会講演要旨集, p.30 (2006).
- 4) Sekiguchi, Y. *et al.*: *J. Chromatogr. A*, **1085**, 131 (2005).
- 5) Luo, B. *et al.*: *J. Chromatogr. A*, **1147**, 153 (2007).