メタボローム解析技術の現状と展望

1. 試料調製，計測技術

松田史生，及川 彰，草野 都，菊地 淳，斉藤和季

近年，メタボローム解析を活用した研究が多数報告されるようになり，その有用性がよく認識されるようになってきた。一方で，先輩格にあたるトランスクリプトーム，プロテオーム解析と比べると，メタボローム解析は，分析へのアプローチが多様で，さまざまな分析機器や手法が利用されるため，具体的なイメージがつかみにくく，特殊な技術と捉えられがちである。しかし，近年の計測，データ処理手法の進展により，従来の分析との性格の違いを把握した上で既存の設備を応用すれば，メタボローム解析を研究現場に導入することは比較的容易になりつつある。

メタボローム解析の現状

メタボローム解析は，機能ゲノム科学を支える第3の“Omics”技術として登場して以降，遺伝子の機能解析のみならず，疾患マーカーの探索や薬物動態研究などの医学，創薬研究，さらには作物中の代謝物含量をコントロールする QTL (quantitative trait loci, 量的形質遺伝子座) の解析や，農薬の作用機作研究，遺伝子組換え作物の実質的同等性の検証といった農学分野へも応用され

るようになった⁽¹⁾。メタボローム解析には，大きく分けて2つの研究哲学の異なるアプローチがあり，メタボロミクスとメタボノミクスという用語で区別されている(図1)。通常，メタボローム解析にはできるだけ多くの対象分子の同定とその(絶対)定量性が求められている。これがメタボロミクスであり，特に単細胞生物では将来的に，情報科学を駆使したシステムズバイオロジーへの展開が待ち受けている⁽²⁾。一方，メタボノミクス解析は，遺伝/環境要因が変動しても，恒常性を保とうとする生物の特徴をふまえ，遺伝的変異や食事・薬剤投与などの環境変動により代謝バランスが崩れた際の相対定量を行ない，その要因となっている原因物質の特定を目的とする⁽³⁾。そこで，臨床などの応用で即利用できるメタボローム解析法としての開発が進められており，ヒトをはじめとする尿，臓器などの非侵襲計測により，バイオマーカー分子の迅速な同定が試みられている。

このような複数の研究哲学に加え，非常に多様な物性をもつ代謝産物を対象とするメタボローム解析では，たとえばトランスクリプトミクスのマイクロアレイ法，プロテオミクスの二次元電気泳動法や LC-MS 法などのような，代謝産物を幅広く網羅して検出，定量できる決定的な分析技術が存在しない。このため，GC-MS, CE-MS, HPLC, NMR, FT-ICR MS, FT-IR などのさまざまな分

Present Status of Metabolome Analysis and Future Perspective: 1. Sample Preparation, Measurement Technologies
Fumio MATSUDA, Akira OIKAWA, Miyako KUSANO, Jun KIKUCHI, Kazuki SAITO, 理化学研究所植物科学研究センター

図1 ■メタボロミクスとメタボノミクスの概念図

GC-MS: ガスクロマトグラフィー・マススペクトログラフィー, LC-MS: 高速液体クロマトグラフィー・マススペクトログラフィー, CE-MS: キャピラリー電気泳動・マススペクトログラフィー, FT-MS: フーリエ変換マススペクトログラフィー, 2D-NMR: 二次元核磁気共鳴法, ^1H -NMR: プロトン核磁気共鳴法, FT-NIR: フーリエ変換近赤外分光法, FT-Raman: フーリエ変換ラマン分光法

図2 ■各分析機器が対象とする化合物範囲

FT-ICR MS: フーリエ変換イオンサイクロトロン型・マススペクトログラフィー

析機器を使って、それぞれの分析手法が得意とする範囲の化合物群にフォーカスした解析を行なう(図2)。このような現状は、メタボローム解析のイメージを混乱させる一因となっている。一方、高価なマイクロアレイ法に依存したトランスクリプトミクスや、タンデム型質量分析計のような特殊な装置が必要となるプロテオミクスと比較して、上記の機器、特にGC-MSやNMRはルーティーンの分析機器としてすでに研究によく利用されており、メタボローム解析と従来の分析との性格の違いを把握した上でそれらの既存の設備と分析テクニックを応用すれば、メタボローム解析を研究現場に導入することは比較的容易かつ安価なランニングコストで済むと思われる。

多くの研究室で日常的に行なわれている代謝物の定量分析では、あらかじめ分析対象を特定し(ターゲット分析)、対象化合物の回収率、検出感度が最適になるように、分析メソッドの設定が行なわれる。その際、前処理や、クロマトグラムでの分離、選択的検出法を工夫することで、分析対象以外の化合物からの悪影響をいかに除

去するかが重要となる。NMR を用いた構造解析においても、単離した化合物を対象に解析が行なわれるのが通常である。一方、メタボローム分析では、極力多数の化合物の検出を目指すことから、検出対象化合物群を取りこぼすことなく生体組織から抽出、あるいは非侵襲計測し、複雑な試料中の代謝成分をそれぞれ分離能よく検出できる分析系の構築が必要とされる。このため、ターゲット分析で採用される多段階の前処理法や特殊な分離検出技術よりも、極力シンプルで一般性のあるメソッドが好まれる傾向がある。一方で抽出効率、誘導体化の再現性を確保するために、正確な操作が要求される点はターゲット分析と同様であり、器具や溶媒に由来する夾雑物の除去や機器分析の再現性についてはより高い精度が要求される。また、得られたデータから検出したシグナルを網羅的に調べ上げてデータ解析を行なうためのデータ処理方法は、ターゲット分析とは考え方が大きく異なる。過去10年のメタボローム解析研究の技術的な成果として、分析機器、手法毎にスタンダードといえる分析法、データ処理法が確立しつつあるが、状況はそれぞれの分析機器で異なっている。そこで本稿では、メタボローム解析法の現状を GC-MS, NMR, CE-MS, LC-MS および FT-ICR MS について概観することを目的として、第1回で抽出、分析技術を解説し、第2回ではデータ処理法の実際と最近のメタボローム解析研究の応用例を紹介する。なお、筆者らは主にメタボローム解析を用いた植物科学研究に関心をもっており、本稿の話題も植物を対象にした解析技術が中心になっていることはあらかじめご容赦願いたい。

核磁気共鳴法 (NMR)

応用性を強く指向したメタボノミクスと、必ずしもそうではないメタボロミクスとでは背景に潜む研究哲学こそ違うものの、研究手法は類似している。これらを統合してメタボミクスと呼ぶことが提唱されており⁽⁴⁾、筆者らもこれを採用している。何故なら、従来の1次元 NMR 法を用いたメタボノミクスに加えて、試料の安定同位体標識化により多次元 NMR 計測し、得られる数百の交差シグナルをもとにしたメタボロミクスも可能となり始めたためである。いずれにしても、NMR 装置は最も国内シェアの大きい分析装置のうちの一つであり、本誌の読者にとっては研究手法さえマスターすれば、さほど縁の遠い話にはならないであろう。

NMR 法は非破壊でスペクトル計測が可能のため、尿や組織のサンプルに周波数ロック用の重水を加えるだけ

で、簡便に再現性の高いデータが得られる。その際留意すべきことは、pHの違いにより、若干化学シフトが変動する代謝産物が存在することである。多くの動物の体液は厳密に中性に保たれているためこの問題は少ないが、植物細胞や動物の尿は pH が変動しやすい。このため、筆者らが現在構築している PRIME (Platform for Riken Metabolomics) の NMR 化学シフトデータベースでは、pH=3~9 まで変動させた緩衝液中でのアミノ酸や主要代謝産物の化学シフトを蓄積している。一方、抽出物の場合には濃い緩衝液を加えることで pH の制御は容易にできるが、NMR 計測の際に極低温プローブを利用している場合、高い塩濃度下では誘電損失により感度上昇効果が落ちることも留意したほうがよい⁽⁵⁾。特に、有機溶媒のような誘電率の低い溶媒を高磁場 NMR 装置で利用した場合にこのデメリットが顕著になるために、筆者らは誘電損失の少ない重水素化 HEPES 緩衝液を利用して pH を制御している。メタボノミクスとして限られたバイオマーカーを同定する場合でも、利用するデータベースの条件と一致するか否かをあらかじめ考えて、計測試料の条件を揃えたほうがよい。物理化学条件を揃えた NMR データベースとして、PRIME 以外にも BMRB (Biological Magnetic Resonance Data Bank) が公開されており、市販のものとしては NMR Suite (Chenomx 社)、KnowItAll (Bio-Rad 社)、AMIX (Bruker 社)、VnmrJ (Varian 社) が挙げられる。

このようにデータベースと同一の物理化学条件で試料を調製したら、続いて NMR 計測を行なう。NMR 法の場合は計測法が多彩であることに大きな特徴があり、用いるプローブにより溶液 NMR、高分解能 (hr) マジック角回転 (MAS) 法、固体 NMR 法、磁気共鳴イメージング (MRI) 法が大別されよう。メタボノミクスを指向する研究者は、望むらば対象試料を抽出せず、非侵襲計測をしたいと考えている。NMR 法の非侵襲計測の側面に関しては、総説⁽⁶⁾があるので詳細は省くが、hr-MAS 法がメタボノミクスの目的のために多用されている。観測核としては ^1H 核の一次元 NMR 計測が行なわれることがほとんどであるが、同じ試料でもパルス系列を分けて用いることにより、非常に簡単に運動性の高い低分子物質のみ (cpmg 法)、比較的運動性の低いタンパク質や超分子化した脂質 (diffusion-edited 法)、これら両方 (presaturation 法、Watergate 法) を検出することができる。

また、試料を均一に ^{13}C 標識化することで、タンパク質の立体構造決定で用いられてきたような種々の異種核計測パルス系列を利用できる。 ^{13}C -HSQC (Hetero-

nuclear Single Quantum Coherence) といった計測法がそれに値するが、詳細は文献^(7,8)を参照いただきたい。

このように、NMR 法に関する利点ばかりを列挙したが、低感度なため低濃度物質を一斉計測できないという大きな欠点がある。高磁場化や極低温プローブの利用はよく知られた感度上昇法であるが、最近ではプローブ開発によるサンプル量低減化も進んでいる。その例としては、検出コイルとしてソレノイドコイルの採用⁽⁹⁾、プレート型コイルへの直接サンプル塗布⁽¹⁰⁾が報告されている。後者の技術を用いれば、将来的には DNA マイクロアレイのカセットの如く、コイル上に滴下したサンプルを多検体同時計測することができるかもしれない。また、通常の NMR 装置を利用しながらも、NMR 感度を飛躍的に上昇させる方法として動的核分極 (DNP) 法が期待されている。特に最近、1 スキャン二次元 NMR 法と組み合わせることで、90 nmol の尿素の二次元 ¹⁵N-HSQC スペクトルをわずか 0.1 秒で観測することに成功している⁽¹¹⁾。同様にイメージング技術においても大きな躍進があり、ラットを用いた DNP 法による安定同位体標識代謝物のリアルタイム計測⁽¹²⁾も報告されている。

ガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS)

GC-MS を用いたメタボローム解析は、植物メタボロミクスのみならず他のメタボロミクス分野でも広く適用されており、NMR と並んで代謝プロファイリングの“Gold standard”技術として位置している。その理由としては、本法が特定化合物の一斉分析や微量化合物分析に用いられてきた歴史をもつこと、化合物同定に必要なライブラリが充実しており、迅速な物質同定が行なえること、さまざまなピーク分離アルゴリズムが開発され、ソフトウェアとして普及していることなどが挙げられる。また、誘導体化を行なうことによりアミノ酸、糖、有機酸といった高極性一次代謝産物を熱安定な揮発性物質に構造変換し、一斉分析を行なうことが可能である。香気成分などの揮発性物質である化合物群に対しても、近年固相マイクロ抽出法自動化システムが開発され、煩雑な操作を行なうことなく揮発性物質の一斉分析が可能となった。このように、GC-MS は、一度に数百ピークを取り扱うメタボロミクス研究に適した装置であることがわかる。

GC-MS で最も一般的に用いられている電子衝撃イオン化 (EI) 法は定量性に優れ、気化を伴う GC との相性が良い。装置を小型化できるというメリットから四重極型 (Q) 質量分析計と EI 法を組み合わせたものが広く普

及している。近年の高速パルス技術の進歩により、分析時間が短く高感度な飛行時間 (TOF) 型を搭載した装置が開発され、メタボロミクス研究に適用されている。また、GC-TOF/MS を用いることで TOF 型分析計が全質量範囲のイオンをすべて検出でき、未知化合物のマススペクトル情報を余すことなく取り込むことが可能となる。

他の機器分析技術と同様、GC-MS を用いた分析においても、対象とする生体試料および目的とする代謝物群によりさまざまな抽出法が存在する。具体的には、対象となる代謝物群が①揮発性物質の場合、②低極性物質の場合 (脂肪酸、ステロイドなど)、③高極性物質の場合 (糖、アミノ酸など)、④できるだけ一度に多くの種類の代謝物群を測定したい場合、に大別される。一般的に血しょう分析では低分子脂肪酸やステロイドを測定対象とするため、アセトン-イソプロパノール系を用いた抽出法である②が適用されることが多い。③および④の場合、基本的にはクロロホルム-メタノール-水系の混合溶媒を使用するが、③の場合は最終的に溶液を 2 相に分配分離し、水相のみを使用する。④の場合は液-液分配を行わずに 1 相抽出液をそのまま用いる。

抽出後、得られた抽出物は誘導体化を行なうことにより、熱安定な揮発性物質として分析に供する。誘導体化剤として一般的に用いられる試薬としては、カルボニル基をメトキシ化するためにメトキシアミンが、水酸基およびアミノ基をシリル化するために *N*-methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (MSTFA) が使用される。特に日本のような湿度が高い国で誘導体化作業を行なう際は、湿気の除去に最大限の注意を払う必要がある。このようにして調製した試料は、高性能オートサンプラーを搭載した GC-MS を用いて分析される。分析に際し、化合物分離に使用するカラムは測定クロマトグラムのバックグラウンド (ブリード) が非常に低いキャピラリータイプ (内径 0.25 mm) が一般的である。液相は対象とする代謝物群によって異なるが、抽出法③もしくは④により得られた抽出物の分析には、(5%-フェニル)-メチルポリシロキサンを使用した無極性カラムを用いる。TOF を搭載していない GC-MS の場合、昇温条件は緩やかに設定し (5~10°C/分)、クロマトグラム上で完全分離を行なう。TOF 搭載 GC-MS の場合は、速く昇温させてデータを取り込み、分析終了後コンピューターを用いて数学的にピーク分離を行なう (デコンボリューション)。なお、抽出~分析までの工程について、詳細を紹介した文献および成書が報告・出版されているので^(13,14)、参考にいただきたい。

GC-MS の新しい技術の一つとして、近年注目を浴びているのがキャピラリーカラムを2個直列につないで、より高感度かつ高分解能分析を可能にした二次元 GC-TOF/MS である。データ前処理から代謝物データの行列化までに関する技術については、Leco 社の提供する ChromaTOF をはじめ、新たなピーク分離技術が開発されている。二次元 GC-TOF/MS における初のメタボロミクス適用例として、2005 年に肥満型ネズミと痩せ型ネズミの脾臓抽出物を用いた高分解能メタボロミクスが登場した⁽¹⁵⁾。その他、イチゴの揮発性化合物を対象とした異性体の分離に挑戦している二次元 GC-TOF/MS 分析⁽¹⁶⁾や、DNA 多型をもとにした世界イネコアコレクション (WRC) の高分解能メタボロミクス⁽¹⁷⁾など、次々とメタボロミクス研究に応用されている。

キャピラリー電気泳動質量分析計 (CE-MS)

キャピラリー電気泳動 (CE) は、緩衝液が充填されている内径 25~75 μm のキャピラリー内で、電場中での溶質の移動度の差を利用する分離手法である。キャピラリーの電気抵抗の高さや良好な放熱性により、高い電場を印加しても流れる電流が少なくかつ熱の発生を最小限に抑えられる。これによって高電圧をかけることが可能となり、分析時間が短縮され、かつ高い分離効率および分解能を得ることができる。また、キャピラリー内で溶液は、HPLC に比べより平面的な流れ (栓流) となるため、非常に高い分離能が得られる。さらに、キャピラリーに導入される試料量が微小 (1~10 nl) であることも CE の特徴として挙げられる。CE が DNA の自動塩基配列解析装置に用いられていることはこれらの利点に由来するところである。

メタボローム解析における CE-MS は未だ研究例が少なく、GC-MS や LC-MS に比べるとまだ成熟した手法とはいえない。しかし、CE は GC や LC では分離・検出が困難な化合物 (糖リン酸、ヌクレオチド、補酵素など) や構造異性体などを分離・検出できる。そのため、幅広い種類の代謝物を対象としているメタボローム解析に有効であることは間違いない。

CE は主に水溶性化合物を分析対象とするため、サンプルの抽出にはメタノールまたはメタノール-水系溶媒が用いられることが多い。またサンプルの前処理には、分液と限外濾過がよく用いられる。脂溶性化合物は泳動バッファーに溶解せず、またキャピラリー内壁に吸着してしまうため、分液によって脂溶性化合物を取り除く。また、タンパク質などの高分子もキャピラリー内壁への

吸着やキャピラリー内での析出が懸念されるため、これを限外濾過によって取り除く必要がある。一方、サンプル溶液の過度の濃縮は、サンプルのスタッキング*を妨害し、ピーク幅を広げてしまうなど、分離に影響を及ぼすため注意が必要である。

近年、曾我らは分析化合物をカチオン、アニオン、ヌクレオチド類に分け、それぞれ異なる条件で分析することによって多様な化合物種を一斉に分析することを可能にした⁽¹⁸⁾。このうち、カチオンおよびヌクレオチド類に対する手法は非常に優れており、前者においてアミノ酸やアミン類など、後者でヌクレオチド、補酵素類および UDP 糖類などを、高い分離能で再現性良く検出できる。一方、アニオン分析では、内部を陽イオン性ポリマーでコーティングされたキャピラリーを用いているが、このキャピラリーカラムは寿命が短く、また複数のサンプルを連続で分析すると化合物の移動時間にずれが生じてしまう。これに対し、原田らはコーティングされていないフューズドシリカキャピラリーを用い、電気泳動と並行して空気圧でキャピラリー内液を押して溶出する方法を用いてアニオンの分析を行なった⁽¹⁹⁾。この手法はキャピラリーの寿命や再現性の点でコーティングカラムを用いる方法より優れており、有機酸や糖リン酸に加えヌクレオチド類をも同一の分析で検出可能であった。しかし、空気圧を用いることでピーク幅が広がるため、分解能がやや低下することは避けられない。アニオン分析にはこの他にも、PEEK (poly-etheretherketone) をキャピラリーとして用いる方法⁽²⁰⁾なども報告されているが、未だ決定的な分析法は確立されておらず、さらなる技術開発が期待される。

液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC-MS)

LC-MS を用いたメタボローム解析法は、糖、有機酸、アミノ酸などの一次代謝産物を苦手とするものの、それ以外の多様な代謝物を検出できる長所を生かし、植物二次代謝物、複合脂質などを対象にした分析に適用されている。

試料調製のための抽出法として、対象とする化合物の性質に合わせた条件が選ばれる。植物試料から二次代謝物を抽出する場合は、凍結粉碎物に新鮮重の 5~10 倍量程度の 80% メタノール水溶液もしくはメタノールを加えて抽出、ろ過したものをそのまま分析する方法がよく

*サンプル溶液と電解液 (泳動バッファー) の間の導電率の違いを利用してキャピラリー内で試料を濃縮する方法。

用いられる。また複合脂質を対象にしたリピドミクスでは、水/メタノール/クロロホルム混合系で抽出し、クロロホルム層を回収、乾固後、メタノールに溶かした溶液がサンプルとして利用されている。

LCの特徴の一つに、さまざまな分離モードが選択可能で、カラムサイズも選択の余地が広い点が挙げられる。メタボローム解析では、複雑なマトリクスに含まれる多様な化合物の破綻ない分離と、代謝物同定のための保持時間再現性を重視することから、高理論段数で技術的に成熟した保守的な条件が選択される。また、ESI部でのイオン化効率を考えると、移動層流量は低いほうが良い。そこで植物の二次代謝産物の分析では、粒径 $3\mu\text{m}$ の固相を充填した内径 2mm 程度、長さ $50\sim 150\text{mm}$ 程度のODSカラムとアセトニトリル/水/ギ酸系の溶媒を用いることが多い。複合脂質の分析では順層系シリカゲルカラムと、メタノール/アセトニトリル/ギ酸アンモニウム緩衝液系などの溶媒系で、 $20\sim 60$ 分間程度のグラジエント溶出を行なうのが通常である。イオン化法は生体成分のイオン化に適したESI法が採用され、フラグメント化が起こり難い条件に設定する。また、質量分析部は、 m/z $100\sim 1,000$ 程度の分子量幅をすばやく検出するスキャン法で動作させることができれば、四重極型、イオントラップ型、飛行時間型、いずれの形式でもメタボローム分析が可能である。最近、標準的な分析プロトコールが公表されたので参考にされたい^(20, 21)。

しばしば指摘されるように、LC-ESI-MSによるメタボローム分析には、イオンサプレッションという不可避免の問題がある。イオンサプレッションとは、複数の化合物が同時にイオン化されるとき、高濃度で存在している化合物が他の化合物のイオン化を抑制する現象であり、これにより化合物のイオン強度値が影響を受ける。その抑制には、LC部の分離の向上（理論段数の増加）によるピークのオーバーラップの低下と流量の低減（カラムの小口径化）によるイオン化効率の向上という2つの方法がある。近年目覚しく進歩した低粒径担体を採用することで、単位長さあたりの理論段数を飛躍的に増加できるが、著しい背圧の増加に対応した高価な装置が必要である。また細い内径のカラムを用いた、ミクロスケール、ナノスケール分析は、プロテオミクスにおける微量サンプル分析時の感度向上の切り札として盛んに利用されているが、メタボローム分析ではサンプル量には余裕があることが多く、むしろ分析の再現性を維持しにくいという理由でほとんど用いられていない。しかし、これらの技術のもたらすメリットは大きいことから、技術の進展につれて徐々にメタボローム分析へも適用されていくだ

ろう。またLC-MS法では親水性の高い一次代謝物の検出が難しいという弱点があるが、最近ペンタフルオロフェニルプロピル基を固層に導入したカラムを用いたアミノ酸、有機酸の一斉検出系が報告されるなど⁽²²⁾、LC-MSメタボロミクスのターゲットは多様な代謝物群へと広がりを見せている。その裏返しとして、LC-MSによるメタボローム分析は分析条件の標準化が難しいという課題があり、さらに質量分析装置の形式やメーカーにより、得られるスペクトラムが若干異なるなどの要因もあって、研究室間での分析データの共有や集積は容易ではない。解決のための展望は今のところ見えておらず、今後の動向が注目される。

フーリエ変換イオンサイクロトロン型質量分析装置 (FT-ICR MS)

FT-ICR MS（フーリエ変換イオンサイクロトロン型質量分析装置）では、荷電粒子のサイクロトロン運動の回転周波数が電荷量に比例し粒子の質量に反比例する原理を用いて物質の質量を測定している⁽²³⁾。この独特な測定方法により、非常に高い分解能および質量精度、感度による分析が可能である。これらの高い性能によって、サンプル中の物質をLCなどの分離過程を経ず同時に検出できる。そのため分離過程が省略され、分析のハイスループット化が可能となる。

しかし、サンプルを直接MSに導入しメタボローム解析を行なう場合、イオンサプレッションの問題に直面する。直接導入法を用いたメタボローム解析では多くの化合物を同時に検出するため、イオンサプレッションを完全に抑えることはできない。同じサンプル濃度では同等のイオンサプレッションが起こると想定して、サンプル濃度をできるだけ揃えることによりサンプル間でのイオン強度の比較は可能となるが、この場合も分析間でのイオン強度の再現性を確認する必要がある。反復実験数の増加や時間依存性または濃度依存性実験なども、サンプル間におけるイオン強度の比較に有効であると考えられる。

また、FT-ICR MSはサンプルに混入する夾雑物も高感度に検出してしまうため、サンプルの取り扱いに注意が必要である。特に直接導入法を用いる場合、夾雑物によるイオンサプレッションが起こり、対象化合物が検出できなくなることもある。たとえば、サンプル抽出を有機溶媒によってプラスチックチューブ内で行なった場合、夾雑物として可塑剤由来のイオンが多数検出されてしまう。これを避けるために、できるだけプラスチックの代わりにガラス製品を用いるべきである。また、洗剤

由来の化合物もイオン化しやすいため、器具の洗浄には注意を要する。

FT-ICR MS は依然として発展途上の装置である。機器そのものが高価でかつ装置の取り扱いに特殊な技術を要することや、上記したようないくつかの問題点も存在する。しかし、その高い性能はメタボローム解析および化合物の構造推定に非常に有効なツールとなりうる。現在、LC や四重極を前段に接続した FT-ICR MS や、FT-ICR MS に検出原理に近い分析法である Orbitrap MS などの開発が進んでおり、今後の発展が期待される。

*

メタボロミクス分析では、あらかじめ測定対象を設けることなく、できる限り多くの代謝物の定量を目指す。このため、代謝物シグナルのレスポンスを見積もる際に内部標準法などの補正法に頼ることが難しいことから、実験誤差を極力小さくすることで高い精度の分析を行う必要がある。さらにデータ処理過程では、代謝物のシグナルの保持時間、化学シフト、質量値などが分析間で再現性良く検出されていることが正確な処理の前提となる。このような理由から、メタボロミクス分析ではデータの品質コントロール（カラムの劣化度・抽出誤差・誘導体化誤差・分析機器の品質維持など）に十分な注意を払わなければならない。得られた結果がメタボローム分析に適用可能な品質を維持できていると判断した場合のみ、次のデータの処理過程に進むことができる。データの処理法の現状は次回に解説する。

文献

- 1) R. A. Dixon, D. R. Gang, A. J. Charlton, O. Fiehn, H. A. Kuiper, T. L. Reynolds, R. S. Tjeerdema, E. H. Jeffery, J. B. German, W. P. Ridley & J. N. Sieber : *J. Agric. Food*

Chem., **54**, 8984 (2006).

- 2) S. Y. Lee, D.-Y. Lee & T. Y. Kim : *Trends Biotech.*, **23**, 349 (2005).
- 3) S. Ressi, Z. Ramadan, L. B. Fay & S. Kochhar : *J. Proteome Res.*, **6**, 513 (2007).
- 4) I. Pelczer : *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.*, **8**, 127 (2005).
- 5) T. Horiuchi, M. Takahashi, J. Kikuchi, S. Yokoyama & H. Maeda : *J. Magn. Reson.*, **174**, 34 (2005).
- 6) 菊地 淳, 赤嶺健二 : 分光研究, **55**, 320 (2006).
- 7) C. J. Tian, E. Chikayama, Y. Tsuboi, K. Shinozaki, J. Kikuchi & T. Hirayama : *J. Biol. Chem.*, **282**, 18532 (2007).
- 8) Y. Seikiyama & J. Kikuchi : *Phytochemistry*, **68**, 2320 (2007).
- 9) D. Sakellariou, G. Le Goff & J.-F. Jacqinot : *Nature*, **447**, 694 (2007).
- 10) Y. Maguire, I. L. Chuang, S. Zhang & N. Gershenfeld : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 9198 (2007).
- 11) L. Frydman & D. Blazina : *Nature Physics*, **3**, 415 (2007).
- 12) K. Golman, R. I. Zandt & M. Thaning : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 11270 (2006).
- 13) J. Lise, N. Schauer, J. Kopka, L. Willmitzer & A. R. Fernie : *Nature Protocol*, **1**, 387 (2006).
- 14) W. Wechwerth(ed.) : in 'Metabolomics Methods and Protocols', *Method Mol. Biol.*, **358**, Humana Press, 2007, p. 3.
- 15) W. Welthagen, R. Shellie, J. Spranger, M. Ristow, R. Zimmermann & O. Fiehn : *Metabolomics*, **1**, 65 (2005).
- 16) A. Williams, D. Ryan, A. Olarte Guasca, P. Marriott & E. Pang : *J. Chromatogr. B*, **817**, 97 (2005).
- 17) M. Kusano, A. Fukushima, M. Kobayashi, N. Hayashi, P. Jonsson, T. Moritz, K. Ebana & K. Saito : *J. Chromatogr. B*, in press.
- 18) T. Soga : *Method Mol. Biol.*, **358**, 129 (2007).
- 19) K. Harada, E. Fukusaki & A. Kobayashi : *J. Biosci. Bioeng.*, **101**, 403 (2006).
- 20) R. De Vos, S. Moco, A. Lommen, J. Keurentjes, R. Bino & R. Hall : *Nature Protocol*, **2**, 778 (2007).
- 21) 田口 良 : 蛋白質 核酸 酵素, **49**, 1911 (2004).
- 22) H. Yoshida, T. Mizukoshi, K. Hirayama & H. Miyano : *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 551 (2007).
- 23) D. G. Schmid, P. Grosche, H. Bandel & G. Jung : *Biotech. Bioeng.*, **71**, 149 (2001).

求人情報

山梨大学大学院医学工学総合研究部 医学工学融合学域・生体環境医工学系（生命工学系） 教員公募

募集人員：教授 1 名

専門分野：微生物培養工学に関する研究を意欲的に推進できる方

担当授業科目：微生物培養工学関係の学部講義および学生実験を担当可能な方

応募資格：博士の学位を有し、55 歳位までの方

着任時期：平成 20 年 4 月 1 日

応募書類：①履歴書（写貼，学歴は高等学校卒業以降について記載），②研究業績のリスト（原著論文，総説・解説，著

書に分類）および別刷またはコピー，③現在までの研究概要（1,500 字程度），④今後の研究，教育に関する計画・抱負（2,000 字程度），⑤健康診断書（国公立病院で 3 ヶ月以内に受診したもの），⑥本人について研究内容，人物の照会ができる方 2 名の氏名および連絡先（住所，Tel，E-mail アドレスなど）

応募締切：平成 19 年 11 月 28 日（水）必着

書類提出・問合せ先：〒400-8511 山梨県甲府市武田 4-3-11 山梨大学工学部生命工学科 選考委員長：宇井定春
Tel. 055-220-8538, E-mail : ui@yamanashi.ac.jp

※封筒に「生命工学分野教員応募書類」と朱書き，簡易書留で送付。原則として提出書類はお返しいたしません。