

安定同位体： $^{15}\text{N}_2$ -L-トリプトファンを用いたinvivo トレーサー実験法の確立

メタデータ	言語: jpn 出版者: 日本DOHaD研究会 公開日: 2015-05-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐野, 光枝, Ferchaud-Roucher, Véronique, Nael, Charlotte, Darmaun, Dominique メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2839

P-05 安定同位体 : 15N2-L-トリプトファンを用いた *in vivo* トレーサー 実験法の確立

○佐野 光枝¹, Véronique Ferchaud-Roucher³, Charlotte Nael³ and Dominique Darmaun^{1,*}

¹滋賀県大・生活栄養、²INRA・U1280 MR、³CRNH・Mass Spectrometry Core Facility (France)

【目的】 L-トリプトファン (L-Trp) は四つの異化代謝経路を持ち、セロトニン (5-HT) やナイアシンなどの重要な生理活性物質が作られる。これら四つの代謝経路は妊娠や疾患などによってそれぞれの経路に流れる比率が変化することが既に明らかになっているが、母体から胎児への影響については明らかになっていない。そこでまず微量のサンプルで複数の Trp 代謝産物を分析するために、我々は安定同位体ラベルと非ラベルの L-Trp と四つの代謝経路それぞれの中心となる代謝産物、5-HT, L-キヌレニン (L-Kyn), キノリン酸 (QA) の同時定量法を確立し、動物実験により分析精度を確認した。また同時に 15N2-L-Trp を用いたトレーサー実験法も実施確認した。

【方法】 ラベル及び非ラベルの L-Trp, L-Kyn, 5-HT, QA の同時定量は、GC/MS-NICI を用いて選択イオン検出法によって分離検出した。全ての測定物質はアシル化剤 pentafluoropropionic anhydride (PFPA)及び 2,2,3,3-pentafluoro-1-propanol (PFPOH)で誘導体化した。測定法の確立はヒト及びラットの血漿を用いて行った。動物実験は妊娠 13 日目の Wistar 系ラットを用いて 15N2-L-Trp (4 μ mol/kg/h) を 10 μ l/分の流速で頸静脈に導入し、経時的に尾部から採血して血漿を分析した。分析に用いる血漿の最少量は 20 μ L である。

【結果・考察】 GC/MS 分析におけるサンプル間の測定誤差は L-Trp : 5.2%, L-Kyn : 17.1%, 5-HT : 16.9%, QA : 5.8%, 15N2-L-Trp : 5.2% だった。血漿中の 15N2-L-Trp は 120 分でラトリーに達した。この時の血漿中のラベルされた L-Kyn, 5-HT, QA 含量を分析した結果、15N2-5-HT は 1.3%, 15N2-L-Kyn は 30%, 15N-QA は 0.05%の比率で代謝されて存在することが明らかとなり (n=6), 既に報告されている L-Trp から各代謝経路に流れる比率から推察して正しく分析されていると考えられる。本方法を用いて今後妊娠母体及び胎児のトリプトファン代謝について解析を行う予定である。