

HPLC-LTQ FT ICR MS を用いたヒト血漿メタボロミクス

(株式会社 JCL バイオアッセイ)

しおやましょうへい たかみともり ふじいかおり ごとうり え こ やまねなおえ むらいひさみ とづかぜんざぶろう
○塩山昇平・高見知徳・藤井香織・後藤理恵子・山根尚恵・村井久美・戸塚善三郎

Human plasma metabolomics with HPLC-LTQ FT ICR MS

(JCL Bioassay Corporation)

S. Shioyama, T. Takami, K. Fujii, R. Goto, N. Yamane, H. Murai, Z. Tozuka

Short Abstract: Metabolomics that analyzes the low molecular compounds such as organic acid metabolite and amino acid metabolite is paid to attention in the field of the biomarker retrieval of the medical treatment diagnosis and the etiology analysis. Metabolomics with mass spectrometer is actively done, and the software for the data analysis is developed. In this study, human plasmas were analyzed with HPLC-LTQ FT ICR MS.

Keywords: HPLC-LTQ FT ICR MS, Metabolomics, Data analysis Biomarker

緒言

生体中の有機酸やアミノ酸などの低分子化合物の代謝物を網羅的に解析するメタボロミクスは、医療診断や病因解析のバイオマーカー検索の分野において注目されている。特に近年の質量分析計の高感度化、高性能化に伴い、質量分析計を用いたメタボロミクス研究が行なわれるようになり、そのデータ解析ソフト（主に統計的処理による）の開発が盛んである。質量分析計を用いたメタボロミクス研究は網羅的に行われることが多く、膨大な量のデータ解析が必要である。さらに、その対象が比較的ノイズピーク多いとされる低分子であるため、解析は非常に煩雑である。リニアイオントラップ-フーリエ変換型の質量分析 (LTQ FT ICR MS) は精度の高いデータを得られるだけでなく、ノイズピークを減少させる効果が期待できる。本研究では HPLC-LTQ FT ICR MS を用い、ヒト血漿試料中の低分子化合物の分析を行った。本手法によるメタボロミクス研究の可能性について考察する。

実験

6 個体のヒト血漿を試料として用いた。ヒト血漿を除タンパク処理（有機溶媒添加もしくは固相抽出）し、測定試料を調製した。その測定試料を HPLC（逆相クロマトグラフィー）-LTQ FT ICR MS に注入し、マススペクトルを得た。得られたマススペクトルは解析ツールを使用して個体間で比較し、メタボロミクス研究の可能性について考察した。複数試料で共通に検出されたイオンについては、データベース検索などを用いて同定を試みた。

結果

6 個体のヒト血漿を有機溶媒（アセトニトリル）添加により除タンパク処理した試料をポジティブイオンモードで測定した時のクロマトグラムを Fig.1 に示す。全ての試料において保持時間 20 分から 30 分の間に大きなピークが検出され、各試料間での大きな違いは見られなかった。一方、シグナル強度（イオン強度）10 万以上のイオンを対象（約 2000 種）とし、各試料に共通して検出されたイオン種についてまとめたグラフを Fig.2 に示す。6 個体で共通に検出されたイオンは全体の 6%、5 試料に共通は 3% と少なく、試料特異的なイオンが多く存在することが確認でき、共通に検出されるイオンはイオン強度が比較的強く、試料特異的なイオンは弱い傾向があることが認められた。

発表ではネガティブ測定の結果についても触れ、試料の測定法やデータ解析法についてバイオマーカー検索への適用可能性について考察する。また、共通に検出されたイオンについてのデータベース検索結果も報告する。

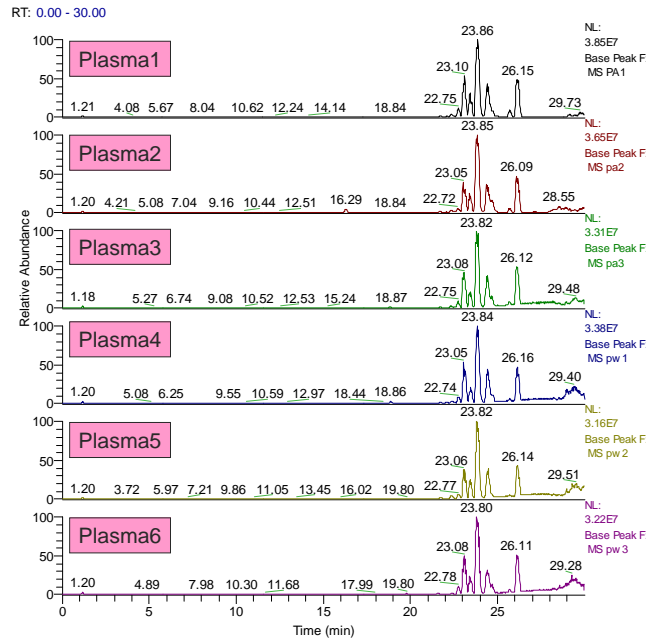


Fig.1 Chromatograms of pre-treated he human plasma samples (Deproteinization by adding acetonitrile).

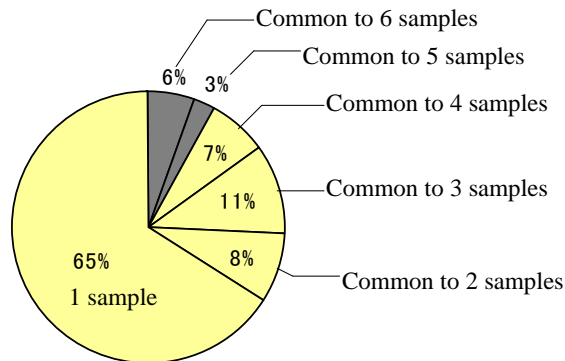


Fig.2 Ionic species detected in each sample