

演題名 MALDI-TOF 質量分析による血清リン脂質分析の基礎的研究

氏名 ○滝脇正貴¹⁾、見谷敦司¹⁾、菅野光俊²⁾、川崎健治²⁾、山内一由²⁾、本田孝行^{2) 3)}、日高宏哉¹⁾

所属 1) 信州大学医学部保健学科、2) 信州大学病院臨床検査部、3) 信州大学医学部病態解析診断学

【目的】

リン脂質は、構造中にリン酸エステル部位をもつ複合脂質であり、グリセロリン脂質とスフィンゴリン脂質に分類される。これらのリン脂質は生体内で細胞膜、血清リポ蛋白、神経鞘を構成する成分として生体内に広く分布しており、細胞間の認識、細胞の成長の調節、免疫作用の発現などに重要な役割を果たしている。また、リン脂質は代謝過程で酵素などにより水解され、ホスファジルコリン(PC)の水解産物にはリゾホスファジルコリンやホスファチジン酸などがある。一方、スフィンゴミエリン(SM)はセラミド、スフィンゴ1リン酸などに水解される。これらの水解産物は脂質代謝の調節や細胞機能調節など多彩な生理活性を示す脂質メディエーターとして考えられている。臨床検査において、血清中の総リン脂質は定量されているが、リン脂質の分画についてはほとんど分析されていない。血清中の各リン脂質は種々の生理機能を有しており、リン脂質の分画について分析することは重要である。今回、MALDI-TOF-MS装置を用いた質量分析法により、血清PCとSMの亜分画分析の基礎的研究を行った。

【材料と方法】

1. 試料調製

SM、PCをそれぞれクロロホルム-メタノール(2:1 v/v%)に溶解し、それぞれ1 mg/ml 溶液を調整し、SM、PC試料溶液として使用した。

2. 質量分析

試料1 μ l と 2,5-Dihydroxybenzoic acid (DHB)マトリックス剤1 μ l を混和し、その混合試料1 μ l を MALDI-TOF-MS のサンプルプレートに添加して、自然乾燥させた。マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置(MALDI-TOF-MS)は Voyager DE STR (3.0m 飛行チューブ長)、解析は DE-

workstation(ともに PerSeptive Biosystems, Framingham, MA)を用いた。

【結果】

- SMの質量分析では、 m/z 669、 m/z 703、 m/z 725 のピークが検出され、それぞれSM12:0[Na]⁺、SM16:0[H]⁺、SM16:0[Na]⁺に相当する質量であった。PCの質量分析では、 m/z 758、 m/z 760、 m/z 780、 m/z 782、 m/z 786、 m/z 788、 m/z 808、 m/z 810 のピークが検出され、それぞれPC C16 C18:2[H]⁺、PC C16 C18:1[H]⁺、PC C16 C18:2[Na]⁺、PC C16 C18:1[Na]⁺、PC C18 C18:2[H]⁺、PC C18 C18:1[H]⁺、PC C18 C18:2[Na]⁺、PC C18 C18:1[Na]⁺ に相当する質量であった。
- SMとPC試料の等量混合試料の質量分析で、SMとPCのピーク比(SM/PC)の再現性は、 0.86 ± 0.05 (mean \pm SD)、CV=5.8%であった。また、同じPCの分子である m/z 758 と m/z 760 のピーク比は 0.40 ± 0.02 、CV=5.0%であった。
- SMとPCの混合割合を変化させた混合液を調整した試料ではSMとPCのピーク比と混合比に直線性が認められた。

【考察】

MALDI-TOF-MS装置を用いた質量分析は、異なる分子種では定量性が得られないが、PCやSMなど同じ分子骨格をもち、脂肪酸組成が異なるような分子種間の分析では定量的に測定できた。SM/PC比の再現性や混合比率の異なる試料でも良好に測定され、MALDI-TOF-MSによるリン脂質分析は定量的に評価ができると考えられた。

【結語】

MALDI-TOF-MS装置を用いた質量分析法による血清PCとSMの亜分画分析において、脂肪酸組成の異なるSMおよびPC分子が容易に同定され、生体試料の分析において定量的な分析が可能であった。