[TECHNOLOGY BRIEF]

脂質バイオマーカープロファイリングにおけるイオンモビリティ技術の適用

目的

UPLC®/HDMS^E ワークフローを用いた、複雑な生体サンプル中の様々な脂質クラスの同定の自動化

はじめに

脂質は構成要素やエネルギーの貯蔵庫等細胞膜で様々な生物学的機能を有します。
最近の研究では脂質はシグナル伝達分子としての役割や、バイオマーカー、様々な病気の診断検査への適用の可能性が報告されています。質量分析計を用いた脂質のプロファイリング分析手法はサンプル導入法から検出法まで様々な手法が取り入れられています。
ダイレクトインフュージョン法や順相クロマトグラフィー法は簡便性、適用性の点から歴史的に幅広く用いられてきました。また同様の観点より質量分析計は整数質量装置が用いられてきました。しかし、脂質の分析は、複雑な生体サンプルを扱うため、生体試料中に存在する高濃度の脂質によるイオン化抑制や低濃度の脂質、類似成分の分離と定量が課題となっていました。
このテクノロジーブリーフでは、逆相 UPLC と精密質量 MS 検出器を用いたこれまでの課題に対して SYNAPT® G2/SYNAPT G2-S システムを用いたシンプルで、総合的な UPLC/TOF HDMS^E ワークフローソリューションの脂質分析への適用例をご紹介します。今回はウシの肝臓中の全脂質のプロファイリング分析例をご紹介します。

UPLC 分離テクノロジー、イオンモビリティと脂質に特化したデータ解析の統合は、脂質プロファイリングにおいて新たな発見をもたらします。

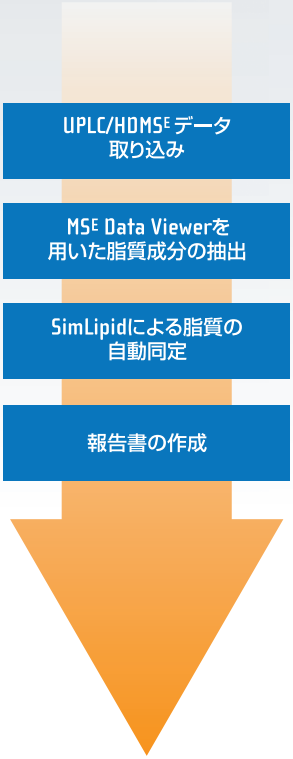

図 1　脂質分析におけるウォーターズのバイオマーカーワークフロー

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ソリューション

サンプルは、ウシ肝臓からの抽出液（5 mg/mL Chloroform/methanol=2/1）を isopropanol/acetonitrile/water=50/25/25 で希釈し 0.1 mg/mL に調製したサンプルを用いました。簡便で頑健なメソッドを用いて非常に複雑なマトリックスに含まれる脂質の高精度のデータ抽出が可能かを確認しました。SYNAPT G2 システムの UPLC/HDMS^E 手法で一回の測定において、定量及び定性データの取得を行いました。UPLC メソッドは、ACQUITY UPLC HSS T3 カラムを用い、分析時間は 15 分でした。図 2 にイオンモビリティ分離（IMS）も含めた分析結果を示しました。イオンモビリティという新しい分離の次元で類似成分がサイズや形状により分離していることが分かります。

HDMS^E 取り込み手法は、パラレルに低コリジョン電圧と高コリジョン電圧でデータ取得を実行し、サンプル中の検出される全ての成分に対してプレカーサイオンとフラグメントイオン情報を得る事ができます。また HDMS^E のデータは Apex 4D ピークピッキングアルゴリズムを用いて低コリジョン電圧（プレカーサイオン）*m/z* と高コリジョン電圧（フラグメントイオン）*m/z* を保持時間、ドリフト時間を元に紐付けを行います。また MS^E Data Viewer ソフトウェアを用いて解析結果を視覚的に確認することが可能です。さらに 22,000 以上の脂質データベースをもつ脂質専用データベース SimLipid に直接リンクし、簡便に取得データ情報をエクスポートすることができます（図 3）。

SimLipid を図 1 に示すように脂質のプロファイリングのワークフローに組み入れることにより、自動で HDMS^E データのプレカーサイオンとフラグメントイオン情報を用い、サンプル中に含有する脂質を自動検索することができます。データベース検索結果は in-silico でのフラグメントイオンと実際に観測されたフラグメントイオンから計算されるマッチ度を元にスコア計算されます。この結果は csv、xls、HTML ファイル等様々な形式でエクスポートすることができます。

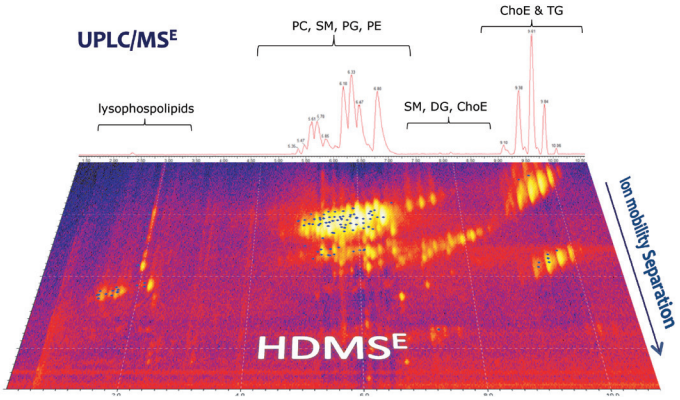

図 2　イオンモビリティの新しい分離次元によってサンプル中のピークキャパシティーがさらに向上しました

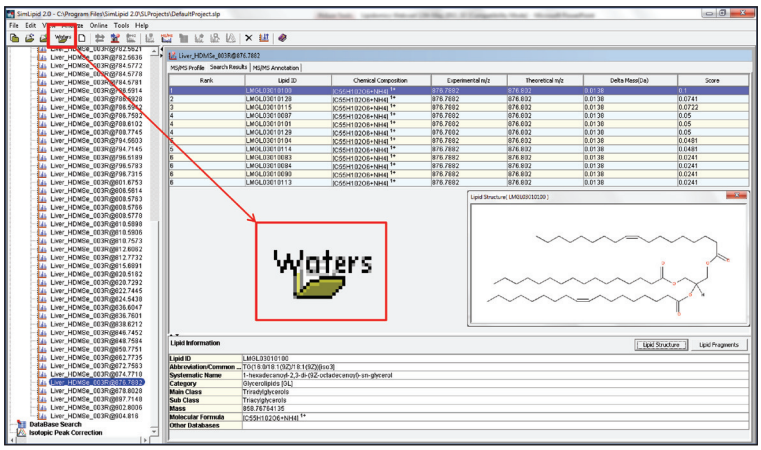

図 3　プレカーサイオンとフラグメントイオンの精密質量情報を用いた脂質の同定結果（SimLipid）。データは MS^E Data Viewer からエクスポートすることができます。

まとめ

ワークフローに則った分析を行うことで、脂質分析の分離、同定、特性の評価を簡便に行うことができました。また、この分析結果から未知の脂質同定スピードの効率化を図ることも可能です。

逆相クロマトグラフィー、MS^E、IMS 分離（HDMS^E）を組み合わせる事により、類似 / 異性体成分の多い複雑な脂質分析のさらに詳細な同定が可能となります。UPLC/HDMS^E ソリューションは複雑な脂質プロファイリング分析において、簡便で頑健、再現性の高いデータをご提供することができます。

適用規格：JISQ9001：2008（ISO9001：2008）
登録番号：JMAQA-331 登録日：1999年05月31日
審査登録範囲：理科学機器（液体クロマトグラフ・質量分析装置・データ管理システム等）の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

Waters、SYNAPT、ACQUITY UPLC、および UPLC は Waters Corporation の登録商標です。The Science of What' s Possible および HDMS は WatersCorporationの商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社　www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001　東京都品川区北品川1-3-12第 5 小池ビル　TEL 03-3471-7191　FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011　大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F　TEL 06-6304-8888　FAX 06-6300-1734
ショールーム　東京　大阪
テクニカルセンター　東京　大阪　名古屋　福岡

©2011 Waters Corporation. Printed in Japan. 2011年10月 720004000JA 06A (H)