

定量的血漿プロテオミクスにおける血漿前処理用抗体カラム使用への提言：
Fluorogenic Derivatization-Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method
(FD-LC-MS/MS 法) を用いて

○一番ヶ瀬 智子¹, 今井 一洋¹(¹武蔵野大薬)

【目的】 血漿試料中のタンパク質解析では、大過剰に存在するアルブミンなどを除去する前処理操作の導入が必要不可欠である。中でも、抗体親和性カラムを用いた手法は最も汎用性が高いため、この手法を当研究室で開発されたプロテオーム解析法 (FD-LC-MS/MS 法)^{1,4} の血漿前処理法として導入し、本法の血漿プロテオミクスへの展開を試みた。しかし、処理回数増加に伴い、その除去率に変動がみられたので、本研究では、市販の抗体カラムの長期間使用における再現性試験並びに除去率の変化した充てん剤の表面分析を行った⁵。

【方法】 抗体カラムは、アルブミン等 12 種類のヒト血漿中メジャータンパク質を除去する IgY 充てんカラムである (Seppro Tip, Gen Biotech, Inc.; 推奨使用限界回数: 30 回)。カラムへの特異的・非特異的吸着率を定量的に算出するため、測定対象として SDS 用分子量マーカーを用いた。始めに、分子量マーカーを未処理の抗体カラムで処理し、FD-LC-MS/MS 法へ供した。次に、カラムの長期間使用における再現性を評価するため、ヒトコントロール血漿を抗体カラムで 10 回及び 20 回処理した後に、分子量マーカーを抗体カラムで処理、発蛍光誘導体化 (FD) 反応後、HPLC-蛍光検出へ付し、吸着率を算出した。抗体カラムによる前処理は全て取扱説明書に従って行った。

【結果及び考察】 抗体カラムへの特異的な吸着率 (アルブミン) は 83.9% である一方、18.3-45.9% の非特異的吸着が観測された。また、各分子量マーカータンパク質の吸着率は、抗体カラムの使用回数の増加に伴い変動した。この充てん剤の吸着力の変化を、分子量との相関並びに、充てん剤の電子顕微鏡及び MS による表面分析により解析した結果を報告する。

1. Asamoto H. et al., *J. Chromatogr. A* 2008, **1208**, 147-55. 2. Imai K. et al., *Biomed. Chromatogr.* 2008, **22**, 1304-14. 3. Ichibangase T. et al., *Biomed. Chromatogr.* 2008, **22**, 232-24. 4. Ichibangase, T. et al., *J. Proteome Res.* 2007, **6**, 2841-9. 5. Ichibangase T. et al., *Biomed. Chromatogr.* 2008, (www.interscience.wiley.com) DOI 10.1002/bmc.1139