

# 28P-pm07S

前処理自動化と質量分析を組み合わせたハイスループット MRM 法の開発

○米山 敏広<sup>1</sup>, 大槻 純男<sup>1,3</sup>, 尾野 雅哉<sup>2</sup>, 大峰 健<sup>1</sup>, 内田 康雄<sup>1</sup>, 立川 正憲<sup>1</sup>, 寺崎 哲也<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東北大院薬, <sup>2</sup>国立がん研セ, <sup>3</sup>熊本大院薬)

【目的】現在、LC-MS/MS を用いたバイオマーカータンパク質定量に基づく臨床診断が望まれているが、1)前処理が煩雑であり、2)LCによる分離に時間を要するためスループット性が低いことがボトルネックとなっている。そこで本研究では自動分注装置を用いた前処理自動化法を構築し、LC-MS/MS の条件を最適化することでスループット性の高いタンパク質定量技術を開発することを目的とした。

【方法】血漿を自動前処理ロボットを用いて前処理し、UPLC-MS/MS (MRM mode) を用いて定量した。なお、本研究は東北大学薬学部および国立がん研究センターの双方の倫理委員会の承認を受けて行った。

【結果・考察】UPLC-MS/MS を用いて、膵臓癌マーカー候補タンパク質の水酸化修飾  $\alpha$ -fibrinogen に対して定量法を確立した結果、28min/run で 50-5000fmol/injection で検量線が直線性 ( $R^2=0.99$  以上)を示した。本手法により従来の HPLC-MS/MS (120 min/run)に比べ 4 倍のスループットを実現した。また、自動前処理ロボットを用いて 1 日 192 サンプルの血漿前処理を行う手法を構築した。同一血漿を前処理・定量した結果、ばらつきとして 8.4% (%CV, n=40)の高精度な定量技術を実現した。確立した手法を用いて膵臓癌血漿 70 例および健常者血漿 27 例の定量解析を行った結果、水酸化修飾  $\alpha$ -fibrinogen は健常者に比べ膵臓癌患者で優位に高値を示した。さらに CA19-9 に陰性な Stage I/II の早期患者 8 例の内、6 例を診断可能であった。このことから本手法を用いて水酸化修飾  $\alpha$ -fibrinogen が CA19-9 に陰性な早期膵臓癌患者診断に有効であることが明らかとなった。本手法は 1 ヶ月で 1500 検体の定量が可能なスループット性の高い手法であり、将来的な LC-MS/MS を用いた臨床診断への貢献が期待される。