

## 4種のマウス組織におけるリン脂質解析

複合脂質であるリン脂質は、糖脂質やコレステロールとともに細胞膜の主要構成要素として脂質二重層の形成に大きな役割を担っています。また細胞膜を構成する以外にも、脂質代謝によるエネルギー産生、脂質の運搬、シグナル伝達に関与する脂肪酸の供給源としても機能しています。このように生体内でさまざまな役割を担うリン脂質ですが、その構造を構成している特徴的なヘッドグループおよび脂肪酸の組み合わせから、その数は膨大なものとなります。網羅的に脂質分子種を分析する lipidomics の分野では、リン脂質の *m/z* ヘッドグループに由来する特徴的なプロダクトイオン、各脂肪酸に由来するプロダクトイオンなどの情報をもとに、データベースを利用した定性分析がしばしば行われます。本稿では、マウス由来の脳、脾臓、肺、肝臓組織を対象として、トリプル四重極型質量分析装置によるプリカーサーイオンスキャン (PIS) あるいはニュートラルロススキャン (NLS) によるリン脂質分析を行いました。また候補リン脂質の推定にあたっては、PREMIER Biosoft 社 ([www.premierbiosoft.com](http://www.premierbiosoft.com)) の SimLipid ソフトウェアを使ったデータベースサーチの結果をもとに行いました。4つの異なる組織抽出物からは、各組織に特徴的なリン脂質成分が確認されており、SimLipid ソフトウェアによるデータベースサーチの有効性が確認されました。

### ■ 試料調製および分析

マウスの各組織からの脂質抽出はメタノールにより行いました。調製した組織抽出液は、メタノールにて適宜希釈した後、LCMS-8060 を用い、プリカーサーイオンスキャン (PIS) およびニュートラルロススキャン (NLS) によるリン脂質分析を行いました。このときの LC および MS 分析条件は Application News C151 と同じ分析条件にて分析しています。図 1 a) では、代表的な脂肪酸として (16:0)、(18:0)、(18:1)、(20:4)、(20:5)、(22:4)、(22:5)、(22:6) を対象とした PIS を各組織に対して行った分析結果を示しました。また b) では、PC および SM に由来するヘッドグループを対象とした PIS の分析結果を示しました。b) の結果からは、PC および SM に相当するリン脂質の各ピークが検出されており、a) からはその他のリン脂質由来、また中性脂質由来と想定されるピークも散見されました。

M. Yamada, T. Nakanishi

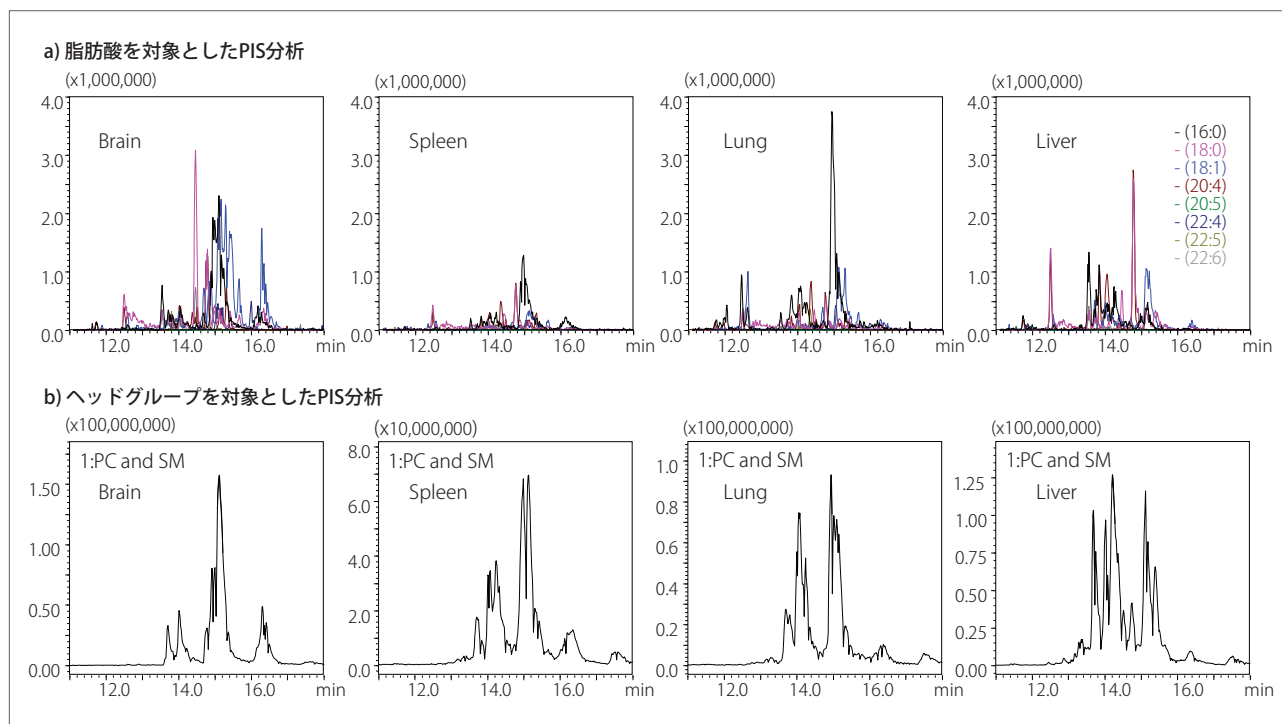


図1 脂肪酸およびヘッドグループを対象とした PIS 分析のクロマトグラム (脳、脾臓、肺、肝臓)

## ■ SimLipid ソフトウェアによるリン脂質推定

PIS および NLS 分析結果に基づいて、検出された各ピークのリン脂質を推測するために、SimLipid ソフトウェアを用いたデータベースサーチを行いました。まず、LCMS-8060 の分析データを SimLipid ソフトウェアにて直接読み込んだ後、各試料ごとに PIS および NLS 分析によって検出されるピーク強度を算出しました。設定された質量値に対する Tolerance、アダクトイオンの有無、プロダクトイオンの選択（脂肪酸あるいはヘッドグループ）に基づいて、SimLipid ソフトウェアによるデータベースサーチを実施しました。SimLipid ソフトウェアは、1793 種の脂肪酸と 34 種のヘッドグループに対応した 5227 の PIS/NLS セットによって帰属される 1023 種のリン脂質がデータベースに登録されており、事前に設定した条件によって検出されたピークとデータベースとの照合を行います。図 2 は肺組織の分析結果をデータベース検索した例を示しています。ここでは、該当ピークに対する各リン脂質クラスの情報と脂肪酸の炭素数および二重結合の総数がデータベース検索の結果、推定されています。また各試料 (n=4) の該当ピーク強度積算値 (Total Abundance) が表示されています。

## ■ 4 つの組織におけるリン脂質

データベース検索の結果、各組織において推測されたリン脂質のうち、いずれの組織サンプルにおいても確認されたリン脂質について、そのピーク強度 (Total Abundance) をプロットしました (図 3)。図 3 からは、それぞれの組織に特徴的なリン脂質の存在が確認されます。例えば、肺の表面張力を減少させる機能を有する肺サーファクタントの主要成分として PC (32:0) が知られていますが、PC (32:1) もまた多く含まれています。脳の大脳皮質にはパルミチン酸 (16:0) やオレイン酸 (18:1) を含むホスファチジルコリンが多く存在することが知られていることから、脳で顕著に観測された PC (34:1) の脂肪酸組成がこれら 2 つの脂肪酸であることが推測されます。また、今回の結果からは肝臓組織においてリン脂質の多様性が顕著であることが確認されました。

このように SimLipid ソフトウェアを使ったデータベース検索を行うことによって、膨大なリン脂質の中から試料中に含まれるリン脂質を推定することが可能となります。

Select	Short Name	#C.#DB	Class	IS Name	Amount of IS	s1_s4			
						Obs. Int.	Corr. Int.	Total Abundance	
<input checked="" type="checkbox"/>	PC(30:0)	30:0	PC		61089619.0	14999235.8522	21975379.739	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PC(32:0)	32:0	PC		1247009420.0	228694368.8178	342669922.9437	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PC(32:1)	32:1	PC		1065751519.0	266437879.75	399117613.8931	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PC(34:1)	34:1	PC		758662629.0	169878748.7318	260249703.0024	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PC(34:2)	34:2	PC		508219742.0	127054935.5	194593552.8184	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PC(36:2)	36:2	PC		9217418.0	2009447.4147	3147405.7852	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PC(36:4)	36:4	PC		323875785.0	80968946.25	126756044.7763	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PC(38:4)	38:4	PC		128641844.0	30458885.824	48763806.748	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PC(38:5)	38:5	PC		60312104.0	15078026.0	24133287.1098	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PG(20:3)	20:3	PG		464060.0	116015.0	151473.547	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PI(17:2)	17:2	PI		117587.0	29396.75	37202.8762	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PI(29:1)	29:1	PI		72844.0	18211.0	26439.2427	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PI(30:4)	30:4	PI		27764.0	6941.0	10182.6655	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PI(36:4)	36:4	PI		273695.0	68423.75	107364.1551	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PI(38:3)	38:3	PI		293395.0	43273.5191	69455.46	No int	
<input checked="" type="checkbox"/>	PI(38:4)	38:4	PI		1482262.0	370565.5	594617.6533	No int	

図 2 SimLipid によるデータベース検索の一例 (肺組織)

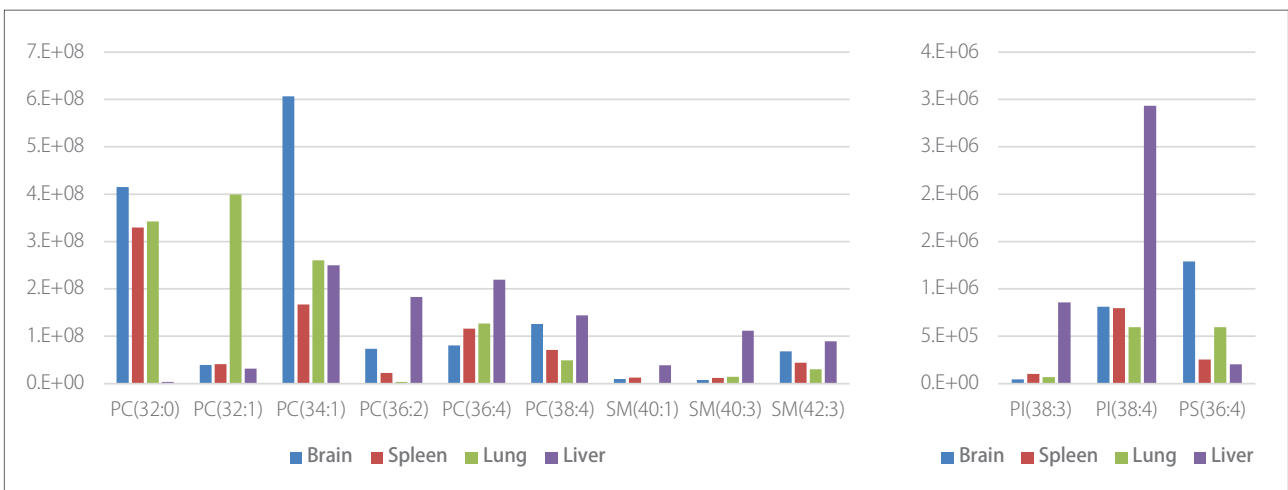


図 3 4 つの組織におけるリン脂質の "Total Abundance"