

Application News

No. B97

MALDI-TOF 質量分析法

卓上型 MALDI-TOF MS による がん細胞のプロファイリング

がん細胞は、細胞外小胞を介して全身の細胞とやり取りを行っています。細胞外小胞は体内を循環し、悪性の表現型につながる分子情報を伝達します。

大腸がん転移リンパ節細胞をフルオロウラシルと共培養することにより、化学療法抵抗性を増した細胞を樹立しました。この細胞の培養上清から超遠心分離によって回収した細胞外小胞を、体液中を循環するがん細胞由来バイオマーカーのモデルとして用いました。

本稿では、がん細胞の化学療法抵抗性の上昇の結果として生じる細胞外小胞のタンパク質の発現レベルの違いを MALDI-TOF MS でプロファイリングした例を紹介し¹⁾。
M. Nairn (K. Shima)

試料の前処理

原発性大腸がん由来の細胞外小胞と細胞抽出物、5、25、125 μ M の 5-fluorouracil (FU) に耐性を持つリンパ節転移サブクローンはウィーン医科大学の Dr. Gerald Stübiger より提供されました。

卓上型 MALDI-TOF 質量分析計 MALDI-8020 を用いて細胞外小胞のマスペクトルを取得しました。マトリックスは CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) を用いました。取得したマスペクトルを用いて、統計解析ソフト eMSTAT SolutionTMによる多変量解析を行いました(図1)。部分的最小二乗判別分析(PLS-DA)を用いることによって、異なる細胞集団からなる細胞外小胞を識別できるタンパク質パターンを得ることができました。

結果

細胞外小胞サンプルのマスペクトル例を図2に示します。 m/z 2,000-25,000 の範囲に主にタンパク質に由来する成分が検出されました。本アッセイにおける MALDI-TOF MS の測定感度は低 μ g/mL ($1.2 \sim 5 \times 10^{10}$ particles/mL) のレンジでした。

データ取得後、得られたピークリストを eMSTAT Solution ソフトウェアにインポートし、多変量解析を行いました。Score Plot (図3右下) はフルオロウラシルに耐性があるグループと感受性があるグループを識別可能なことを示しています。各細胞外小胞のマスペクトルは、別グループとは明瞭に識別される特異性を有しています。Peak Matrix (図3左下) は各グループに特異的に検出されるピークを示しています。Peak Matrix は、そのグループのすべてのマスペクトルで検出されているピークを赤色のセル、一部のマスペクトルのみ検出されていないピークをピンク色のセル、全てのマスペクトルで検出されていないピークを緑色のセルで表しています。 m/z 2,000-7,000 の範囲に検出されるピークが、化学療法抵抗性を特徴づける上で最も有用でした。



図1 細胞外小胞分析のワークフロー

結論

がん細胞の細胞外小胞のプロファイリングを行うことにより、卓上型 MALDI-TOF MS と統計解析ソフトウェア eMSTAT Solution を組み合わせたシステムを用いてバイオマーカー探索研究を行える可能性を示すことができました。

MALDI-TOF MS を用いたタンパク質プロファイリング法は、将来の低侵襲がん診断と化学療法モニタリング、例えば生検なしでの治療抵抗性の早期検出のための新しいツールとして役立つことが今後期待されます。

参考文献

- 1) Stübiger, G. et al, MALDI-MS Protein Profiling of Chemoresistance in Extracellular Vesicles of Cancer Cells, Analytical Chemistry, 90, 13178-13182 (2018)

本製品は研究用途にのみ使用可能です。医薬品医療機器等法に基づく医療機器として承認・認証を受けておりません。治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。

Shimadzu MALDI-8020:
Processed data (averaged): 2.6 mV (sum=256.6 mV), Smoothed = 60, profiles # 1 - 100

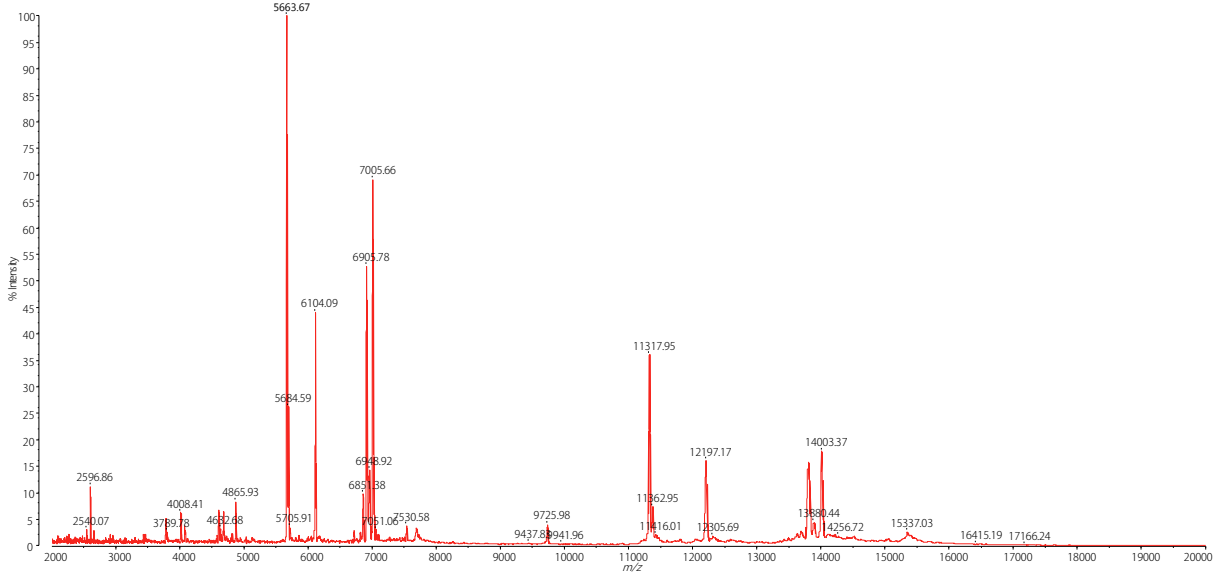


図2 原発性大腸がん由来する細胞外小胞タンパク質のマススペクトル

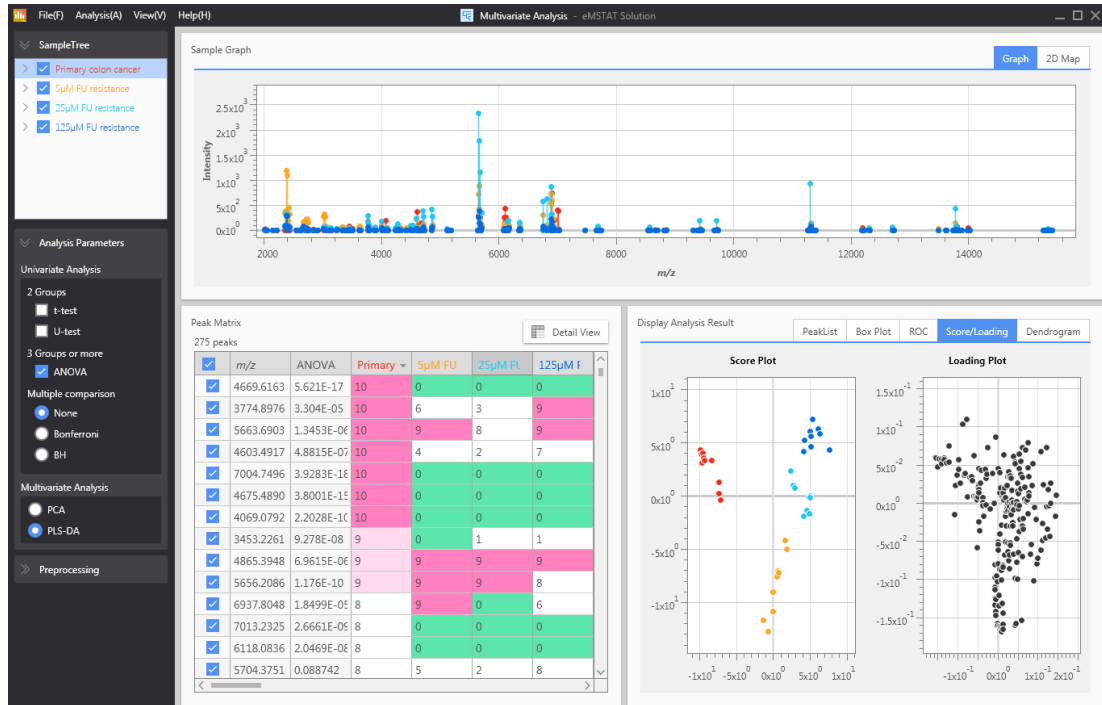


図3 4つの細胞外小胞グループのPLS-DA分析結果

● 原発性大腸がん ● 5 µM フルオロウラシル耐性 ● 25 µM フルオロウラシル耐性 ● 125 µM フルオロウラシル耐性

eMSTAT Solution は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年5月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。