

植物科学最先端研究拠点ネットワーク

「LC-MS を用いたメタボローム分析」支援について (ver.1.0)

理化学研究所 PSC
メタボローム機能研究グループ

主旨

理化学研究所は、文部科学省最先端研究基盤事業「植物科学最先端研究拠点ネットワーク」の研究支援の1つとして、LC-MS を用いたメタボローム分析を行います。本研究支援は共同研究として実施させていただきます。以下の注意点をよくお読みいただいたうえで担当者までお問い合わせください。

対象代謝物

二次代謝産物

使用機器

LC-PDA-QTOF-MS

液体クロマトグラフィーフォトダイオードアレイ飛行時間型質量分析計

LC 部 Acquity UPLC (Waters)

PDA 部 Acquity PDA e λ (Waters)

MS 部 Xevo G2 QTof (Waters)

支援技術

①Metabolomic fingerprinting

多変量解析 (PCA など) によるサンプルラインの比較解析

②Metabolomic profiling

多変量解析 (PCA など) によるサンプルラインの比較解析

Annotation (注釈) 情報の付与

③Flavonoid-targeted profiling

フラボノイドをターゲットとしたサンプルラインの比較解析

Annotation 情報の付与

研究支援の流れ

①研究支援の事前連絡 (貴研究室→当チーム)

目的、対象、サンプル数

②事前打ち合わせ

必要情報、納期の確認など

③利用申請書提出（貴研究室→事務局）

④採択の連絡（事務局→貴研究室）

支援開始

⑤プレサンプルおよびサンプル提供(貴研究室→当チーム)

新規の場合はプレサンプル必須

⑥測定結果(当チーム→貴研究室)

定性データ（Identification あるいは Annotation）

定量データ（Relative 値）

⑦結果の解釈(貴研究室→当チーム)

データの解釈のフィードバック、論文化の相談

分析の流れ

①サンプル準備

②サンプリング

Zirconia ビーズ入り 2 ml チューブに必要量（20-150 mg FW / 5-20 mg DW）サンプリング

反復は 6（推奨）

2 ml tube : Assist 2ml サンプリングチューブ（セーフシール） Cat.No. 72.695

5 mm ジルコニアビーズ : アズワン 品番 5-4060-13 型番 YTZ-5 直径 5 mm

③サンプルシート（下記）の作成（その他栽培条件等の必要情報の記入）

例)

Tube No.	Name	replicate	weight (mg)
1	Col-0	1	70.1
2		2	56.6
3		3	61.3
4		4	80.4
5		5	45.1
6		6	66.9
7	Mutant1-1	1	
8		2	
9		3	
10		4	
11		5	
12		6	
13	Mutant1-2	1	
14		2	
15		3	
16		4	
17		5	
18		6	

③送付・受け取り

送付の場合は、発泡スチロール箱に十分な量のドライアイスを入れてクール便で送付してください（乾燥体のものは通常便にてお送りください）。サンプルシートは別途メールにて中林にお送りください。

〒230-0045 横浜市鶴見区末広町 1-7-22

理化学研究所植物科学研究センター 中央棟 7 階 C719

③抽出

80%MeOH を加え、Beads mixer (Mixer mill) を 20 Hz 2 min で破碎後、フィルター過 (µelutionplate HLB, Waters) し、得られた溶液を使用

④LC-MS を用いたメタボローム分析

⑤データ解析

⑥結果の解釈

注意点

①②について

栽培・サンプリング方法等についての事前打ち合わせの後、貴研究室で行ってください。

納期

納期は、機器の予約状況によって異なりますので余裕をもった実験計画でお願い致します。

測定が困難な対象化合物及びサンプル

- ①極性溶媒と逆相カラムを用いた分析となりますので、その範疇ではない代謝物は分析できません。
- ②物理的に硬い、大きいなどの特性を持っているサンプルなどについても分析できない可能性があります。事前打ち合わせの際にサンプルの情報をお知らせください。場合によっては分析をお断りすることもあります。
- ③サンプル数が多い（100 以上）ものは事前に相談が必要です。あまりに多いとお断りする場合があります。
- ④大規模スクリーニングは行いません。
- ⑤明確な目的が無いサンプル分析はお断りします。

費用負担

サンプリングチューブとサンプル破碎用のビーズはご購入くださいますようお願い致します。サンプル送付にかかる費用も各自ご負担ください。

共著のお願い

解析結果を用いた発表をする場合（学会発表，論文投稿）は、下記関係者を共著者としていただきますようお願い致します。

中林 亮/Ryo Nakabayashi¹, 鈴木 実/Makoto Suzuki¹, 斉藤 和季/Kazuki Saito^{1,2}
1 理研 PSC/RIKEN Plant Science Center

2 千葉大大学院薬学研究院/Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University

謝辞のお願い

Acknowledgments 等に以下の文章の記載をお願いします。

This research was supported by Japan Advanced Plant Science Network.

参考文献

- Matsuda, F., Yonekura-Sakakibara, K., Niida, R., Kuromori, T., Shinozaki, K. and Saito, K., (2009) MS/MS spectral tag (MS2T)-based annotation of non-targeted profile of plant secondary metabolites. *Plant J.* 57, 555–577.
- Matsuda, F, Hirai, MY, Sasaki, E, Akiyama, K, Yonekura-Sakakibara, K, Provart, NJ, Sakurai, T, Shimada, Y, Saito, K. (2010) AtMetExpress development: a phytochemical atlas of Arabidopsis development. *Plant Physiol.* 152, 566-578.

連絡先

中林 亮 (ryona@psc.riken.jp) メタボローム機能研究 G 特別研究員

斉藤 和季 (ksaito@psc.riken.jp) メタボローム機能研究 G グループディレクター