

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	オンチップ誘導体化による単一生細胞質量分析法の高感度化				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	水野 初
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	轟木 堅一郎
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	杉山 栄二
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	水野 初

講演題目	オンチップ誘導体化による単一生細胞質量分析法の高感度化
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>ナノエレクトロスプレーイオン化 (nanoESI) 法によるダイレクト質量分析は、ESI 法と比べてキャピラリーの内径が小さいため、イオン化効率の高い、高感度な分析が可能である。そのため、極微量サンプルの測定に適しており、一細胞中の薬物や代謝物の分析が可能となる。しかし、細胞内に極微量しか存在しない多種多様な代謝物の変動を網羅的に解析するには感度の面で限界がある。特に、有機酸などの酸性代謝物をネガティブイオンモードで検出する際には、夾雑成分の影響により感度が著しく低下するという問題がある。本研究では、カルボキシ基を持つ酸性代謝物に対してカチオン性官能基を持たせるように誘導体化し、ポジティブイオンモードのみで種々の代謝物を高感度検出する方法を開発した。</p> <p>カルボキシ基を有するモデル化合物として、9 種類のアミノ酸の混合溶液を試料とし、誘導体化試薬や反応条件の検討を行った。誘導体化試薬はカルボキシ基と選択的に反応する (S)-1-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)pyrrolidin-3-amine を用いることとした。この試料溶液数百 nL を金属コーティングしたガラスキャピラリー (Cellomics Tip CT-1, 先端口径 3 μm, HUMANIX) に注入後、縮合剤と内標準物質の混合溶液、誘導体化試薬を順に加え反応させた。その後、ガラスキャピラリーを nanoESI プロブとして質量分析した。質量分析には三連四重極型質量分析計 (Xevo TQ-S micro, Waters) を使い、ポジティブイオンモード、選択的イオンモニタリングで測定した。9 種アミノ酸の混合溶液をキャピラリー内で誘導体化した試料を分析した結果、全てのアミノ酸誘導体が検出された。アラニンにおいては、誘導体化によってピーク強度が 2.1×10^4 から 6.6×10^6 に向上した。他のアミノ酸においても同様にピーク強度が約 100 倍向上し、誘導体化による感度向上が確認された。さらにヒトバーキットリンパ腫細胞株である Raji 細胞 1 個を顕微鏡観察下でガラスキャピラリー (Cellomics Tip CT-8 先端口径 8 μm, HUMANIX) 内に採取し、前述の操作で誘導体化を行い、細胞内代謝物の高感度検出を試みた。その結果、Raji 細胞 1 個からもアミノ酸や有機酸に由来する誘導体ピークが検出された。</p> <p>これらの結果から、キャピラリー内で誘導体化する本方法は、1 個の細胞から採取した微量試料の高感度分析を可能とし、生命現象の詳細な解明の一助となることが期待される。</p>