

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号： 1 1 3 0 1
研究種目： 奨励研究
研究期間： 2022 ~ 2022
課題番号： 2 2 H 0 4 2 4 8
研究課題名 TOF-SIMSによる有機分子の効率的イオン化を目指した前処理法の開発

研究代表者

穴戸 理恵 (Shishido, Rie)

東北大学・多元物質科学研究所・技術職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 440,000 円

研究成果の概要：TOF-SIMS分析において、検出感度の高い有機分子と、感度の低い有機分子を評価対象として選定し、これらの混在下における、それぞれの分子の検出感度を調査した。さらにこれらの混合試料に対して、イオン化を促進させる酸を濃度を変えて添加し、個々の分子の感度が最も向上する前処理条件を探索した。本研究により、有機分子そのものの検出感度は、複数の分子の混在化下において得られる感度と相関がないことがわかった。さらに有機分子の混在下では、分析対象の濃度に対して100-1000倍程度の添加剤を混合させることで、評価分子の感度が最も向上することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有機分子の可視化技術は、がんや感染症を調べるための病理診断に利用されている。本研究では、生体組織のような複数の分子が混在する分析対象に対して、個々の分子の検出感度が最も向上する前処理条件を確立することができた。

この成果により、これまで検出することが困難であった感度の低い生体分子の高感度分析が可能となった。さらに複数の分子の混在下における酸添加の効果に関する検討は、生体組織表面の有機分子の濃度分布を評価する手法へと展開できると考えられる。よって、このことから、この成果は、迅速かつ精密な病理診断の実現につながるものと期待できる。

研究分野： 表面分析

キーワード： TOF-SIMS イオン化 検出感度向上

1. 研究の目的

有機分子の可視化技術は、がんや感染症を調べるための病理診断に利用されている。飛行時間型二次イオン質量分析法(TOF-SIMS)は、高感度・高空間分解能な特徴を有する分析手法で、生体組織をはじめとする有機分子の化学構造解析や、その分布情報を評価する手段として用いられている。しかしながら、質量の大きな分子はイオン化しにくく、その検出感は低下する傾向にある。目的とする分子の明瞭な分布情報を得るためには、その感度を如何に向上させるかが重要となる。

有機分子は、プロトンを付加したかたちでイオン化することが多い。このことから、プロトン供給性の高い酸を添加剤として用いることにより、分析対象の感度を向上させる手法が確立されている。しかしながら、生体組織のように複数の分子の混在下における酸添加の効果についての検討は、十分になされていない。

そこで本研究では、検出感度の高いアミノ酸とその感度の低いリン脂質を評価分子として選定した。これらを混合した試料にプロトン供給性の高い酸を、濃度を変えて添加し、それぞれの分子の検出感度がどの程度向上するかについて調査した。

2. 研究成果

(1) 研究方法

評価試料の作製

検出感度の高い分子としてアルギニン ($C_6H_{14}N_4O_2$, 174.2 g/mol) を、感度の低い分子として DPPC ($C_{40}H_{80}NO_8P$, 734.0 g/mol) および DSPC ($C_{44}H_{88}NO_8P$, 790.1 g/mol) を選定した。DPPC とアルギニンは濃度比が、0:1、1:0、1:10、1:100、1:1000 となるよう、溶液を調製した。また、個々の分子のプロトン親和性を調べるため、プロトンの供与効果の高いクエン酸を添加剤として用いた。アルギニンと DPPC、DPPC と DSPC の濃度比を、それぞれ 1:1 となるよう調整し、これに対して、クエン酸を 1:1:10、1:1:100、1:1:1000、1:1:10000 の濃度比で調整した溶液を作製した。作製した溶液は、Si 基板上に滴下し、スピコート法により成膜した。

TOF-SIMS 分析

加速電圧 25 kV の Bi_3^+ を一次イオン種として選択し、正にイオン化した二次イオンを検出した。分析領域は $300 \times 300 \mu m^2$ とし、 128×128 pixels でランダムにビーム照射を行った。また、一次イオンのドーズ量は、 5.1×10^{11} ions/cm² とした。

検出感度の評価

評価分子の検出感度は、二次イオン収率を算出することで評価した。二次イオン収率は、得られた質量スペクトルから、それぞれの二次イオンのカウントを求め、これを一次イオンのドーズ量で除することより算出した。

(2) 研究結果

図 1 は、DPPC に対して異なる濃度のアルギニンを混合した試料から得られた、それぞれのインタクトイオンおよびフラグメントイオンの二次イオン収率である。両分子の混合試料では、アルギニンに由来する分子イオンのイオン化が DPPC により大きく抑制されていることがわかる。

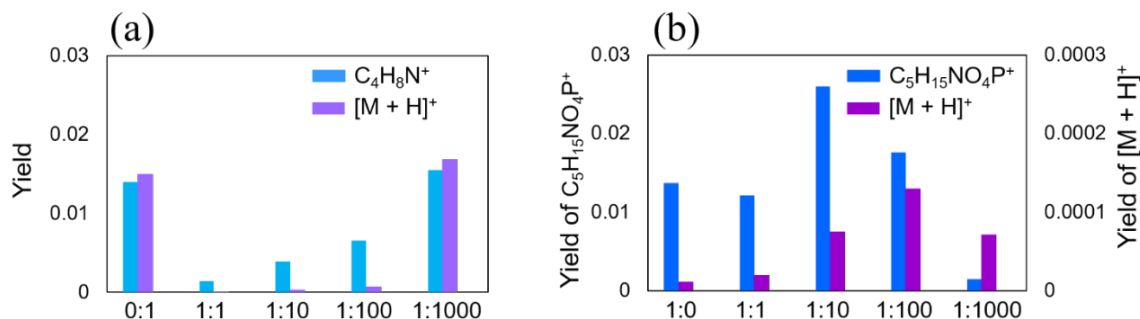


図 1 DPPC:アルギニン= 0:1、1:1、1:10、1:100、1:1000、1:0 から得られた(a)アルギニンおよび(b) DPPC 由来のインタクトイオンおよびフラグメントイオンの二次イオン収率

図2は、アルギニンとDPPCを1:1の濃度比で混合した試料に、異なる濃度のクエン酸を添加した試料から得られた二次イオン収率である。プロトン供与体の存在下では、アルギニンおよびDPPCに由来する分子イオンの検出感度は向上していることがわかる。このことから、クエン酸添加により、両分子のイオン化は促進されているものと考えられる。また、アルギニンは1:1:100において、DPPCは1:1:10000において、それぞれインタクトイオンの収率は最大となり、プロトン供与体の存在下では、DPPCの方が大きく検出感度が向上する結果が得られた。

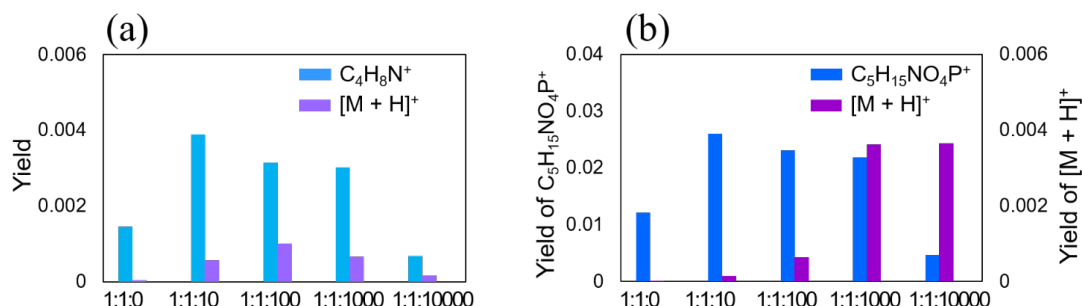


図2 アルギニン:DPPC:クエン酸 = 1:1:0、1:1:10、1:1:100、1:1:1000、1:1:10000 から得られた(a)アルギニンおよび(b) DPPC 由来のインタクトイオン、フラグメントイオンの二次イオン収率

DPPCとDSPCを1:1の濃度比で混合した試料に異なる濃度のクエン酸を添加した試料から得られた二次イオン収率を図3に示す。それぞれのインタクトイオンの二次イオン収率は、クエン酸の添加濃度が増加するにつれ向上し、ともに1:1:10000において、その値は最大値を示していることがわかる。

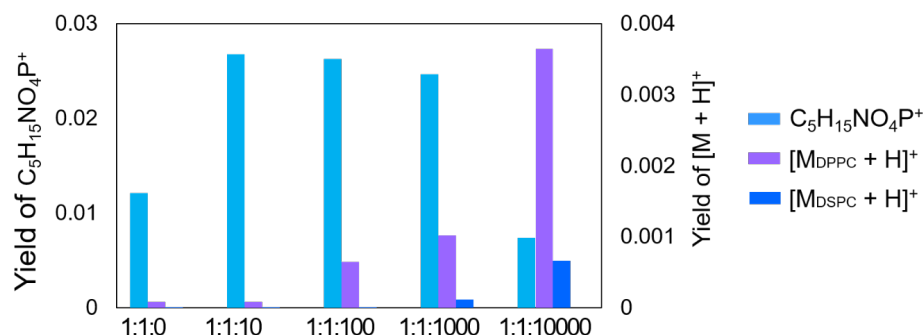


図3 DPPC:DSPC:クエン酸 = 1:1:0、1:1:10、1:1:100、1:1:1000、1:1:10000 から得られた(a) DPPC および(b) DSPC 由来のインタクトイオン、フラグメントイオンの二次イオン収率

以上の結果から、低分子量のアルギニンはDPPCと比較して検出感度が高い一方で、これらの混在下においては、アルギニンに由来する分子イオンのイオン化が大きく抑制されることが明らかとなった。これは、DPPCのフラグメントイオンであるPC head groupの高いプロトン親和性により、アルギニンのイオン化が抑制されたためと推察される。さらに、アルギニンとの混合により、DPPCのインタクトイオンの検出感度は向上していることから、アルギニンと比較してDPPCのインタクトイオンは、高いプロトン親和性を有する可能性が示唆された。クエン酸添加によるプロトン供与体の存在下では、アルギニンよりDPPCのインタクトイオンの二次イオン収率が高いことから、プロトンはアルギニンよりもDPPCへ付加しやすいものと考えられる。さらに、類似した構造を有するDPPCとDSPCについては、プロトン供与体の存在下において、分子量の小さいDPPCの方へプロトンが付加しやすい傾向があることが明らかとなった。

本研究により、有機分子そのものの検出感度と複数の分子の混在化下において得られる感度には、相関がないことが明らかとなった。この成果は、生体組織表面の有機分子の濃度分布を評価する手法へと展開できると考えられる。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Rie Shishido	4. 巻 -
2. 論文標題 Matrix-enhanced secondary ion mass spectrometry: Effects of aliphatic carboxylic acid matrices on the sensitivity enhancement of biological phospholipids	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surface and Interface Analysis	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/sia.7212	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名