

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：22604
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2012～2014
 課題番号：24550030
 研究課題名(和文)非解離レーザーイオン化法の開発による生理活性物質の選択的高効率検出と機構研究

研究課題名(英文)Laser Ionization of Biologically Active Substances Using Zeolites

研究代表者

藤野 竜也(Tatsuya, Fujino)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号：20360638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：元素レベルでの分析を行う場合、イオン化の際に試料分子を壊さず分子量によって解析が行える質量分析法が有効である。マトリクス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI法)は操作・試料調整が圧倒的に簡易であるため、飛行時間型質量分析装置と組み合わせ、様々な分野における解析法として利用されている。しかしながら1)イオン化効率が低い2)低分子量試料への適用が困難3)測定できない分子がある、などといった問題点も同時に持っている。本研究ではこのような問題点を解消するため、典型的な有機マトリクス分子と構造を持つ分子との複合体の作成を行い、生理活性物質の網羅的測定法を提供するための研究を行った。

研究成果の概要(英文)：Zeolites are crystalline aluminosilicates with nanometer-order cages. Zeolites have high catalytic activity due to the charge imbalance at the Si-O-Al bridging sites, and those sites are compensated typically by such cations as H⁺ and Na⁺. Hydroxyl (OH) groups having Brønsted acidity exist in H⁺-exchanged zeolite. It is well known that the Brønsted acid site is responsible for the various catalytic activities of zeolite. In our recent research, we discovered that zeolite was also applicable to mass spectrometric studies. We have developed a “zeolite matrix,” which is a complex of organic MALDI matrix and zeolite. We succeeded in observing large ion peaks of analyte. In addition, we found that zeolite matrix is applicable to biologically active substances, which cannot be detected by conventional MALDI. We are fully convinced that the zeolite matrix can further improve the applicability of MALDI-MS.

研究分野：分光分析学

キーワード：レーザーイオン化法 酸化物固体表面 ナノ微粒子 半導体 血清

1. 研究開始当初の背景

重大疾病が発病してから治療を行う現代医学ではなく、将来発病する可能性のある疾病を健康な状態のうちに把握し、発病を未然に防ぐ技術の開発が医療の進歩には欠かせない。これにはバイオマーカーと呼ばれる疾病の危険信号物質、一般には低分子量の生理活性物質(ホルモン、毒、麻薬、農薬等を含む)を、血液や尿の分析から把握する作業が必要です。血液や尿中には目的分子だけでなく多量の不純物が含まれており、分光法による電子や振動状態の情報だけでは物質を同定することは困難であり、また同様に電気化学的手法を用いても分析は困難である。このような場合、試料を非解離で観測し、その分子量を特定できる質量分析法が威力を発揮する。質量分析法では、小数点以下数桁の精度で分子量を決定することが可能であり、その場合、原子組成から分子構造を決定することも可能である。マトリクス支援レーザー脱離イオン化(MALDI)法は、分子を非解離でイオン化し、分子量により質量分析を可能にする手法の一つであり、不純物に寛容、操作・装置が簡便、といった多くの利点を持つが、測定に利用するマトリクス分子(主に有機酸)の開裂によって、低分子量試料の測定はできないという欠点を同時に持つ。また感度が悪く、さらにはイオン化できない分子が多数存在する。従って、MALDI法の持つ利点を生かしつつ問題点を解決できる新奇な非解離レーザーイオン化法の開発が求められていた。

2. 研究の目的

本研究では、以下の項目を研究の目的とした。
 (1)酸化物の種類、酸点量、マトリクスの違いを検討することにより、アルカリ金属イオン置換ゼオライトマトリクスの最適化を行い、試料を効率良く観測できるゼオライトマトリクスを作成すること、
 (2)赤外分光法、計算化学、新たに開発した時間分解質量分析法(表面での化学反応を時系列のマスペクトルとして観測可能)を用いてアルカリ金属イオン付着のメカニズムを明らかにし、(1)の理論的な裏付けを行うこと、
 (3)従来法では観測が難しい様々な低分子生理活性分子の高効率測定を行うこと、
 (4)不純物を多く含む、尿(人工尿)や唾液中の生理活性物質の網羅的解析を行うこと。

3. 研究の方法

酸化物固体表面上に有機及び無機マトリクスを担持させ、市販及び自作のレーザーイオン化質量分析装置により試料のイオン化を行った。

4. 研究成果

平成24年度ではゼオライト表面上のブレンステッド酸性水酸基のプロトンをLi⁺、Na⁺、K⁺といったアルカリ金属イオンに置換し、これに有機マトリクス分子を吸着させること

で、これまで観測が不可能であった数々の低分子量生理活性物質の測定に成功した。特にこれまで測定が不可能であった覚せい剤の体内代謝物を被験者の尿から直接測定することに成功した。平成25年度では有機分子マトリクスの代わりにナノメートルサイズの金や銀微粒子をゼオライト表面上に担持させたマトリクスを開発し、ヒト血清中の尿素やコレステロールといった微量含有成分を高感度に検出することに成功した。さらに平成26年度では半導体微粒子のカドミウムテルル中のオージェ再結合を利用し、脂肪酸の測定を可能にした。従来のレーザーイオン化法では脂肪酸は全く検出できない分子であり、本法の開発によりレーザーイオン化の分野で大きな貢献ができたと考えられる。また、微粒子がゼオライト表面上に均一に担持されることを利用して、ヒト血清中の脂肪酸の定量分析までが可能になった。レーザーイオン化法は再現性に乏しいことが広く知られており、定量分析には向かないとされてきた。しかしながら、ゼオライトを利用した本法の実現によってレーザーイオン化法の応用範囲を大きく拡大できることが理解された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計23件)

1. Quantitative analysis of free fatty acids in human serum using biexciton Auger recombination in cadmium telluride nanoparticles loaded on zeolite, M. Yang and *Tatsuya Fujino, Anal. Chem., 86 (2014) 9563-9569, 査読有
2. Stabilization of matrix molecules by nonvolatile analyte plays an important role in matrix-assisted laser desorption ionization, J. Xu and *Tatsuya Fujino, Chem. Phys. Lett., 609 (2014) 6-10, 査読有
3. Gold nanoparticles loaded on zeolite as inorganic matrix for laser desorption/ionization mass spectrometry of low molecular weight compounds, M. Yang and *Tatsuya Fujino, Chem. Phys. Lett., 592 (2014) 160-163, 査読有
4. Investigation of ionization assisting effect of zeolite for a drug in imaging mass spectrometry using laser desorption/ionization, H. Hazama, N. Moriguchi, Tatsuya Fujino, K. Awazu, IEEJ Trans. 134 (2014) 657-663, 査読有
5. Development of laser ionization techniques for evaluation of the effect of the cancer drugs using imaging mass spectrometry, H. Kannen, H. Hazama, Y. Kaneda, Tatsuya

- Fujino, K. Awazu,
Int. J. Mol. Sci. 15 (2014) 11234~11244, 査読有
6. Cation-selective ionization of biologically active substances using zeolites,
*Tatsuya Fujino, J. Suzuki, R. Yamamoto
Sci. Adv. Mater., 6(2014)1590~1593, 査読有
 7. Multi-element detection in green, black, oolong, and pu-erh teas by ICP-MS
Q. Han, S. Mihara, Tatsuya Fujino
Journal of Biochemistry and Physiology 3, 132~135 (2014)
 8. Optimization of tea sample preparation methods for ICP-MS and application to verification of Chinese tea authenticity
Q. Han, S. Mihara, K. Hashimoto, Tatsuya Fujino
Food Science and Technology Research, 20, 1109~1119 (2014)
 9. Laser desorption ionization mass spectrometry of biological active substances using alkali cation-substituted zeolites,
T. Asano, J. Suzuki, K. Hashimoto, *Tatsuya Fujino,
Anal. Sci. 29 (2013) 1035~1039, 査読有
 10. Femtosecond time-resolved laser desorption/ionization mass spectrometry of perylene crystals using induced Raman vibrational excitation,
Y. Minegishi, J. Matsumoto, H. Shiromaru, K. Hashimoto, *Tatsuya Fujino,
Chem. Phys. Lett. 584 (2013) 14~17, 査読有
 11. Silver nanoparticles on zeolite surface for laser desorption/ionization mass spectrometry of low molecular weight compounds,
M. Yang and *Tatsuya Fujino,
Chem. Phys. Lett., 576 (2013) 61~64, 査読有
 12. SmFeN micro particles for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of model peptides,
Y. Ding and *Tatsuya Fujino,
Chem. Phys. Lett. 574 (2013) 116~119, 査読有
 13. Settlement of sweet-spot problem of MALDI crystals using cyclodextrin-supported matrix,
T. Fujita and *Tatsuya Fujino,
Chem. Lett. 42 (2013) 350~351, 査読有
 14. Efficient laser desorption ionization mass spectrometry of polycyclic aromatic hydrocarbons using excitation energy transfer from anthracene,
K. Fujimori and *Tatsuya Fujino
Chem. Phys. 419, 97~100 (2013), 査読有
 15. Study of ionization process of matrix molecules in matrix-assisted laser desorption ionization,
K. Murakami, A. Sato, K. Hashimoto, *Tatsuya Fujino,
Chem. Phys. 419 (2013) 37~43, 査読有
 16. Application of MALDI-MS for forensics. - mass measurement of low-molecular-weight drugs using a cyclodextrin-supported organic matrix,
T. Yonezawa, T. Asano, Tatsuya Fujino, H. Nishihara,
Chem. Phys. 419 (2013) 17~22, 査読有
 17. 松坂牛・飛騨牛の安定同位体比分析
青柳寛司, 後藤晶子, 藤野竜也, 伊永隆史
日本食品科学工学会誌, 第60巻, 138~141 (2013)
 18. Deuterium depletion in the fatty acids from beef
K. Aoyagi, A. Goto, Tatsuya Fujino, T. Korenaga, Y. Chikaraishi
Researches in Organic Geochemistry 29, 65~69 (2013)
 19. Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry of maltohexaose and acetylsalicylic acid using alkali metal cation-substituted zeolites,
J. Suzuki and *Tatsuya Fujino,
Anal. Sci. 28 (2012) 901~904, 査読有
 20. Matrix-assisted laser desorption ionization using lithium-substituted mordenite surface,
J. Suzuki, A. Sato, R. Yamamoto, T. Asano, T. Shimosato, H. Shima, J.N. Kondo, K. Yamashita, K. Hashimoto, *Tatsuya Fujino,
Chem. Phys. Lett. 546 (2012) 159~163, 査読有
 21. 2,4,6-trihydroxyacetophenone on zeolite surface: correlation between electronic relaxation and fragmentation on mass spectra,
R. Yamamoto and *Tatsuya Fujino,
Chem. Phys. Lett. 543 (2012) 76~81, 査読有
 22. Desorption dynamics of tetracene in from tetracene-doped anthracene crystals studied by femtosecond time-resolved mass spectrometry,
Y. Minegishi, D. Morimoto, J. Matsumoto, H. Shiromaru, K. Hashimoto, *Tatsuya Fujino
J. Phys. Chem. C, 116 (2012) 3059~3064, 査読有
 23. Methyl and ethyl chloroformate derivatization for compound-specific stable isotope analysis for fatty acids-II
K. Aoyagi, A. Yamanaka, A. Goto, Tatsuya Fujino, T. Korenaga, Y. Chikaraishi

Researches in Organic Geochemistry 28,
27~30 (2012)

〔学会発表〕(計 7 件 (招待講演))

1. 藤野 竜也

半導体を用いた生理活性物質の定量分析
第 2 回レーザーイオン化研究会, 東京都, 首都大学東京, 2014 年 11 月 29 日

2. Tatsuya Fujino

Application of MALDI-MS for Forensics; Mass Measurement of Low-molecular-weight Drugs Using Zeolite Matrix
Annual Conference and EXPO of AnalytiX-2014, Dalian, China, April 27, 2014

3. Tatsuya Fujino

Ionization and desorption process in matrix-assisted laser desorption ionization studied by time-resolved mass spectrometry
8th Asian conference on ultrafast phenomena, Kobe, Hotel Kitano Plaza Rokkoso, Japan, 20, Jan 2014

4. Tatsuya Fujino

Femtosecond time-resolved mass spectrometry for the desorption process of tetracene Ions from tetracene-doped anthracene crystals
International Conference and Exhibition on Analytical & Bioanalytical Techniques Las-Vegas, USA, Oct. 17, 2013

5. Tatsuya Fujino, J. Suzuki, R. Yamamoto

Cation selective ionization of biologically active substances using zeolite
International conference on emerging advanced nanomaterials (ICEAN2012), Brisbane, Australia, Oct. 24, 2012

6. Tatsuya Fujino

Spectroscopic study of non-destructive ionization process for mass spectrometry
国立清華大学, 新竹, 台湾, Aug. 24, 2012

7. Tatsuya Fujino

Spectroscopic study of non-destructive ionization process for mass spectrometry
台湾中央研究院 (Academia Sinica), 台北, 台湾, Aug. 23, 2012

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 分析用試薬組成物及び分析方法

発明者: 藤野 竜也

権利者: 首都大学東京

種類: 特開

番号: 2014-52295

出願年月日: 平成 24 年 9 月 7 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.comp.tmu.ac.jp/envchem/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤野 竜也 (Tatsuya Fujino) 首都大学

東京・理工学研究科・准教授

研究者番号: 26360638