

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号： 11301
研究種目： 奨励研究
研究期間： 2020～2020
課題番号： 20H00957
研究課題名 TOF-SIMSによる微量有機分子の可視化を目指した新しい前処理法の開発

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） 460,000円

研究成果の概要： TOF-SIMSは、微小領域に存在する有機分子を可視化することのできる数少ない分析手法である。一方で質量の大きい分子は低質量の分子と比較して、検出感度が2桁以上低い傾向にある。そこで本研究では、検出感度の低い生体リン脂質を高感度に検出するための新しい前処理法の開発を行った。リン脂質に界面活性作用を有する胆汁酸を添加することで、その感度を60-100倍程度向上させることができた。さらにTOF-SIMSの質量イメージングおよびSEMによる形態観察から、両者により形成させる共結晶はリン脂質の感度を向上させるだけではなく、分子イオンのフラグメンテーションを抑制する効果を有することを明らかにした。

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、癌や感染症などを調べる細胞診断や組織診断に利用されている。本手法の開発により、TOF-SIMSでは、これまで検出することが難しいと考えられてきた生体分子の高感度分析が可能になった。さらにこの技術をイメージング質量分析に展開することで、微小領域に存在する生体分子の可視化が実現するものと予想される。この成果は、精密かつ迅速な病理診断につながることから、病理学分野への波及効果は大きいと考えられる。

研究分野： 表面・界面分析

キーワード： TOF-SIMS 検出感度向上 リン脂質

1. 研究の目的

有機分子の可視化技術は、癌や感染症を調べる細胞診断や組織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、微小領域に存在する有機分子を可視化することのできる数少ない分析手法である。しかしながら、分子量の大きい有機物はイオン化率が低いことに加え、イオンビームによるダメージを受けやすい傾向があり、その検出感度が低質量側の分子と比較して2桁以上低い場合が多い。SIMS 研究分野では、新しいイオンビームの開発が行われているが、その実現には膨大な時間と費用を有する。

そこで本研究では、簡便かつ安価に有機分子の検出感度を向上させるための新しい前処理法を開発することを目的とした。

2. 研究成果

評価分子には、TOF-SIMS 分析において検出感度が低い生体リン脂質である 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPPC) (C₄₀H₈₀NO₈P, 734.0 g/mol) および 1,2-Distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DSPC) (C₄₄H₈₈NO₈P, 790.1 g/mol)を選定した。これらにマトリックスとして、界面活性作用を有する胆汁酸であるリトコール酸(C₂₄H₄₀O₃, 376.6 g/mol)あるいは、コール酸(C₂₄H₄₀O₅, 408.6 g/mol)を添加し、両者の共結晶を形成させることで、リン脂質のインタクトイオンの感度向上を実現した。さらに TOF-SIMS の質量イメージングおよび SEM 像の結果から、この結晶構造が目的分子の感度を向上させるだけでなく、一次イオンの衝突エネルギーによるフラグメンテーションの発生を抑制する効果を有することを明らかにした。

具体的には、リン脂質とマトリックスの組み合わせを変えて、それぞれの濃度比が 1:1、1:10、1:100 となるよう混合した試料を作製した。これらの表面を TOF-SIMS で分析し得られた質量スペクトルの積分値から二次イオン収率を算出した。その結果、1:100 の試料ではマトリックス未添加試料と比較して、リン脂質のインタクトイオン ([M+H]⁺, m/z 734.5) およびその二量体 ([2M+H]⁺, m/z 1486.1)の検出感度が 60-100 倍程度向上する結果が得られた(図 1)。

さらに 2 種類のリン脂質を混ぜ合わせた溶液に、異なる濃度比(1:1、1:10、1:100、1:200)の胆汁酸を添加した試料を作製し同様に分析評価を行った。その結果、DPPC は DSPC と比較して、低濃度のマトリックスの添加でシグナル強度が最大値をとることが明らかとなった。

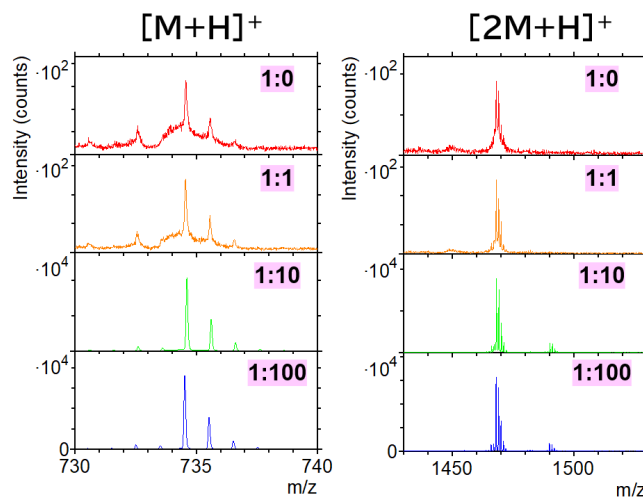


図1 リトコール酸添加 DPPC から取得したインタクトイオンおよび二量体の質量スペクトル

次に SEM による試料表面の形態観察を行い、リン脂質/胆汁酸混合試料の表面において共結晶が形成されていることを確認した。くわえて同試料の表面の分子イメージングを TOF-SIMS で取得した。その結果、共結晶が形成されている領域ではリン脂質のインタクトイオンの感度が向上しているだけでなく、そのフラグメントイオンのひとつである PC head group (C₅H₁₅NO₄P⁺, m/z 184.1)のシグナルカウントが低下していることがわかった。これらの結果から、リン脂質と胆汁酸により形成される共結晶は分子イオンのフラグメンテーションを抑制し、インタクトイオンの感度を向上させる効果を有することが明らかとなった(図 2)。

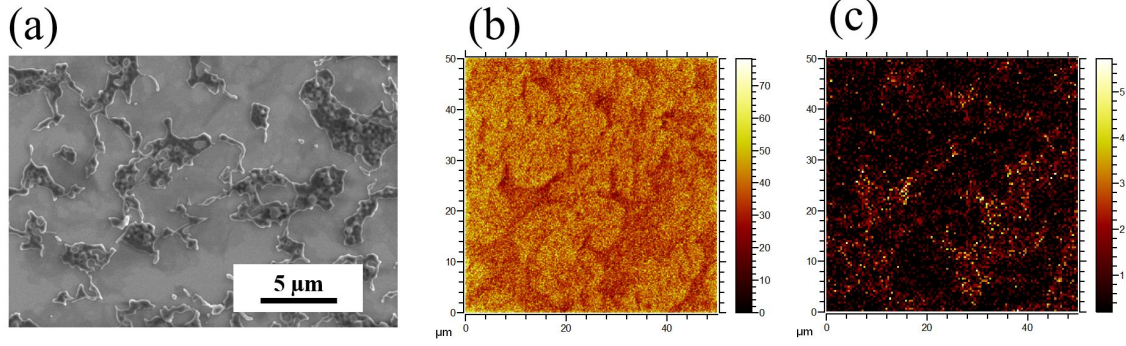


図2 (a) コール酸添加 DPPC(1:10)試料表面の SEM 像および同試料から取得した(b)DPPC のインタクトイオンおよび(c)PC head group の質量イメージング。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 宍戸理恵、真柄英之、芥川智行、三ツ石方也、鈴木茂 |
| 2. 発表標題 BiクラスターSIMSによる混合ミセル内生体リン脂質の感度向上に関する評価 |
| 3. 学会等名 2020年日本表面真空学会学術講演会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Rie Shishido, Hideyuki Magara, Tomoyuki Akutagawa, Masaya Mitsuishi and Shigeru Suzuki |
| 2. 発表標題 Effect of Mixed Micelle Structure on Molecular Sensitivity of Phospholipid in Bi Cluster TOF-SIMS Measurements |
| 3. 学会等名 SIMS研究会13 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔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 |
|----|--------|
|----|--------|