

	[4]
氏名	おざわ ともゆき 小澤 智行
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	理工博第 39 号
学位授与の日付	平成 28 年 9 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	白金薄膜を利用した表面支援レーザー脱離イオン化法の開発と質量分析イメージングへの応用
論文審査委員	主査教授 荒川 隆一 副査教授 石川 正司 副査教授 川崎 英也

## 論文内容の要旨

質量分析(MS)イメージング法は生物・医学・薬学分野の研究において、不可欠なものとなっている。質量分析イメージングのイオン化法には主に MALDI 法が用いられている。MS イメージング法とは、試料切片にイオン化支援剤のマトリックスを噴霧して、その切片に約 100  $\mu\text{m}$  間隔で UV パルスレーザーを照射して得られた多数のマスペクトルから、標的物質のシグナルのみを抽出して二次元画像を得る手法である。マトリックスには UV 吸収性有機化合物が用いられる。この MALDI イメージングの問題点は、マトリックス関連イオンが強いシグナルとして検出されるので、目的試料の低分子イオンの観測が妨害されることである。また、目的試料以外の分子が大量にイオン化することで、目的試料のイオン化が抑制される現象が生じる問題もある。

近年、金属ナノ粒子をマトリックスとして利用した表面支援レーザー脱離イオン化法 (SALDI) が研究されている。金属ナノ粒子は、UV を吸収するマトリックスとして機能し、かつナノ粒子自身がイオン化しないため、低分子イオンの妨害にならない。SALDI では、利用する金属ナノ粒子の種類によって、MALDI ではイオン化が困難な分子のイオン化が可能なことである。

本論文において、白金薄膜をマトリックスとして用いる新規な Pt-SALDI 法を開発し、そのイオン化特性を評価し、工業材料や生体試料の MS イメージングに応用した。特に、これまでイオン化が困難であったラット脳切片中のグリセロ脂質の検出、および浸透性農薬を散布した植物の葉表面の直接イメージングに成功した。

第 1 章は、白金スパッタリング法を用いて調製した白金薄膜をマトリックスとして利用した Pt-SALDI 法の開発に関する内容である。白金薄膜の最適条件を検討し、Pt-SALDI を用いて、非導電性のインクジェットプリントで描いた用紙、薄層クロマトグラフィーの展開プレート上の成分のイメージング画像を得ることができた。

第 2 章は、ラット脳の脂質の MS イメージングを行った。MALDI ではリン脂質が検出されて、グリセロ脂質は検出されなかった。一方、Pt-SALDI イメージングでは、今回初

めてグリセロ脂質を高感度に検出できて、そのイメージング像からグリセロ脂質の局在化を明らかにすることができた。さらに発展させた有機/無機ハイブリッド SALDI イオン化法により、リン脂質とグリセロ脂質の同時検出にも成功した。

第 3 章は、浸透性農薬を投与した植物の葉を試料として、Pt-SALDI イメージング法を植物中の農薬の拡散の経時変化の測定に適用した。従来のラジオアイソトープを用いる方法よりも、簡便・迅速に葉表面の農薬の直接イメージングが可能であることが示された。

## 論文審査結果の要旨

細胞切片上の薬物やその代謝物の同定と局在分析を同時に行うことができる質量分析 (MS) イメージング法は、現在、医学・薬学分野において不可欠な技術になっている。MS イメージングのイオン化法には、主に MALDI 法が用いられている。MALDI イメージング法とは、試料にマトリックスと呼ばれる有機化合物を噴霧し、その切片にパルスレーザーを照射しイオン化する。得られたマススペクトルから、標的物質のシグナルのみを抽出して画像化する手法である。この MALDI イメージング法の問題点として、1) マトリックスイオンが強いシグナル強度で検出されるので、目的試料の低分子イオンの観測が妨害されること、2) イオン化されやすい分子が大量にイオン化することで、目的試料のイオン化が抑制されることがある。

本論文では、MALDI イメージングのこれらの問題点を解消するために、無機マトリックスの白金薄膜を利用した新規イオン化法である表面支援レーザー脱離イオン化法 (Pt-SALDI) が開発された。そのイオン化特性の評価、および工業材料や生体試料の MS イメージングへの応用について、研究が行われている。

その結果、第一章で開発した Pt-SALDI イオン化法が、工業材料の添加剤、糖類の高感度分析に有用であることが示された。特に、薄層クロマトグラフィー (TLC) の展開スポットを画像化し、同時にその成分を同定できる分析手法は重要な技術である。第二章では、従来の MALDI ではイオン化できなかったグリセロ脂質を、Pt-SALDI によってイオン化することに成功し、ラット脳におけるグリセロ脂質のイメージング画像がはじめて測定されている。しかし、Pt-SALDI はリン脂質をイオン化できなかったため、アルツハイマー疾患の解析のためには、リン脂質とグリセロ脂質を同時に分析できる手法が切望されていた。そこで、両脂質を同時に分析するために、有機マトリックスと白金薄膜マトリックスを併用する有機/無機ハイブリッド SALDI イオン化法により、両脂質の同時イメージング画像が測定できた。第三章では、Pt-SALDI イメージング法を用いて植物への農薬の浸透性の評価を行っている。植物の葉は非導電性で肉厚であるために MALDI イメージングは困難である。そのために、従来はラジオアイソトープ (RI) 標識した農薬を用いた RI イメージングによって解析されてきた。しかし、RI 標識の合成技術、利用施設の必要性が創農薬研究の障害となっている。Pt-SALDI イメージング法によって、RI 標識を用いることなく植物における農薬の浸透性評価が可能になったので、この手法が創農薬における有用な技術になると思われる。

以上のように本論文において、新規イオン化法である Pt-SALDI 法のイオン化特性とその MS イメージング技術を利用した TLC 基板の可視化、これまで困難であったラット脳

切片中のグリセロ脂質の局在分布、および植物の葉表面の農薬浸透性について重要な知見を得ている。これらの成果は新規性が高く、医薬、材料分野の MS イメージングの展開が期待される有用な技術である。

よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。