

講演番号：3F45p01

講演日時、会場：3月28日 14:00～ F校舎45会場

イメージング質量顕微鏡によるファイトケミカルの高感度分布解析

High-sensitive analysis of distribution of phytochemicals by using imaging mass microscope

○藤村 由紀<sup>1</sup>、中村 純也<sup>2</sup>、一瀬 智美<sup>1</sup>、金 允喜<sup>3</sup>、佐々木 雅子<sup>2</sup>、海野 結実<sup>4</sup>、緒方 是嗣<sup>4</sup>、中島 宏樹<sup>4</sup>、立花 宏文<sup>1,3,5,6</sup>、割石 博之<sup>1,3,5,7</sup>、三浦 大典<sup>1</sup> (1九大レドックスナビ、2九大院生資環、<sup>3</sup>九大院農院、<sup>4</sup>島津製作所、<sup>5</sup>九大バイオアーク、<sup>6</sup>九大食品機能デザイン、<sup>7</sup>九大基教)

○Yoshinori Fujimura<sup>1</sup>, Jyunya Nakamura<sup>2</sup>, Tomomi Ichinose<sup>1</sup>, Yoonhee Kim<sup>3</sup>, Masako Sasaki<sup>2</sup>, Yumi Unno<sup>4</sup>, Koretsugu Ogata<sup>4</sup>, Hiroki Nakajima<sup>4</sup>, Hirofumi Tachibana<sup>1,3,5,6</sup>, Hiroyuki Wariishi<sup>1,3,5,7</sup>, Daisuke Miura<sup>1</sup> (<sup>1</sup>ICRMN, Kyushu Univ., <sup>2</sup>Grad. Sch. Biores. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ., <sup>3</sup>Fac. Agric., Kyushu Univ., <sup>4</sup>Shimadzu Co., <sup>5</sup>KBAC, <sup>6</sup>Food Funct. Design Res. Cent. Kyushu Univ., <sup>7</sup>Fac. Arts Sci., Kyushu Univ.)

多彩な生理作用を有するファイトケミカルの詳細な作用機構の解明には、それらの組織内微小領域における局在情報が必要不可欠であるが、現状ではほとんどわかっていない。近年、生体分子の局所変動を非標識で捉える *in situ* 生体分子マッピング法（質量分析イメージング）の開発が新規分子イメージング法として注目されており、我々も本法を独自に最適化することで緑茶カテキンとその代謝物の組織内分布情報の同時画像化に世界に先駆けて成功している (*Sci. Rep.*, 3, 2805, 2013)。そこで本研究では、既存法よりもさらに高感度・高空間分解能でのファイトケミカルの分布を捉えるマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析 (MALDI-MS) イメージング技術の開発を試みた。

MALDI 法におけるファイトケミカルのイオン化に最適なマトリックス (イオン化助剤) を見出すため、ファイトケミカルと一連のマトリックス混合物をサンプルプレートにスポットし、MALDI-TOF-MS (AXIMA Performance, Shimadzu) に供することで最適イオン化条件を検討した。さらに、C57BL/6J マウスにファイトケミカルを経口投与した後の摘出組織を用いて凍結切片を作成し、そこに選別されたマトリックスを塗布し、MALDI-TOF-MS (空間分解能: 50  $\mu\text{m}$ ) に供してイメージング実験を行った。また、同一試料をイメージング質量顕微鏡 iMScope TRIO (Shimadzu) に供し、高感度・高空間分解能 (10  $\mu\text{m}$  以下) での分布解析も試みた。

低分子化合物の可視化で汎用されるマトリックス (DHB、CHCA、SA、9-AAなど) を含む約40種類の化合物の中で、1,5-diaminonaphthalene (1,5-DAN) が代表的なファイトケミカルであるケルセチンに対する高い検出能 (pmol オーダー) を示した。本化合物は、腎臓組織上でのケルセチンスポットの検出も可能であったが、ケルセチン投与後の腎臓内分布を可視化できなかった (MALDI-TOF-MS)。これに対して、1,5-DAN をマトリックスとして用いた iMScope TRIO 分析では、ケルセチン分布の検出が可能であった。また、iMScope TRIO は、MALDI-TOF-MS で計測困難なエラグタンニンの一種であるストリクチニンの経口投与後の腎臓内分布 (*J. Agric. Food Chem.*, 62, 9279, 2014) も捉えることができた。さらに、本装置は、緑茶カテキン摂取後の腎臓における内在性代謝物群の分布情報の一斉可視化やトマト果実内代謝物群の分布ならびに果実内微小領域の種子代謝物の局在を高感度に捉えることにも成功した。

以上の結果より、イメージング質量顕微鏡 iMScope TRIO が、ファイトケミカルをはじめとした植物ならびに動物の組織内代謝物分布の高感度・高空間分解可視化に極めて有用であることが示された。

Phytochemicals, Imaging mass microscope, Label-free imaging