

【基盤研究(S)】 生物系(農学)



研究課題名 二次イオン質量分析法による植物細胞における 生体分子三次元分布の可視化

名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授 福島 和彦

研究分野： 生物系・農学・森林学・木質科学

キーワード： 組織構造・材形成、リグニン、抽出成分・微量成分、保存・木質文化

【研究の背景・目的】

本研究の目的は、飛行時間型二次イオン質量分析 (TOF-SIMS) を用いることによって、細胞や細胞壁内にあるがままに存在するあらゆる構成成分の分布を、選択的に分子レベルで可視化することを目的とする。植物の細胞の構造を、視覚的に、また化学的に理解することは、あらゆる代謝物の生合成を理解する上で非常に重要である。しかしながら、細胞内に存在する分子は、水可溶性である、また、極めて不安定であるなど、従来の方法では解析が困難であった。TOF-SIMS は、一次イオンの照射により試料表面から放出される二次イオンの化学構造と分布を測定する分析機器であり、特定の分子イオンの分布可視化が可能である。本研究では、これまで乾燥試料のみにおいて、十分な測定が可能であった TOF-SIMS 機器において、急速凍結した生体細胞を直接測定することが可能な仕様に、開発・改良をおこなう。それにより、生きた細胞におけるターゲット分子の位置と存在量を、化学的な処理を施すことなく可視化することを目指すものである。

【研究の方法】

本研究においては、急速凍結した試料を測定可能なシステムを、現有設備の TOF-SIMS (TRIFT III) 機器において設計・構築し、実際に稼働するような条件設定を確立させることが主軸となる (図 1)。まず、急速凍結した試料をすぐに TOF-SIMS 測定に移すための、窒素雰囲気下で測定室に導入する連結チャンバー構築が必要である。チャンバー内の圧力や温度の調節など、機器ハード面での設計をおこなう。次に、凍結試料測定に最適な条件の検討を、実際に急速凍結した植物試料を測定して調整する。このとき、植物細胞壁中のすでに同定した植物細胞壁の化学成分 (リグニン、多糖、抽出成分等) の分子イオンを用いて評価する。また、一次イオンビームの選択・調整をおこない、凍結細胞の高解像度測定の達成を目指す。さらに、試料表面を高解像度で測定可能な電子顕微鏡の導入と、測定する試料面の容易な面出しが遠隔操作で可能なスライディングマイクローム等の開発をおこない、急速凍結した生体試料測定技術の確立を目標とする。

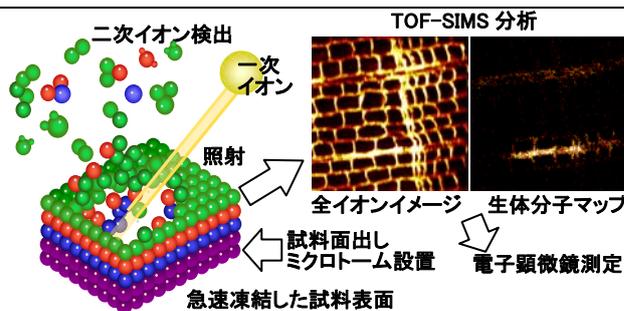


図1. TOF-SIMS 分析システムの概念図

【期待される成果と意義】

これまでに、生体試料における生体有機分子イオンのイメージング (分布可視化) は、いまだほとんど報告例がない。この理由として、高真空下において、凍結した生体試料から、生体分子イオンを細胞レベルで検出する難しさが挙げられる。本研究における急速凍結生体試料測定システムの確立の達成により、植物細胞に特有な、液胞の内容物や細胞壁の詳細な化学分析が可能となる。これによって、これまで測定が困難であった水可溶性物質の分布や、貯蔵物質の輸送経路など、生きたままの細胞における生体物質分布の可視化が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ K. Saito, T. Mitsutani, T. Imai, Y. Matsushita, K. Fukushima, Discriminating the indistinguishable sapwood from heartwood in discoloured ancient wood by direct molecular mapping of specific extractives using ToF-SIMS, *Anal. Chem.*, **80**, 1552-1557 (2008)
- ・ 齋藤香織, 福島和彦, TOF-SIMS の植物細胞壁化学への応用, 植物化学調節学会誌「植物の生長調節」, **43**, 156-163 (2008)
- ・ K. Saito, T. Kato, Y. Tsuji, K. Fukushima, Identifying the characteristic secondary ions of lignin polymer using ToF-SIMS, *Biomacromolecules*, **6**, 678-683 (2005)

【研究期間と研究経費】

平成 21 年度 - 25 年度

85,100 千円

ホームページ等

<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~lignin/>