

## 1-2-2 研究成果

中テーマ名：アフィニティー型キャピラリー電気泳動質量分析装置の開発	
サブテーマ名：アフィニティー型マイクロチップキャピラリー電気泳動-質量分析システムの開発	
中テーマリーダー（所属、役職、氏名）	
横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 教授	西村善文
横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 準教授	明石知子
研究従事者（所属、役職、氏名）	
横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 準教授	明石知子
(株) 島津製作所 分析計測事業部 ライフサイエンス研究所	鈴木功一
	荒井昭博
	主任研究員 谷水弘治
	主任研究員 中村伸
研究の概要、新規性及び目標	
①研究の概要	
<p>マイクロチップ電気泳動法 (Microchip Electrophoresis = <math>\mu</math>CE) は、フォトリソグラフィーなどに代表される微細加工技術を駆使して形成されたマイクロチップを用いることにより、(1) 迅速な分離が可能、(2) 多様な機能を複合化することができる といった従来のキャピラリー電気泳動法では実現困難な特長を有している。したがって同方法は高精度かつ微量のサンプルを精密に分離する必要があるライフサイエンス分野において期待の高い技術である。一方、質量分析法(Mass spectroscopy = MS)は生体高分子の質量情報に加えて分子同定や断片的な構造情報等が得られることから、プロテオミクス研究に欠くことのできない分析手法である。なかでも、エレクトロスプレーイオン化 (Electrospray ionization = ESI) を用いた質量分析法は、高分子量サンプルでも多価イオン化することで低 m/z 領域で検出できるため、生体高分子分析に最も好適な手法の一つである。</p> <p>本共同研究事業では、マイクロチップ電気泳動法とエレクトロスプレー質量分析法を融合した「マイクロチップ電気泳動-質量分析装置 (<math>\mu</math>CE-ESI/MS)」を開発することにより、生体高分子の網羅的かつ迅速な解析システム構築を目指す。加えて、電気泳動および質量分析に供する試料に必要な前処理やアフィニティー回収といった操作をマイクロチップ内で実現することを目標とする。</p>	
②研究の独自性・新規性	
<p>ESI/MS と LC や CE を統合した分析システムは既に数社から上市されており新規性はないが、迅速分離/微量サンプルの分析を特長とするマイクロチップ電気泳動と質量分析を統合した例は少なく、極めて新規性が高い。また電気泳動用マイクロチップに前処理機能を統合した例については、さまざまな先行事例があるが、商用化に到達した技術は未だ存在しないのが現状であり、本事業で取組む内容については独自性が高い。</p>	
③研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に）	
<p>フェーズⅠではマイクロチップ電気泳動-質量分析装置に関する要素技術検討で技術動向調査（マイクロチップ電気泳動/質量分析の接続方式、多次元分離）や質量分析インターフェース部の構成検討および試作を行う。</p> <p>フェーズⅡではマイクロチップ電気泳動-質量分析装置による生体高分子分析でマイクロチップ電気泳動-質量分析装置を用いた塩基性タンパク質分析条件検討やアフィニティー前処理機能の統合可能性検証を行う。</p>	
研究の進め方及び進捗状況	
<p>(1) マイクロチップ電気泳動-質量分析装置に関する要素技術検討で質量分析インターフェース部の構成として、①シースレス方式/②リキッドジャンクション方式/③シースフロー方式の3種類を分離特性およびエミッター耐久性の観点から検討し、②リキッドジャンクションを採用することとした。さらに、島津製作所製LCMS-2010およびWaters(旧Micromass)製 Qtof-2用の質量分析用インターフェース/泳動用電源/電圧制御ソフトの試作評価を実施した。泳動用マイクロチップに関しては、エミッター接続用のガイドホール形状の適正化することで泳動分離されたピーク形状が、エミッター接続後のデッドボリュームにより劣化することを抑制できることが明らかとなった。</p>	

(2) マイクロチップ電気泳動-質量分析装置による生体高分子分析でマイクロチップ電気泳動-質量分析法ではマイクロチップ内の電気浸透流 (EOF) をESIスプレー流速とマッチングさせることが重要であるが、DNA結合タンパクに代表される塩基性タンパク質は、マイクロチップ流路の石英に対して静電吸着することでEOFを不安定化する。その対策として流路内面をポリアミンによるコーティングを施し、条件を至適化することで塩基性タンパク質の泳動が可能となった。充填されたビーズを分離場とするWeir型チップの試作評価を実施し、逆相ビーズによる標識化タンパク質の分離回収を実証した。

主な成果

具体的な成果内容：

マイクロチップ流路の石英に対して、静電吸着の防止対策として流路内面をポリアミンによるコーティングを施し、条件を至適化することで塩基性タンパク質の泳動が可能となった。また、充填された逆相ビーズを分離場とするWeir型チップによる標識化タンパク質の分離回収を実証した。

特許件数：2      論文数：0      口頭発表件数：1

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

マイクロチップ電気泳動と質量分析を統合したシステムに関して、塩基性タンパク質を含む生体高分子試料を泳動分離しMS/MS解析まで実施した例は国内外でも見受けられず、本事業で取組んだ内容については独自性が極めて高いと考えている。

2 実用化に向けた波及効果

本技術の最大の特長は分析の迅速性（分析サイクル1~2分）にあり、網羅的解析手段として最重要項目となるスループットについてはCE-MSやLC-MSなどの手法に対して優位性がある。よってプロテオミクス/グライコーム/メタボローム解析等に本分析方法を適用することでスループットの向上が可能となる。

残された課題と対応方針について

網羅的解析技術の一つである本研究課題については、これまでの競合技術に関する文献・特許調査の結果から各エレメント（マイクロチップ本体、ESIエミッター、チップ/エミッターのインターフェース）の基本部分は既に権利化されていることが判明していることもあり、現在の成果をそのまま事業化するためには先行権利化技術の精査/回避施策が必須となる。加えて、既存分離手法であるLC/MSやCE/MS等に対する優位性についても実証が必要となる。具体的には ①分離検出の迅速性、②前後処理を複合化することによる操作性改善等について、後続の検討が必要となる。これらを踏まえた上で、現時点では本共同研究事業で取組んできたマイクロチップ電気泳動/質量分析システム装置として事業化する予定はないが、個々の要素技術（マイクロチップ関連技術、ビーズを用いたチップ内前処理など）については、様々なシステムへの展開が考えられることから、当社独自で継続して検討することとしたい。

	JST負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	H12	H13	H14	H15	H16	H17	小計	H12	H13	H14	H15	H16	H17	小計	
人件費	940	0	0				940	0	17,000	18,000	2,400	1,920	1,440	40,760	41,700
設備費	0	11,989	0				11,989	0	0	0	0	0	0	0	11,989
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	0	6,648	2,700				9,348	0	13,320	19,005	1,962	2,981	2,604	39,872	49,220
旅費	0	0	0				0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他	60	5,763	150				5,973	0	0	0	0	0	0	0	5,973
小計	1,000	24,400	2,850				28,250	0	30,320	37,005	4,362	4,901	4,044	80,632	108,882

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

JST負担による設備：Micro Fluidic Tool Kit

地域負担による設備：

※複数の研究課題に共通した経費については按分する