

生体膜局所の定量的脂質プロファイリングに向けたマイクロニードル固相抽出-質量分析法の開発

(九大院理¹) ○久保田 颯¹・伊藤 美由紀¹・今田 皇緑¹・劉 晨晨¹・鳥飼 浩平¹・木下 祥尚¹・松森 信明¹・川井 隆之¹

Development of microneedle-based solid phase extraction-mass spectrometry toward quantitative lipid profiling of biomembrane microdomains (¹Graduate School of Science, Kyushu University) ○Hayate Kubota¹, Miyuki Ito¹, Midori Imada¹, Chenchen Liu¹, Kohei Torikai¹, Masanao Kinoshita¹, Nobuaki Matsumori¹, Takayuki Kawai¹

Biomembrane microdomains such as lipid rafts are involved in various important biological phenomena, but no analytical method can directly obtain their lipid profiles. Single-cell mass spectrometry, in which a pL-scale sample is collected with a glass microneedle and measured by nanoelectrospray ionization-mass spectrometry (nanoESI-MS), can analyze sub-cellular samples but lacks quantitation reliability due to ionization suppression. Here, we developed a new solid-phase extraction method using a hydrophobically modified microneedle. A part of a lipid membrane was aspirated into the microneedle, adsorbed on the glass surface, eluted with a methanol-rich solvent, and detected by nanoESI-MS. A giant unilamellar vesicle (GUV) consisting of cholesterol, dioleoyl phosphatidylcholine (DOPC), and sphingomyelin (SM) was analyzed as a model sample. As a result (Figure), DOPC and SM were slightly separated and purified from background salts. *Keywords: microneedle-based solid phase extraction, nanoelectrospray-ionization, biomembrane microdomains, micromanipulation*

脂質ラフトなどの生体膜マイクロドメインは様々な生命現象に関与しているが、その脂質プロファイルを直接取得できる分析法は存在しない。一細胞質量分析法は、細胞小器官レベルの微量試料をガラス製マイクロニードルで採取し、そのままナノエレクトロスプレーイオン化-質量分析 (nanoESI-MS) で解析する手法であるが¹⁾、イオンサプレッションのために定量性が低いという欠点がある。そこで、疎水性修飾マイクロニードルを用いた新規固相抽出法を着想した。マイクロニードルを用いて脂質膜局所を採取し、ニードル表面へ吸着させた後に有機溶媒を含む溶出液で溶出させ、nanoESI-MS で解析した。モデル試料として cholesterol, dioleoyl phosphatidylcholine (DOPC)、および sphingomyelin (SM) の3成分から構成される giant unilamellar vesicle (GUV) を分析した結果 (Figure)、塩などの親水性成分を除去することに成功し、さらに DOPC と SM のわずかな分離も確認された。

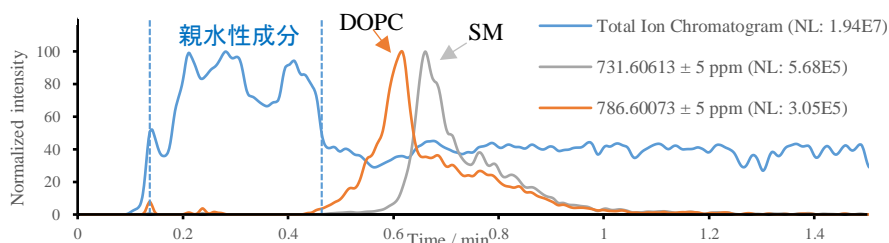


Figure GUV の分析結果

- 1) T. Kawai, Y. Mihara, M. Morita, M. Ohkubo, T. Asami, T. M. Watanabe, *Anal. Chem.* **2021**, 93, 3370.