

金属ナノ粒子マスプローブを利用した組織切片中に存在するタンパク質の高感度イメージング

High Sensitivity Imaging of Protein in the Tissue Section Using the Metal Nanoparticles as a Mass-Probe

鹿大院理工¹ ○(M2) 西 朋紀¹, 池永 隆徳¹, 笠井 聖仙¹, 新留 康郎¹

Kagoshima Univ.¹, ○Tomoki Nishi¹, Takanori Ikenaga¹, Masanori Kasai¹, Yasuro Niidome¹

E-mail: nanorod.tomoki.nishi@gmail.com

序論

金ナノ粒子はパルスレーザーを照射することによって有機マトリックス非存在下においても高効率に金クラスターイオン (Au_1^+ , Au_2^+ , Au_3^+) を脱離することから、近年、イメージング質量分析 (Imaging Mass Spectrometry: IMS) における高感度なマスプローブとしての応用が期待されている¹⁾。しかしながら、金ナノ粒子をマスプローブとして用いると脱離するのは金イオンのみであり、一種類のターゲット分子しか検出できず、質量分析装置の強みである複数ターゲットの同時検出を活かしきれない。そこで本研究では、金以外の金属イオンを脱離する金属ナノ粒子として金銀合金ナノ粒子を調製し、金ナノ粒子および金銀合金ナノ粒子をマスプローブとして用いて組織切片中に存在する二種類のタンパク質の同時マッピングを検討した。

実験

金銀合金ナノ粒子は金コア銀シェルナノ粒子分散液に対してパルスレーザー (532 nm、~10 ns、20 Hz) を照射して粒子を融解・融合させることによって調製した。次に、金ナノ粒子に A488 ラベル Donkey anti rat IgG (H+L)、金銀合金ナノ粒子には Cy3 ラベル Donkey anti rabbit IgG (H+L) を修飾した。網膜に GFP、嗅細胞に DsRed を発現する遺伝子改変ゼブラフィッシュの頭部組織切片を作製し、Rat anti GFP IgG、Rabbit anti DsRed IgG で一次染色した。その後、抗体修飾ナノ粒子分散液に浸漬した。PBS による洗浄後、MALDI-TOF-MS (Autoflex Speed, Bruker) によって IMS を行い、検出された Au_2^+ (m/z 394) および AuAg^+ (m/z 304) のマスシグナル強度のマッピングを行った。

結果

Fig1 にゼブラフィッシュ頭部の組織切片の IMS 結果を示す。図中の灰色の枠は IMS による測定範囲である。緑色 (網膜神経) および赤色 (嗅細胞) の矢印で示した部位から、 Au_2^+ および AuAg^+ の強いマスシグナル強度が得られた。検出された Au_2^+ および AuAg^+ のマスシグナル強度分布は、それぞれ GFP および DsRed の発現密度を反映した結果であると考えられる。以上より、金属ナノ粒子をマスプローブとして用いることで組織切片中の二種類のタンパク質の同時マッピングに成功した。

参考文献

- 1) D. Muko, T. Ikenaga, M. Kasai, J. B. Rabor, A. Nishitani, Y. Niidome, J. Mass Spectrom., **2018**, 54, 1.

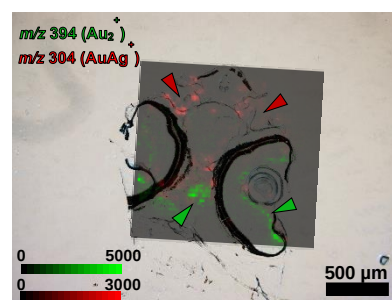


Fig1. Mass image of Au_2^+ (green) and AuAg^+ (red) signal from zebrafish tissue section