

液体クロマトグラフ-トリプル四重極質量分析計を用いた プラズマ照射種子内植物ホルモンの定量分析

Quantitative Analysis of Phytohormones in Plasma-irradiated Seeds Using LC-QqQ-MS/MS

○奥村賢直¹, パンカジ アトリ¹, 古閑一憲^{1,2}, 鎌滝晋礼¹, 板垣奈穂¹, 白谷正治¹

Kyushu Univ.¹, NINS², ○Takamasa Okumura¹, Pankaj Attri¹,

Kazunori Koga^{1,2}, Kunihiro Kamataki¹, Naho Itagaki¹, Masaharu Itagaki¹

E-mail: t.okumura@plasma.ed.kyushu-u.ac.jp

非熱平衡大気圧プラズマ (以下、プラズマ) により誘導される動物・植物細胞の応答が注目を集め、医学・農学への応用展開が広く検討されている[1]。植物種子へのプラズマ照射効果の検討では、表現型に対する電圧や電力、ガス等のプラズマ照射条件の検討が多く、プラズマ照射に誘起される分子生理機構などの機序解明は端緒についたばかりである。ここでは機序解明に向けた取り組みとして、液体クロマトグラフ-トリプル四重極質量分析計(LC-QqQ-MS/MS)を用いた乾燥種子内生発芽関連植物ホルモンの定量測定法を報告する。MS/MS はプリカーサイオンを衝突誘起解離させて得られたプロダクトイオンをモニターする方法で、高感度・高選択性でターゲットの分析が可能である。このため、前処理における試料由来の共存物質の除去作業が不要であり、分析の簡易化・迅速化が可能である。

生物材料にはレタス種子を用いた。前処理として乾燥レタス種子 20 粒を粉碎後、種子重量 1 mg に対し 5 μ l の 100%MeOH を加え、振盪抽出・フィルタリングした。これをサンプルとし、LC-MS/MS 分析を行った。測定体積は 3 μ l とした。LC は Agilent 社 1260 Infinity II LC システムを用い、カラムには Agilent 社 Zorbax Eclipse XDB-C18 を用いた。カラム温度は 40°C とし、移動相には 10 mM 酢酸アンモニウムおよび 100% MeOH を用い、グラディエントモードで流した。イオン化は ESI ネガティブモードとした。MS/MS は Agilent 社 G6470A を用い、ガス温度 300°C、ガス流量 10 l/min、ネブライザー圧力 45 psi、シース温度 375 °C、シースガス流量 11 l/min、キャピラリー電圧 4000 V とした。Fig. 1 に結果の一例として、発芽抑制因子であるアブシジン酸(ABA)のプロダクトイオンのクロマトグラフを示す。Fig. 1 (a)は 2 μ M の ABA 標準試薬、Fig. 1 (b)は乾燥レタス種子 20 粒から得たサンプルの結果である。標準試薬とサンプルとで Retention time およびプロダクトイオン比がほぼ等しいことからサンプルの化合物は ABA と同定できる。本講演では、プラズマ照射時間に対するレタス種子内の ABA, GA 量の変動について報告する。

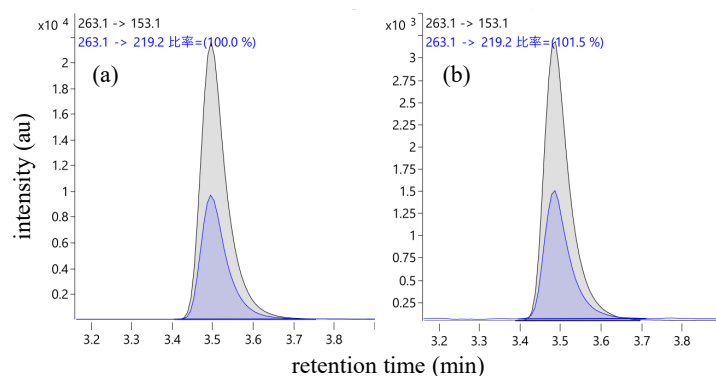


Fig. 1. Chromatograph of abscisic acid (ABA) for (a) standard and (b) seed extraction, obtained by LC-MS/MS.

謝辞 本研究は科研費 JP19H05462, JP19K14700, JP20H01893, JP20K14454、プラズマバイオコンソーシアム、戦略的基盤技術高度化・連携支援事業による支援を受けた。

参考文献

[1] P. Attri et al., Processes 8, 1002 (2020).