

薄層クロマトグラフィーとラマン分光法を活用したフェロトーシス関連分子群分布解析

(青山学院大理工) ○塚目莉加・西原達哉・田邊一仁

Distribution Analysis of Ferroptosis-Related Biomolecules Using Thin-Layer Chromatography and Raman Spectroscopy (*College of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University*)

○Rika Tsukame, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

Mass spectrometry imaging (MSI) is a powerful tool to image the distribution of small biomolecules. However, it is difficult to analyze the highly reactive molecules and metal ions by using MSI. Therefore, we attempted to develop a new methodology to analyze GSH and Fe^{2+} ion, which are difficult to analyze and related to ferroptosis. Toward the monitoring of GSH and Fe^{2+} ion in the tissue, we employed Raman molecular probes, which reacted with the targets on the TLC plate. In fact, we successfully detected the Raman signals derived from the product of GSH and Fe^{2+} in mouse liver tissue.

Keywords : *Multiplex Analysis, Raman Spectroscopy, Thin-Layer Chromatography, Molecular Probes*

近年、組織内の小分子の分布解析にあたり、質量分析イメージング (MSI) を用いた方法論に注目が集まっている。しかし、MSIは、質量分析計の利用を前提としており、反応性の高い分子種や金属イオンなどの分子群の検出には制限を伴う。以上を踏まえ、本研究では、これらの分子群のうち、フェロトーシスと関連するグルタチオン (GSH) と二価鉄イオン (Fe^{2+}) の組織内分布解析を実現するシステム開発を進めた。

これまでに我々は、組織内小分子を薄層クロマトグラフィー (TLC) ヘトレースし、その場で蛍光標識することで、標的分子の組織内分布が解析できることを報告してきた。本研究では複数成分解析にあたり、新たにラマン分光法に着目し、GSH、および Fe^{2+} に対するラマンプローブをそれぞれ設計した (Figure 1)。GSH ラマンプローブ (MAL-EB) は反応部位としてマレイミド、ラマンタグとしてエチニルベンゼンを有している。すなわち、MAL-EB は組織内 GSH との反応により高極性の生成物を与える。したがって、TLC に生体組織内物質をトレースした後、低極性の溶媒で展開操作を行うことにより、未反応の MAL-EB を除去でき、かつ GSH 付加体を TLC トレース部に保持可能となる。一方、 Fe^{2+} ラマンプローブ (Phen) は、 Fe^{2+} 存在下で鉄錯体を形成する。この際、511 nm に吸収を示すため、前期共鳴ラマン散乱により、Phen のラマンシグナルが増強される。実際に、MAL-EB と Phen を塗布した機能化 TLC を用い、マウス肝臓組織中の GSH と Fe^{2+} の検出に成功した。

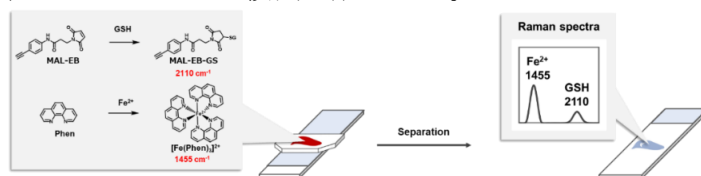


Figure 1. Outline of GSH and Fe^{2+} distribution analysis in the tissue slice using the Raman probes-coated TLC plate.