

組織内チオールイメージング、及び組成解析を実現する TLC ラベル化剤の開発

(青山学院大理工) ○菅原優美佳・西原達哉・田邊一仁

Thiol imaging and compositional analysis in frozen tissue slice using TLC labelling reagent.

(College of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University) ○Yumika Sugawara, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

Mass spectrometry imaging (MSI) is powerful tool to image the distribution of small biomolecules. However, it is difficult to analyze the high reactive molecules such as thiol metabolites by using the MSI. Therefore, we attempted to develop a new methodology to enable thiol imaging and compositional analysis in frozen tissue slice. We designed photo cleavable thiol fluorescent labelling reagents for TLC imaging (ptFLAT). Frozen tissue slices are attached to the TLC coated with ptFLAT to give the thiol adduct on the TLC plate. It is possible to image the thiol metabolite distribution by developing with low polar solvent. Furthermore, by irradiating the region of interest with UV light and developing it with a highly polar solvent, it is possible to analyze the thiol composition in the photo-irradiated region.

Keywords : Thiol metabolite; Thin-layer chromatography

近年、組織内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、測定や解析に時間を要し、高反応性分子解析には困難を伴う。以上を踏まえ、本研究では、組織内チオール代謝物のイメージング、及び組成解析を可能にする新たな方法論の構築を目指し、光解離性蛍光ラベル化剤 (ptFLAT) を設計した。ptFLAT は、リジンをも核構造として、蛍光色素としてメトキシマリンカルボン酸、チオールに対する反応点としてマレイミド、光解離性部位として、オルトニトロベンジルを導入した構造となる。具体的な解析手法を Figure 1 に示す。ptFLAT をコートした TLC に対して、凍結組織切片を貼り付け、組織内代謝物を TLC にトレースする。この際にチオール代謝物は ptFLAT と反応し、高極性の付加体を生成する。従って、低極性溶媒で展開操作を施すことで、組織全体のチオール分子の分布を画像化することが可能となる。さらに、解析部位に対して光照射し高極性溶媒で展開することで、光照射領域内に含まれるチオール組成の解析も可能となる。実際に、食肉用豚レバーに含まれるチオール代謝物イメージング、及びチオール組成解析に成功した。

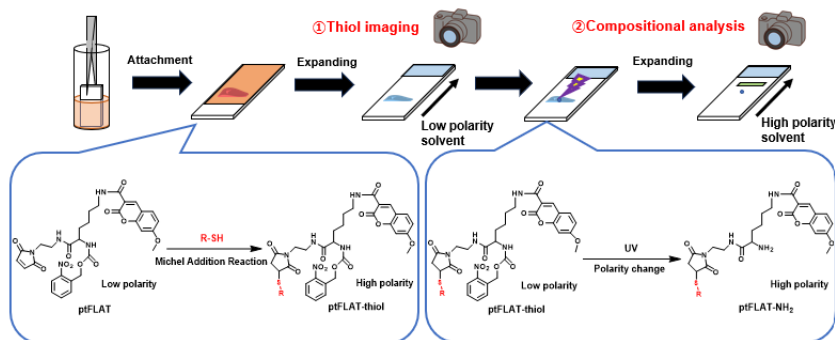


Figure 1. Thiol metabolites imaging and compositional analysis using ptFLAT coated TLC.