

●——誘電体バリア放電と電気加熱気化を用いた環境試料のオンサイト微量元素分析

近年、自然界に人為的に放出される重金属量の増加に伴い、環境や人体に与える影響が大きな問題となっている。環境中に放出される重金属量をモニターするために、ICP質量分析法（ICP-MS）やICP発光分析法（ICP-OES）が広く利用されている。これらの方法では重金属元素の高精度・高感度定量分析が可能であるものの、プラズマ生成のためにArガスを大量に消費する。また、装置が大きく研究室から持ち出すことが困難なため、オンサイト分析に利用することは難しい。そのため、環境試料を分析するにはサンプリングした試料を研究室に持ち帰ってから分析する必要があり、リアルタイムでの分析は困難であった。

そのような中、持ち運び可能なプラズマとして、誘電体バリア放電（DBD）による小型のプラズマが注目されている。DBDはオゾンを生成する方法として19世紀にはすでに知られていたが、近年、プラズマ生成のための装置が小さく、プラズマの温度が低く、それでいながら高い励起能力を持つことから、元素の発光分光分析のための励起源として使われ始めている¹⁾。Liらは、DBDプラズマを用いて溶液試料の微量元素分析を行うために、電気加熱気化法（ETV）を用いて試料をプラズマへと導入するETV-DBD分光分析法を開発した²⁾。用いられたETV装置は直径10mmの石英ガラス管の中にMoフィラメントを挿入した小型のものである。微量の溶液試料をフィラメント上に滴下し、電流を印加することにより温度を上げ、試料を蒸発させることができる。蒸発した試料は、Arガスとともに直径2mmの石英ガラス管の中のDBDプラズマへと送られ、小型の分光器により分光分析が行われた。装置全体の重さは4.5kgであり、持ち運びが可能である。また、分析に必要なArガス流量は0.5 L min⁻¹であり、ICP-MSやICP-OESと比較して非常に少ない。Liらはこの分析法を用いて、HgについてLOD 0.4 μg L⁻¹（試料3 μL）を達成し、実際に海水試料のHg濃度測定に適用可能であることを示した。また、Zn, Pb, Ag, Cd, Au, Cu, Mn, Fe, Crについてもμg L⁻¹レベルでの定量分析が可能であることが示された。

今後、ETV-DVD分光分析法を用いたオンサイト分析により、環境中の重金属元素の挙動が明らかになることを期待したい。

- 1) E. H. Evans, J. Pisonero, C. M. M. Smith, R. N. Taylor : *J. Anal. At. Spectrom.*, **33**, 684 (2018).
- 2) N. Li, Z. Wu, Y. Wang, J. Zhang, X. Zhang, H. Zhang, W. Wu, J. Gao, J. Jiang : *Anal. Chem.*, **89**, 2205 (2017).

〔関西学院大学理工学部 岡林識起〕

●——クライオ電子顕微鏡による生体高分子の構造解析

タンパク質および核酸などの生体高分子の構造解析法として、X線結晶解析法や核磁気共鳴（NMR）法が従来用いられてきた。第三の方法として、クライオ電子顕微鏡法¹⁾が最近注目を浴びており、2017年のノーベル化学賞が贈られたことにより、確立された構造解析手法の一つとして知名度が増した。X線結晶解析法では単結晶が必要であり、NMR法では¹³C/¹⁵Nなどの安定同位体ラベルされたタンパク質が必要となり、解析可能な分子量制限もある。クライオ電子顕微鏡では、生体分子の水溶液を急速凍結し、液体ヘリウムや液体窒素で冷却した試料ステージ上で低温に保持したまま電子線を照射し、電子顕微鏡像を記録する。単結晶と異なり、個々の分子像は様々な向きで氷薄膜に包埋された分子の投影像であるため、立体像を再構成するには様々な方向で投影された像をできるだけむら無く数多く集めることが必要になる。電子線照射により損傷がひどいため、多くの分子像を効率よく収集し、高分解能の立体像を再構成する²⁾。生体高分子の構造解析を可能にした大きな要因は、画像記録装置の進歩である。電顕用CMOSイメージセンサーが開発され、電子直接検出カメラとして用いられるようになった。電子線をCMOSセンサーの各画素で直接カウントするため、全体として非常にシャープな像を得ることができる。

クライオ電子顕微鏡の利点として、X線結晶解析法やNMR法と比較して試料に対する制約が少ない。NMR法とは逆に高分子量であるほど解析に有利であり、他の分析手法では困難であった分子量150 MDaのヒトアデノウイルスD26の構造が解像度3.7 Åで解析された（図1）³⁾。また、三次元再構成像の中に含まれるわずかな構造の違いを三次元クラス分けという形で分離

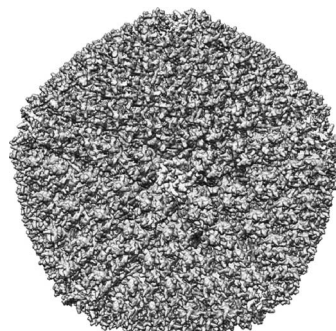


図1 ヒトアデノウイルス D26 の立体構造 (PDB ID : 5TX1)

することで、タンパク質の動的な構造変化の解析が可能になり、タンパク質であるプロトンポンプの動的構造解析に応用されている⁴⁾。ATP 駆動型プロトンポンプである ScV-ATPase の動的な三つの構造状態の解析では、三つの ATP 結合サイトが ATP の結合、分解、放出を順に繰り返すことにより、膜内リングを回転させ、プロトンの受け渡しを連続して行う様子が明らかとなった。生体高分子の立体構造解析のみならず、動的解析手法としても今後の発展が期待される。

- 1) 加藤貴之, 難波啓一: ぶんせき, 392, 9, (2019)
- 2) C. Song, K. Murata: *J. Comput. Chem. Jpn.*, 17(1), 38 (2018)
- 3) X. Yu, D. Veessler, M. G. Campbell, M. E. Barry, F. J. Asturias, M. A. Barry, V. S. Reddy, *Sci. Adv.*, 3, e1602670 (2017)
- 4) M. T. Mazhab-Jafari, J. L. Rubinstein: *Sci. Adv.*, 2, e1600725 (2016)

[明星大学理工学部 田代 充]

● 相乗的曇点抽出による血漿試料からの薬物抽出

臨床において、血液サンプル等の生体試料から得られる情報は非常に重要である。一部の薬物は特定薬剤治療管理料として保険算定されていることから、医療において重要な立ち位置を占めることがわかる。血中薬物濃度の測定には、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) や液体クロマトグラフィー-質量分析 (LC-MS)、ガスクロマトグラフィー (GC-MS) 等が用いられている。一般的に液液抽出や固相抽出が、目的物質の濃縮等の目的で用いられている前処理法である。しかし、これらの前処理法は、大量の有機溶媒の使用や対象物のロス、時間がかかる、濃縮係数が不十分であること等の欠点がある。一方、安価、高い濃縮効率、低環境毒性の特徴がある前処理法として、非イオン性界面活性剤によるミセル

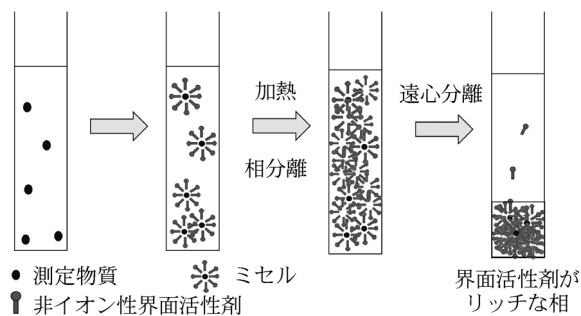


図 CPE の模式図²⁾を参考に作成

測定物質はミセル集合体との親水性、疎水性相互作用によって界面活性剤リッチな相に濃縮される。

形成を活用した曇点抽出 (cloud point extraction : CPE) がある。従来の CPE 法では、加熱に依存する、時間がかかるといった欠点があったが、近年、抽出工程が簡素化され、短時間化された相乗的曇点抽出 (synergistic cloud point extraction : SCPE) が開発された。SCPE は、主に環境試料中の金属元素の前処理に適用されていたが、^{けっしょう}血漿からの薬物抽出に関する報告された¹⁾。この報告は、ラットの血漿中から SCPE を用いてイソケルシトリンを抽出している。非イオン性界面活性剤として、UV 領域のバックグラウンド吸収が低い Tergitol TMN-6、抽出液を兼ねた曇点誘導剤として *n*-オクタノール、相分離を促進する塩として 0.6(w/v) % NaCl を用いて、また、抽出時の pH を 4 とした条件では、1 分と短時間で、室温での抽出が可能であり、加熱に伴うロスも最小限に防げた。このように、より簡易、迅速、正確な SCPE 法の確立によって、臨床における様々な薬物の分析が期待される。

- 1) J. Zhou, J. B. Sun, Q. F. Wang: *J. Chromatogr. B. Analy. Technol. Biomed. Life Sci.*, 1072, 136 (2018).
- 2) X. Wen, Q. Deng, S. Ji, S. Yang, L. Peng: *Microchem. J.*, 100, 31 (2012).

[東邦大学薬学部 植草秀介]