

論文題名 『デジタル分子ふるい電気泳動用キャピラリーデバイスの開発』

所載ページ：「分析化学」第 71 巻第 6 号 325-331 ページ

著者名：末吉健志^{1,2}，松田景太¹，遠藤達郎¹，久本秀明¹

(¹大阪公立大学大学院工学研究科，²さががけ，科学技術振興機構)

2022 年「分析化学」論文賞として，上記の論文が選定されましたので，お知らせいたします。

【選定理由】ならびに「論文概要」

タンパク質の分離分析の分野では，古くからポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) が広く用いられている。しかし，平板型ゲルを用いた PAGE や変性後タンパク質に硫酸ドデシルナトリウム (SDS) で電荷を付与して分子量に基づく分離を行う SDS-PAGE などの従来手法では，分析時間の長さ，試薬・試料量の多さ，分離能・感度の低さが課題となっている。

これらの課題解決のため，本研究ではデジタル分子ふるい電気泳動を用いた簡便・高分離能・高感度なキャピラリーデバイスを開発している。デジタル分子ふるい電気泳動は，分子ふるい効果の異なるヒドロゲルに対する試料分子の通過・捕捉の違いを利用し，任意の位置で特定の分子を分離・濃縮する方法である。本研究では，キャピラリー内に異なる濃度のプレポリマー溶液を順次充填・重合してデジタル電気泳動デバイスを作製する。続いて，作製したデバイスにタンパク質混合試料を電気泳動導入するだけの簡便な操作で，試料の分離・濃縮が達成される。コンセプト検証のためのモデル試料として，蛍光標識されたウシ血清アルブミン (FITC-BSA, 約 66 kDa)，免疫グロブリン G (TRITC-IgG, 約 150 kDa)，およびホスホリラーゼ b (SDA-PAGE 用，FITC-Phos b, 約 98 kDa) を用いて，分離・濃縮挙動を蛍光顕微鏡で観察した。

デジタル分子ふるい分離・濃縮の基礎評価として，プレポリマー濃度がタンパク質の通過・捕捉に与える影響を検討した。その結果，FITC-BSA の単量体，二量体，三量体と推察される成分および TRITC-IgG は，それぞれ

異なるプレポリマー濃度 (10, 18, 32 および 17 % T) の溶液から調製されたゲルによって捕捉されたが，SDS-Page 用に変性された FITC-Phos b は捕捉されなかった。これらの結果から，タンパク質の分子量に依存する三次構造の空間的半径と分子ふるいゲルの孔径が通過・捕捉に関与していることが明らかとなった。そこで，調製したポリアクリルアミドゲル孔径の中央値とタンパク質分子半径の概算値を比較した結果，孔径分布の最大値が分子半径概算値を下回る条件でのタンパク質捕捉が確認された。また，本実験条件下では捕捉によって約 180 倍の濃縮効果が確認され，従来のマイクロチップ型デジタル分離デバイスと遜色ない分離・濃縮効果が示された。加えて，異なる分子ふるい効果を持つゲルが連続的に充填されたデバイスを用いて，FITC-BSA と TRITC-IgG との空間的分離・濃縮が達成された。以上の結果から，簡便な手順で作製・操作可能な本デバイスの分離能・濃縮性能の高さが明らかとなった。

本論文の結果として，デジタル分子ふるい電気泳動デバイス作製法の簡便化とタンパク質混合試料分離・濃縮への応用が達成された。開発された技術によって，プレポリマー濃度の調整とキャピラリー内でのゲル重合で簡便に作製可能なデバイスを用いた特定の分子量のタンパク質の選択的な分離・濃縮が実証された。今後，キャピラリーデバイスをを用いたデジタル電気泳動法は，異種機能性ヒドロゲルを用いたハイブリッド型デジタル電気泳動デバイスへの応用による多次元分離・濃縮へと展開されるものと期待される。

委員会で慎重に審議・検討し，上記の理由により，本論文を 2022 年「分析化学」論文賞受賞論文に値すると認め，選定した。

〔「分析化学」論文賞選考委員会〕

論文題名 『エレクトロスプレーイオン化-イオンモビリティスペクトロメトリー-質量分析法によるスチレン/アクリル酸 *n*-ブチル共重合体の解析』

掲載ページ：「分析化学」第 71 巻第 10・11 号 563-570 ページ

著者名：尾関優香¹，北川慎也¹，大谷肇¹，近藤洋輔²，品田弘子²¹名古屋工業大学大学院工学研究科生命・応用化学専攻，²三菱ケミカル株式会社分析物性研究所

2022 年「分析化学」論文賞として、上記の論文が選定されましたので、お知らせいたします。

【選定理由】ならびに「論文概要」

質量分析法 (MS) は、ポリマーの重合度、繰り返し単位、末端構造、共重合組成などを分子レベルで解析できる手法である。しかしながら、実用的に用いられているマトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI)-MS では、高分子量成分ほどイオン化効率および検出効率が低下するため、分析可能な分子量範囲には制限がある。この課題解決には、生体高分子の分析に汎用されるエレクトロスプレーイオン化 (ESI)-MS の利用が有効であると考えられるが、ポリマーは分子量分布を持つため、価数の異なる成分が同一 m/z に重なり解析が困難になる。著者らの研究グループは、同一 m/z のイオンを衝突断面積や電荷数の違いで分離できるイオンモビリティスペクトロメトリー (IMS) を利用した手法により、この課題を解決する方法を既に報告しているが、その分析対象はホモポリマーに限られていた。

本論文では、実際に工業的に合成されることが多い「多分散度が大きく、複数のモノマー種から成るコポリマー」の ESI-IMS-MS 分析の有効性について評価が行われた。なお、コポリマーの解析にはケンドリックマスマディフェクト (KMD) 法が利用された。スチレン (St) とアクリル酸 *n*-ブチル (nBA) の 2 元系共重合体 (数平均分子量 2700、重量平均分子量 6100、多分散度 2.3) を MS 測定した結果、MALDI-MS 測定では、分子量約 5000 までシグナルが観測された。一方、ESI-IMS-MS 測定では、IMS 分布図から 4 価として観測された分布に m/z 2200 付近までシグナルが観測されたこ

とから、分子量約 9000 まで観測することができた。すなわち、多分散度の大きな試料中の高分子量成分の測定において、MALDI-MS よりも ESI-IMS-MS の利用が有効であることが示された。

ESI-IMS-MS から得られた抽出 MS スペクトルを Resolution-enhanced KMD プロットを用いて解析した。まず、スペクトルが比較的単純である 1 価の分子量約 1000 の範囲の解析が行われた。KMD プロットによって、候補組成の理論値と実測値がよく一致する箇所が可視化でき、この結果からシグナルの同定を行うことができた。また、本試料において、再結合停止成分のモノアイソトピックピークに、不均化停止成分 (飽和) の ¹³C が一つ含まれた同位体ピークがほぼ同一質量に重なるため m/z がシフトするが、このことについても KMD プロット上で可視化して解釈することに成功している。著者らは、KMD プロットを併用した解析によって、再結合停止反応成分の共重合組成を、最大分子量 7800 まで解析することに成功した。すなわち、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) によって求められた標準ポリスチレン換算分子量分布の約 80 % に相当する範囲の試料成分の解析に成功している。

以上の通り、本論文では、ESI-IMS-MS による測定、および KMD 法に基づいた解析が、多分散度の高いコポリマー解析に有効であることが示されている。提案された方法は、合成高分子の解析法としてさらなる発展が期待される。

委員会で慎重に審議・検討し、上記の理由により、本論文を 2022 年「分析化学」論文賞受賞論文に値すると認め、選定した。

〔「分析化学」論文賞選考委員会〕