

別紙 1 - 1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 大矢 倫子

論 文 題 目

LC-MS/MS imaging with thermal film-based laser microdissection

(ホットメルトフィルム・レーザーマイクロダイセクション技術を用いた
LC-MS/MS imaging 法の確立)

論文審査担当者


名古屋大学教授

主 査 委員

山中 宏二 

名古屋大学教授

委員

菅 坂 孝 祥 

名古屋大学教授

委員

門 松 健 治 

名古屋大学教授

指導教授

澤 田 誠 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

近年、目的物質の分布を標識せずに可視化できる質量分析イメージング (MSI) 技術が注目されている。液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法は微量定量が可能であるが、目的成分を抽出する際に位置情報が失われるため、これまで MSI には用いられてこなかった。そこで本研究では、ホットメルトフィルム・レーザーマイクロダイセクション (LMD) を前処理技術として用いることにより、LC-MS/MS を用いた MSI を世界で初めて実現した。本研究では実際に Pilocarpine 誘発性痙攣モデルマウスの脳組織切片を試料として、脳内での薬物と神経伝達物質の分布を可視化した。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 通常のイメージングのために LMD を使用する場合は 5 μm 、採取条件が最適化された組織であれば最小 2.7 μm で回収が可能である。
2. 連続切片 (切片厚 10 μm) でも内包する細胞の形状や成分が異なっているため、連続切片で得たイメージを比較しても全く同じイメージを得ることは不可能であるが、生化学的な分析結果が形態学的な特徴を説明できることは他の分析条件でも確認できている。
3. LC 部分での分離に時間を要するため、一般的な MALDI-MSI よりも時間を要するデメリットがあり、LC 部での測定条件を改良し、分析時間を短くすることが対応策として考えられる。
4. LC-MS/MS で分析条件が確立している物質であればイメージング可能である。従って、MALDI-MSI では難しい $m/z=2000$ 以上の高分子もイメージング可能である。しかしながら、取得できるイメージの分解能は、測定対象物質のイオン化効率や生体内での存在量と LC-MS 装置の感度限界による。
5. ホットメルトフィルムを用いた LMD では、脱水操作が必要である。ただし、この処理によって内包する物質が変化しなければ、どのような試料でも分析可能である。
6. 検出感度は、目的物質が検出器に到達する確率、イオン化効率、ノイズ信号の多寡に依存するため、分析装置の品位により決まる。本研究で用いた分析装置では sub fmol (分子数約 10^6 個) での分析が実現できた。

本研究で確立した LMD-LC-MS 技術は、単一細胞解析や細胞内小器官の解析が可能であり、生命科学、生物学、薬理学、病理学および神経科学分野などの様々な分野での応用が今後期待できる。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	大矢 倫子
試験担当者	主査	山中 宏二	菅坂 孝祥	阿部 健治
	指導教授	澤田 誠		
<p>(試験の結果の要旨)</p> <p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. LMDで回収可能なスポット径について 2. LMD-LC-MS分析による単一細胞解析から得られた結果の普遍性について 3. LC-MS imagingのデメリットとその解決策について 4. LC-MS imagingで分析可能な対象物質について 5. LC-MS imagingの際に必要な前処理方法について 6. LC-MS/MSの感度限界について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、薬物動態解析学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				