JAIST Repository
https://dspace.jaist.ac.jp/

Title	ナノ微粒子質量分析によるストレス軽減食品の作用機序解明
Author(s)	平，修
Citation	科学研究費補助金研究成果報告書: 1-4
Issue Date	2011-06-10
Type	Research Paper
Text version	publisher
URL	http://hdl.handle.net/10119/9804
Rights	
Description	若手研究（B），研究期間：2009～2010，課題番号：21710105，研究者番号：30416672，研究分野：ナノバイオ，科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・ナノ材料・ナノバイオサイエンス

JAIST
JAPAN
ADVANCED INSTITUTE OF
SCIENCE AND TECHNOLOGY

Japan Advanced Institute of Science and Technology

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成２３年６月 10 日現在

機関番号：１３３０２
研究種目：若手研究（Ｂ）
研究期間：2009～ 2010
課題番号：21710105
研究課題名（和文）　ナノ微粒子質量分析によるストレス軽減食品の作用機序解明

研究課題名（英文）Nutrition analysis by nano-particle assisted laser desorption/ionization (Nano-PALDI) mass spectrometry (MS)
研究代表者　平　修　(TAIRA SHU)
北陸先端科学技術大学院大学・マテリアルサイエンス研究科・助教
研究者番号：30416672

研究成果の概要（和文）：
本研究を通して､ナノ微粒子を食品のような複合物の解析に用いることができることを明確に示すことができた。
Nano-PALDI MS による食品成分群の網羅的解析を行った。対象は、高麗人参エキスとした。有効成分群の他、脂質などを同定することに成功した。
質量分析イメージング法で、高麗人参の有効成分ジンセノサイドが高麗人参側根のどこに局在しているのかを可視化することができた。分子選択的なイオン化にも成功した。

研究成果の概要（英文）：
Our pilot study showed that the nanoparticles could ionize the food sample without the aid of chemical and liquid matrices used in conventional MS methods. Analysis of the post-source decay spectra obtained using nano-PALDI MS will yield information regarding the chemical structure of the analyte.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総　計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：ナノバイオ
科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・ナノ材料・ナノバイオサイエンス
キーワード：ナノ材料、ナノバイオ、食品

１．研究開始当初の背景
食品には、神経系や内分泌系などの情報伝達系に影響を与える効果（東洋医学的補気作用）が存在する。それらが、心理的、肉体的疲労ストレスを予防・軽減に大きく関わると考えられる。これは、食品中の複数成分の相乗的的作用、あるいは、生体代謝物質との複合的な作用の結果として成立している可能性が高いと考えられるが、詳細な科学的解析、それに基づいた有効成分の評価法の開発はなされていない。そのためには、食品含有成分（低分子から高分子まで）を網羅的に検出、解析する技術が必要である。代表者は、独自技術のナノ微粒子支援型イオン化法質量分析(Nano-PALDI) MS」を用いて多変量解析を行うことで、食品の機能を明らかにしようとした。これは、ナノ微粒子を質量分析に使用するイオン化支援剤として用いる物で、既存

法と異なる点は、低分子側にノイズがないことである。これにより、低分子から高分子領域までを一度の測定で網羅的に解析することが可能なる。今回、食品を対象としているので、特に低分子（代謝物）解析に有効な手法である。

２．研究の目的

ストレス状態を軽減すると言われる食品成分（GABA、テアニン、サポニンなど）は種々報告されている。しかし、実際は特定の有効成分だけの作用ではなく、食品含有成分の複合的作用であることは予測されてきたが、それを示すことのできる科学的評価法は開発されていなかった。Nano-PALDI MS は低分子から高分子領域までを網羅的に検出することのできる手法で、特に低分子側（代謝物）の解析に適している。食品成分を網羅的に検出し、複合成分の全体像を把握する新規な食品の品質評価方法を構築する。

３．研究の方法

（１）Nano-PALDI 代謝解析の最適化

既に開発しているナノ微粒子材料の他に、標的物質選択的イオン化を目標に、ナノ微粒子コア種、粒径、表面修飾などを検討し複合的解析が可能な機能性ナノ微粒子を合成する。ナノ微粒子は、$FeCl_2 \cdot 4H_2O$, $Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$ の水溶液を Fe:Si=1:1 のモル比で混合し、遠心分離機で沈殿物を分離させる。その後、沈殿物を洗浄・乾燥させる。アミノ基、カルボキシル基、フェニル基の３種をシラン化法、開環反応を用いてナノ微粒子表面に導入した。

（２）培養細胞系における評価系構築・メカニズム解析

細胞レベル（in vitro）での食品の作用機序を明らかにすることで、複合的な代謝物の変化を理解し、必須成分の選択を行う。生理活性単一成分からエキスの複合成分までを調製し、人工的に代謝産物を得る。血管内皮細胞、副腎系、神経系細胞を用いてストレス性ホルモンなどが産生されているかなどを調査し、ストレス評価系を構築する。質量分析で細胞を分析するために、導電性 ITO（インジウムティンオキサイド）シート上で細胞を培養する。培養後、培養液を回収する。細胞が固定されている ITO シートを生理食塩水で洗浄する。細胞を剥離、ホモジナイズすることなく、シートに固定した状態で質量分析を行う。培養液も同様に質量分析を行う。また、高麗人参内のジンセノサイドの局在をイメージング質量分析法により解明した。

（３）食品の動物の生体内代謝への影響（in vitro と vivo の相関解析）

(2)の結果を受けて選択された生理活性成分含有食品、または生理活性成分を動物に経口投与し、in vivo でもその効果が反映されるかを調べる。基礎的には、独自の分析手法（Nano-PALDI MS）により細胞での評価と動物レベルの研究が融合することでこれまで曖昧にされてきた食品の科学的機序に多くの知見をもたらす。このことは、応用的にも現代社会を取り巻く「心理的、肉体的疲労ストレス」の軽減に大きく貢献できる。しかし、食品の「補気」効果に関する科学的理解は送れているのが現状である。動物実験での採取結果と比較しながら、ナノ材料、ナノテクノロジーを用いて評価系を構築する。

４．研究成果

本研究を通して、ナノ微粒子を食品のような複合物の解析に用いることができることを明確に示すことができた。

Nano_PALDI MS による食品成分群の網羅的解析を行った。対象は、高麗人参エキスとした。既存法では測定できない低分子（質量 50）から高分子側までを一度の測定で検出した。有効成分群（ジンセノサイド Rg1、Rb2,Rb1）の他、脂質（リン脂質）などを同定することに成功した。（*Food Chemistry* 123, 835-(2010)）

イメージング MS により、高麗人参側根のジンセノサイドの局在を明らかにした。3 種のジンセノサイドをイメージングした(図１)。

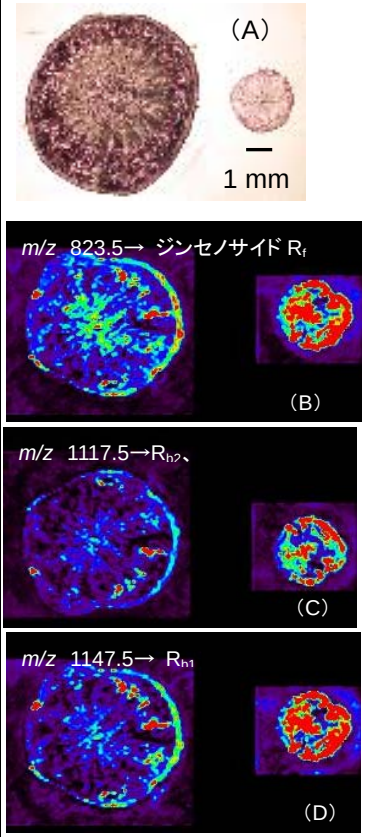


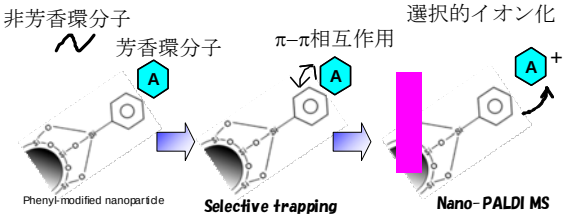
図 1　高麗人参-根のイメージング質量分析

根を約 50 ・m 厚でスライスし、スライドガラスに載せ、マトリクス(CHCA)を噴霧し、100 ・m 感覚でレーザーを照射した．朝鮮人参側根のトルイジンブルー染色像（A）を示す。*m/z* 823.5(ジンセノサイド；R_f)　(B)，1117.5 (R_{b2}　(C)，1147.5(R_{b1})(D)のイメージング質量分析像を示す。

これらは、構造解析（PSD MS）によりそれぞ

れ、(Rg1,Rb2,Rb1)であることを証明した。各ジンセノサイドは、皮部分と、師部に局在していること、側根と、ひげ根（先端）を比較するとひげ根にジンセノサイドが多く存在していることを世界で初めて視覚的に明らかにした。

フェニル基修飾ナノ微粒子を開発した。本該当ナノ微粒子は、酸化鉄をコア成分とし、粒径は 3.0nm である。π−π相互作用により芳香環系分子を選択的にナノ微粒子表面にトラップした。ナノ微粒子表面に濃縮された分子は、Nano-PALDI MS で検出することに成功した。非芳香環分子（ポリマー）と、芳香環分子の混合溶液にフェニル基ナノ微粒子を導入し混合する。遠心分離によりナノ微粒子を回収後、洗浄し、ナノ微粒子を質量分析にかけると、芳香環分子のみを選択的に検出することができた。これは食品成分群から目的物質を選択的にイオン化することに繋がる成果である。(*Analytical Chemistry* 83, 1370-（2011)）(図２)



（図２）フェニル基修飾ナノ微粒子よる芳香環分子選択的捕捉と、イオン化

培養動物細胞に高麗人参エキスを添加した群と非添加群に分け、その培養液を網羅的に解析した。2 群の MS スペクトルを目視で比較しただけでは、違いを識別することはできなかった。統計学的（主成分解析、クラスタ解析）に比較すると添加群と非添加群が別れグルーピングすることに成功した。

マウスへの心理・疲労ストレス負荷を与え、生体の影響を調べた。糞便の脂質成分が、ストレス負荷マウスはコントロールマウスに比べ多かった。これは、ストレスにより腸の運動が抑制されたと推測できる。

新規ナノ微粒子の開発により、食品成分、食品成分の生体への影響を簡便に解析することに成功した。今後、in vivo での影響をより詳細に調べていく。

５．主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計４件）

（１）S. Taira(*corresponding*), Y. Sahashi, S, Shimma, T. Hiroki, Y. Ichiyanagi “Nanotrap and mass analysis of aromatic molecules by phenyl group-modified nanoparticle“ *Analytial Chemistry* 83 1370-1374(2011) 査読有り

（２）Y. Sahashi, I. Osaka, S.Taira (*corresponding*) “Nutrition analysis by nano-particle assisted laser desorption/ionization mass spectrometry“ *Food Chemistry*, 123 865-871 (2010) 査読有り

（３） S. Taira, N. Yokota, I. Osaka, M. Sakamoto, M. Kato,R. Ikeda and Y. Sahashi, ”Mass spectrometric imaging of ginsenosides localization in Panax ginseng root” *The American Journal of Chinese Medicine*, 38 485-493 (2010) 査読有り

（４）T. Hiroki, S. Taira, H. Katayanagi, Y. Moro, D. Shigeoka, S. Kimura, T. Mashino, S. Kimura, Y. Ichiyanagi “Functional magnetic nanoparticles for use in a drug delivery system” *Journal of Physics:Conference Series 2010,* 200, 122003, pp1-5 (2009) 査読有り

〔学会発表〕（計１３件）

（１）平　修、イメージングＭＳを使った食品中の物質所在の解析、(株) mizkan　社内セミナー（招待講演)、2011/2/14、㈱ミツカングループ本社　中央研究所（愛知県）

（２）平　修、　ナノ微粒子の食品への応用　島根大学医学部セミナー（招待講演)、2010/10/7、島根大学医学部（島根県）

（３）平　修、ナノ微粒子支援質量分析による食品メタボロミクス解析、石川県立大学食品科学科公開セミナー“食とその周辺を巡る最新事情”（招待講演)、2010/12/29、石川県立大学（石川県）

（４）平　修、Visualization of food nutrients in by Mass spectrometry、Joint Conference of 7th ISAMAP and NT2010、2010/10/1、Ishikawa high-tech. center, Ishikawa Japan.

（５）平　修、ナノ微粒子の新規ナノバイオイメージング分析法への応用、

(H22 年度(財)バイオインダストリー協会化学素材研究開発振興財団記念基金グラント受賞講演)、2010/9/29、BioJapan2010 World Business Forum　パシフィコ横浜　(神奈川県)

（６）平　修、ナノ微粒子支援質量分析(Nano-PALDI MS)による食品メタボロミクス解析、バイオアカデミックフォーラム・バイオエキスポ 2010（招待講演)、2010/7/1、東京ビックサイト　（東京都）

（７）Shu TAIRA, Imaging mass spectrometry of Herbal medicine (Panax ginseng), 2010/5/19-21 The 2010 International Congress on Complementary Medicine Research, Tromso, Norway

（８）平　修、ナノ微粒子支援型質量分析（Nano-PALDI MS）による食品メタボロミクス解析、ナノ学会第８回大会、2010/5/14、岡崎カンファレンスセンター（愛知県）
（９）S. Taira、Imaging mass spectrometry of Herbal medicine (Panax ginseng)、JAIST-CNSI Workshop 2010、2010/01/18-19、Ishikawa, Japan
（１０）S. Taira、Nanoparticle-assited laser desorption/ionization (nano-PALDI) mass spectrometry for food analysis、APBioChEC'09、2009/11/25、Kobe, Japan
（１１）S. Taira、Analysis of Herbal medicine by nanoparticle-assited laser desorption/ionization (nano-PALDI) mass spectrometry、JAIST Symposium of 20th CHEMINAS, ISMM2009 & NT2009、2009/11/7、Ishikawa, Japan
（１２）平　修、ナノ微粒子支援型質量分析における食品分析、平成 21 年度北陸地区講演会と研究発表会、2009/10/28、石川県
（１３）平 修、酸化マンガンナノ粒子の調製と質量分析への応用、ナノ学会　第７回大会、2009/5/9、東京大学（東京都）

〔図書〕（計０件）

〔産業財産権〕
○出願状況（計２件）
名称：核酸検出用のイオン化支援キット及びこれを使用した質量分析方法
発明者：平　修、佐橋　裕子
権利者：北陸先端科学技術大学院大学、日東電工（株）
種類：特許出願
番号：2011-124505
出願年月日：平 23. 6. 2
国内外の別：国内

名称：配糖体群質量分析用イオン化支援剤及びこれを使用した質量分析方法
発明者：平　修、佐橋　裕子
権利者：北陸先端科学技術大学院大学、日東電工（株）
種類：特許出願
番号：2011-124506
出願年月日：平 23. 6. 2
国内外の別：国内

○取得状況（計０件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
http://www.jaist.ac.jp/~s-taira/top3

６．研究組織
(1)研究代表者　平　修（TAIRA SHU）
北陸先端科学技術大学院大学・マテリアルサイエンス研究科・助教
研究者番号：30416672

(2)研究分担者　なし
（　　）

研究者番号：

(3)連携研究者
（　　）

研究者番号：