

● マイクロ流体を用いたタンパク質

液液相分離の解析

近年、タンパク質や核酸などの生体分子の多くが細胞内で液液相分離 (liquid-liquid phase separation, LLPS) により液状集合体 (液滴) を形成することが分かってきた。LLPS は細胞空間の区画化・組織化する役割を果たし、生化学反応のための微小反応器として機能すると考えられている。例えばストレス顆粒や核小体などの膜のないオルガネラが LLPS により形成されることや、遺伝子発現、シグナル伝達、代謝調節等広範な生理的プロセスにとって LLPS が重要であることが分かってきた。また、LLPS はタンパク質のミスフォールディング病など様々な疾患に関連することが示唆されている。

LLPS の研究において相図形成は重要である。化学的条件を変化させ均一相領域と相分離領域の間の相転移条件を決定することで、LLPS を駆動する熱力学過程について議論することができる。LLPS はイオン強度、pH、温度、夾雑物など様々なパラメータに影響を受けることが知られている。また、タンパク質の種類によって、LLPS 挙動変化の要因が異なる。しかし、従来の 96 ウェル等を用いた実験系ではこれらの膨大なパラメータを分解能高く変化させ相図を得るのは、膨大な実験と多量のタンパク質試料が必要となるため困難であった。

近年、マイクロ流体デバイス中で作成したマイクロメートルサイズの有機相水滴 (マイクロ水滴) を用いて LLPS 相図を高分解能で作成する手法が開発された¹⁾。この手法では、タンパク質水溶液・夾雑物水溶液の流量を変化させながらマイクロ水滴を作製することで、異なる濃度のタンパク質、夾雑物等を封入した大量 (10^3 個以上) の水滴を 5 分以内に準備できる。そのため、微量のタンパク質試料を用いて 10^3 点を超えるデータ点数を持つ相図を作成することができる。

本手法を用いることで、筋萎縮性側索硬化症に関連する fused in sarcoma (FUS) の相転移メカニズムの特定など LLPS の物理化学的な研究が進展している²⁾。また、本手法は非常に簡便に LLPS の相図を得ることができるため、抗菌ペプチドの LLPS を介した薬効メカニズムの検討など応用研究においても広く利用されている³⁾。

今後、本手法により LLPS についての化学的観点からの理解がより一層深まることを期待する。

- 1) W. E. Arter, R. Qi, N. A. Erkamp, G. Krainer, K. Didi, T. J. Welsh, J. Acker, J. Nixon-Abell, S. Qamar, J. Guillén-Boixet, T. M. Franzmann, D. Kuster, A. A. Hyman, A. Borodavka, P.

St George-Hyslop, S. Alberti, T. P. J. Knowles : *Nat. Commun.*, **13**, 7845 (2022).

- 2) D. Qian, T. J. Welsh, N. A. Erkamp, S. Qamar, J. Nixon-Abell, G. Krainer, P. St. George-Hyslop, T. C. T. Michaels, T. P. J. Knowles : *Phys. Rev. X*, **12**, 041038 (2022).
3) T. Sneideris, N. A. Erkamp, H. Ausserwöger, K. L. Saar, T. J. Welsh, D. Qian, K. Katsuya-Gaviria, M. L. L. Y. Johncock, G. Krainer, A. Borodavka, T. P. J. Knowles : *Nat. Commun.*, **14**, 7170 (2023).

〔東北大学多元物質科学研究所 福山 真央〕

● 環境水中微量金属元素分析の自動化

環境水中には、さまざまな元素が数 % から ng L^{-1} にも満たない検出困難な濃度まで含まれている。河川水や海水には、自然由来だけではなく工場や病院、生活排水由来の金属元素が下水処理場で完全に処理されずに流入することが報告されている¹⁾。環境省では、環境庁告示第 59 号水質汚濁に係る環境基準²⁾として、人の健康の保護に関する環境基準と、生活環境の保護に関する環境基準を定めている。一方で未だ生体内への取り込みのメカニズムやその後の影響が明らかになっていない環境基準のない元素についても、環境や人の健康への影響が懸念されている。また元素濃度は採水地点や時期によっても異なるため、複数地点での定期的なモニタリングが必要である。

環境水中の元素分析には、原子吸光分析法や吸光光度分析法、誘導結合プラズマ発光分光分析法、誘導結合プラズマ質量分析法 (inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS) が広く用いられている。試料の前処理では、試料中の微量金属元素の濃縮と多量に含まれる Na や Ca 等による検出器への負荷の軽減および微量金属元素へのスペクトル干渉の軽減のために、一般的にキレート樹脂固相抽出法による脱塩濃縮操作が行われる。試料中の有機物量が多い場合は試料に硝酸、過塩素酸、または過酸化水素等を加え加熱酸分解する操作が行われる。これらのような煩雑な前処理を必要とする実験操作では、時間と手間がかかり、コンタミネーションや人的誤差が起きやすいという問題点があった。

そこで、これまでに様々な前処理の自動化が進められており、自動固相抽出装置³⁾や自動酸分解装置⁴⁾が開発されて利用されている。Yokota ら³⁾は、カルボキシメチル化ポリエチレンイミン型キレート樹脂を用いた微量元素の高速自動固相抽出分離・前濃縮システムを開発している。これにより、試料溶液約 100 mL を用いた場合、キレート樹脂を充填したカートリッジ 2 個を用いて抽出と溶出を同時に行うことができるため、従来の市販のキレート樹脂を用いた手動による操作の約 2 倍の試料数の前濃縮が可能である。また、固相抽出と分離に内部標準化技術を採用しているため、試料中の微量元素を正確かつ高精度に定量することが可能となっている。地下水および排水認証標準物質 (ES-L-1, EU-L) における

Cd, Co, Pb, Zn, Fe, Cu, Ni, V の 8 元素の定量値は、認証値の不確かさの範囲内であり、添加回収試験ともに良好な結果が得られている。

熊澤ら⁴⁾は、前処理操作の負担軽減およびコンタミネーション防止を目的に、ドラフトチャンバーを使用しない酸分解前処理から ICP-MS 測定までを連続流れ分析により自動化した自動酸分解装置を開発している。自動酸分解装置は、これまで人の手を介する必要のあった試料の攪拌、希釈、硝酸等試薬の添加、加熱分解、放冷、ICP-MS 測定までをチューブの中の密閉状態で一気通貫に自動的に行うことのできる分析装置である。これにより、作業の省力化や使用する試薬量と加熱分解に用いる消費電力の削減ができる。また、密閉された細管の中で分析が完結することから、外部からのコンタミネーションの減少や人への酸の暴露の低減が期待できる。環境試料における Cd, Pb, As, Se, Cr, Zn, Fe, Cu, Mn, B, Al の 11 元素では、定量結果および添加回収試験ともに良好な結果が得られている。分析の自動化によって環境水の定期的かつ複数地点の試料分析がすすめば、将来的には安全な飲料水源の確保や水生生物の保護にもつながっていくと期待される。

- 1) P. Ebrahimi, M. Barbieri : *Geoscience*, **9**, 93 (2019).
- 2) 環境省：環境庁告示第 59 号, “水質汚濁に係る環境基準”
(<https://www.env.go.jp/kijun/mizu.html>), (accessed 2024.3.1).
- 3) Y. Yokota, M. G. Ide, Y. Inoue, S. Kagaya : *Anal. Sci.*, **39**, 589 (2023).
- 4) 熊澤頼博, 西村 崇, 政木一央, 太田美穂：環境と測定技術, **49**, 29 (2022).

〔東京工業大学 八井田 朱音〕