（ 様式D－２ ）
（ 別　　紙 ）

令和６年度　海外派遣研究員研究報告書

令和 6 年 10 月 10 日

日本大学理事長　　殿
日 本 大 学 学 長　　殿

所　　属　理工学部（理工学研究所）
資格・氏名　教授　鈴木　佑典

☑本報告書の内容を公表することは，了承しております。
☐本報告書の内容を公表することは，差し控えください。
※いずれかにチェックし（■）提出すること

令和６年度海外派遣研究員（　短期Ｂ　）の研究実績を，下記のとおり報告いたします。

記

１　区　　分　　短期Ｂ

２　研 究 課 題

イオン液体による脂質の精製及び酵素合成法の確立に関する調査

３　派 遣 期 間　　西暦 2024 年 8 月 8 日　～　2024 年 8 月 29 日

４　派　遣　先　　ハンガリー，オーストリア，チェコ，スペイン

５　研 究 目 的

イオン液体は，アニオン／カチオン構造の組み合わせによって，自在に性質をデザインできることから，生命科学分野においても応用研究が進められてきている．本研究室では，イオン液体を用いた糖脂質試料中の界面活性剤の除去を検討した結果，ヨウ化 1-ブチル 3-メチルイミダゾリウムが最も効率良く糖脂質を精製できることを明らかにしている．具体的には，界面活性剤と糖脂質は両親媒性物質であることから，通常のカラムクロマトグラフィーによる精製法では完全に分離することが難しく，また，操作が煩雑であるため，特に微量の糖脂質試料からの精製は困難であった．そこで，界面活性剤を含むブタ脳由来総脂質試料をガラス表面上に乾固した後，様々なイオン液体で洗浄した結果，イオン液体のアニオン構造の違いによってガラス表面上から除去される界面活性剤と脂質組成が大きく変化することを明らかにしている．このように，イオン液体の選択によって脂質の可溶性・安定性を制御できることが改めて確認されたため，未だ困難である希少脂質の酵素合成及び精製法の確立を目的として研究を進めている．本海外派遣では，イオン液体の幅広い応用研究について議論すること，また，各国の大学における生命科学を含めた理工学の施設・設備を比較することを目的としている．

（ 様式D－２ ）

６　研 究 概 要

極微量のみ発現している生体分子の機能を解明するためには，その合成・精製法のみならず，代謝物を含めた分子の構造や組織切片上の局在情報などの詳細な解析をすることが必要不可欠である．本研究室では，質量分析イメージング（マススペクトロメトリーイメージング，MSI）法による組織切片上の特定の分子の可視化及びイオン化時の断片化を抑制できるイオン化条件について検討を進めている．そして，最も汎用されているイオン化補助剤（マトリックス）を用いたマトリックス支援レーザー脱離イオン化（MALDI）法を用いた場合，低イオン化効率の分子や容易に断片化する分子由来のピークを検出することは困難であることが多い．イオン化効率の改善を目的として，有機マトリックスを用いない金属粒子を用いたイオン化法（SALDI），及び断片化抑制のために用いられているイオン液体の応用について検討を進めている．様々な生体試料由来薄切切片上の特定分子の MSI 解析を進めていく中で，代表的なネオニコチノイド系農薬のイミダクロプリドが質量分析計（JMS-S3000, JEOL 製）の Nd: YLF レーザー照射によって容易に断片化することを確認している．このことから，イミダクロプリドを断片化しやすいモデル化合物として，MSI 解析におけるイオン化時の断片化抑制条件を検討することとした．本研究では，生体分子の解析技術について国際的な視点から考察するため，各国の研究者らと議論した．

７　研究結果・成果

The 10th International Conference on Bioengineering and Biotechnology (ICBB2024)にて「SALDI-MS イメージング法による組織切片上のイミダクロプリドの分析，Analysis of imidacloprid on tissue section using SALDI-MS imaging」と題した口頭発表を行った．ネオニコチノイド系農薬は昆虫のニコチン性アセチルコリン受容体に結合し，殺虫効果を示す．食糧生産量の増加に貢献している一方で，害虫のみならず，ミツバチなどの益虫や水性生物にまで殺虫効果を示すことや，食物連鎖を介して，ヒト胎児に移行していることも知られていることから，自閉症などの発達障害を含めた疾患リスクが疑われているなど EU などでは使用が禁止されている．しかしながら，現在でも日本を含めて，世界的に広く使用されている．ネオニコチノイド系農薬のいくつかの代謝物は強い細胞毒性を示すことも明らかにされているが，自然界や植物内，ヒト体内での代謝や，局在・分布，詳細な生理活性に関して完全な解明はできていない．そのため，本研究では，組織上の特定分子の局在解析において非常に有用なツールであることが知られている質量分析イメージング法を用いて代表的なネオニコチノイド系農薬の 1 つであるイミダクロプリドの解析を行うこととした．まず，先行研究でも報告されている有機マトリックスを用いた解析を行ったところ，イミダクロプリド由来の分子イオンは検出されず，構造の一部が断片化したイオンのみが検出されることがわかった．生体内で代謝されたデスニトロイミダクロプリドは極めて強い生物毒性を示すが，イオン化時に断片化した構造は，デスニトロイミダクロプリドと同一構造であり，イオン化による断片化であるのか，代謝物であるのかを判断することが困難であった．以上のことから，イミダクロプリドの断片化を抑制するイオン化条件の確立が必要であることがわかった．また，キュウリ切片上ではイミダクロプリドのイオン化自体が抑制されることを明らかにした．そして，これらの断片化の原因としては，本学の質量分析装置に装着している Nd: YLF レーザーの照射により有機マトリックスがイオン化される際の熱エネルギーによる可能性が考えられたため，本研究では有機マトリックスを用いない金属粒子を用いたイオン化法（SALDI）を検討することにした．その結果，プラチナ蒸着後ではバックグラウンドが低減したものの，分子イオンの検出には至らなかったが，銀蒸着後ではイミダクロプリド由来の分子イオンが検出された．しかしながら，銀蒸着後でもイミダクロプリドの断片化は完全に抑制されていなかったことから，局所的なイオン化環境をアルカリ性にシフトさせることによる断片化抑制目的でアニリン添加後に再度銀蒸着後の質量分析イメージングを検討した．その結果，イミダクロプリド由来の分子イオンは検出されず，バックグラウンド由来のピークが多く検出されることが明らかになった．この理由として，アニリン自体にも紫外部吸収があるため，局所的な熱エネルギーの増加によって断片化が生じた可能性が考えられた．このことから，本研究では，将来的に紫外部吸収を持たない一級アミンや，イオン液体化した有機マトリックスなどを用いてイミダクロプリドの質量分析イメージング解析を進めることによって，イミダクロプリドを含めたネオニコチノイド系農薬のイオン化時の断片化を完全に抑制する条件を確立することを検討しているという内容で発表を行った． その中でイオン化時の断片化抑制法について，イオン液体を含めた方法，また，SALDI 法を含めた将来的なイオン化法の展望について議論を重ねた．

そして，各国の大学の施設を見学し，本学との違いについて調査を行った．ブダペスト・コルヴィヌス大学（ハンガリー），ブダペスト工科経済大学（ハンガリー），ウィーン大学（オーストリア），

〔７　研究結果・成果（つづき）〕

プラハ・カレル大学（チェコ）などを見学した．ブダペスト・コルヴィヌス大学は経済・経営，社会，行政，園芸，食物，緑地学部などを有する公立大学であり，見学した建物にはラボ，教室の他，学生寮のフロアもあり，建設途中の箇所も残っている新しいキャンパスであった．1 つ 1 つの教室・居室の天井が高く，勉強するスペースの他，ミーティングするための空間が複数かつ贅沢に確保されているのが印象的であり，学生間でディスカッションしていく文化を育てる土壌があることを再確認できた．ブダペスト工科経済大学は，240 年以上の歴史を持つ大学であり，ファサード（入口）は博物館のようであり，SDGs への取り組みについての掲示があった．工学から地学まで非常に幅広い分野に取り組んでいるとのことであり，特にロボット工学に関しての先進的な取り組みが印象的であった．本学と同様に歴史のある大学であるが，階段の手すり部分にも趣向が凝らされているなど，リノベーションも積極的に進めているのが印象的であった．続いて，ウィーン大学の生命科学学部の植物園を見学した．約 8 ヘクタールの広大な敷地に約 9500 種の植物が栽培されており，学名や自生している国などの詳細が掲示されていた．この植物園は 270 年前に設立されたにもかかわらず非常に手入れがされており，維持・管理体制がとても素晴らしいと感じた．また，温室もあり，その一角には学生の絵の作品展などが催されていたこともあり，多くの人が見学に訪れていた．プラハ・カレル大学では，多国籍であろう学生の非常に活気がある様子がみられた．その他の大学にも足を運んでみたが，各国の大学は街中の景観に溶け込んでいて，一見大学とは気づかないことが多く，施設・設備の維持を細やかに行っているのを強く感じられた．そして，各国の学術的な生命系の書籍の調査に関しても行ったが，語学・経済・宗教・文化などの書籍と比べて少ないことがわかった．学術的な専門書籍はインターネット上から注文することが増えていると予想されるが，各大学の近くの大型の本屋に行っても少なかったのが意外であった．今回訪問した東ヨーロッパ 3 ヶ国は EU 圏ではあるが，流通している通貨，言語，（食）文化，風習，人々の気質が大きく違うことを学ぶことができ，これは通常の国際学会に参加しただけではわからなかったであろうと考えている．また，電気モビリティー（自動車，スケーターなど）の普及率の高さ，移民の多さ，貧富の差，治安の違いなどの現状を学ぶことができたことは非常に貴重な機会であった．偶々ではあるが，各国で住民，旅行者，移民の方とも話す機会があり，人生背景や現在の状況などを聞いたり，再生エネルギーの利活用への取り組みや資源のリサイクル率の向上に向けた取り組みなど（空のペットボトル 1 本の価格が約 20 円，ハンガリー），インターネットのニュースからは知ることのできない話を見聞できたのはとても有意義であった．これらの経験を教材として，今後の教育に反映していきたいと考えている．

以　　上