

# Application News

## No. B62

イメージング質量顕微鏡

### 9-Aminoacridine(9AA)の蒸着後再結晶化法を用いた低分子代謝物の MS イメージング

MS イメージングの技術は 1980 年代前半に誕生して以来、現在に至るまで技術革新を続け、創薬研究や代謝物研究の分野をはじめとする多くの分野において活用されています。現在も感度や空間分解能、再現性などの向上を目的とした技術改良が行われています。

イオン化に用いるマトリックスもさまざまなものが開発されてきましたが、これらの中から検出目的化合物に適したマトリックスを選択することは重要です。

また、マトリックスの選択に加え、その塗布方法も分析結果に大きく影響するため、検出目的化合物に適した方法がいくつか検討されています。大別するとスプレー法、蒸着法の 2 つの方法がありますが、どちらの塗布方法も一長一短があり、現状では両手法ともよく用いられています。弊社ではマトリックスの膜厚を制御できるマトリックス蒸着装置 iMLayer (図 1) を開発し、塗布方法の検討を行ってきました。

ここでは、従来再結晶化が難しいと言われていた 9AA についての蒸着後再結晶化の方法を開発したので報告します。また、一例としてマウス肝臓における低分子代謝物の MS イメージングの結果をご紹介します。

R.Yamaguchi, E.Matsuo, T.Yamamoto

#### ■ マトリックス塗布方法の違いによる MS イメージングの分析への影響

マトリックス塗布方法がマトリックスの結晶形成および MS イメージング分析に与える影響について表 1 にまとめました。

スプレー法は蒸着法と比べて生成するマトリックスの結晶は粗く、またサンプルに含まれる成分の滲みによる空間分解能の低下も懸念されます。さらに均一性も悪く、マトリックス溶液が乾燥して結晶化する際に湿度や温度などの周辺環境に依存するため、再現性も悪くなります。一方、サンプル中に含まれる化合物の抽出効果は大きく、高感度化が期待できます。

これに対し、蒸着法は、結晶の細かさ、滲みにくさ、均一性、再現性に優れ、高空間分解能イメージングには欠かせない方法であると言えます。その反面、サンプル中成分の抽出効果はなく、感度面で不利となる可能性が懸念されていました。

実際の測定感度は、検出する化合物の構造に依存します。たとえば、リン脂質などの分析においては蒸着法で十分な感度が得られますし、アミオダロンのような薬剤も十分な感度で MS イメージングが可能です (アプリケーションニュース B61 参照)。

一方で、マウスの肝臓などに含まれる ADP や ATP などの低分子代謝物の検出においては、蒸着法によるマトリックス塗布では抽出効果が無いため、十分な感度を得ることはできません。そのため、9AA をスプレー法で塗布して MS イメージングを実施した例が殆どでしたが、その空間分解能は相対

的に低くなっています。そこで、DHB や CHCA で行われている蒸着後再結晶化法を 9AA に適用するための条件検討を行いました。



図 1 マトリックス蒸着装置 iMLayer

表 1 マトリックス塗布方法の結晶形成および MS イメージング分析への影響

	スプレー法	蒸着法
結晶の細かさ	△	○
滲みにくさ	×	○
均一性	△	○
再現性	△	○
抽出効果	○	×

#### ■ マトリックス蒸着後再結晶化法

マトリックスに 9AA を用いた蒸着後再結晶化を行いました。図 2 に示すように、5%メタノールを含ませたる紙と蒸着後のサンプルを同じ容器に入れ、5 分間 37 °C の恒温環境に置きます。この際、ろ紙中の 5%メタノールが蒸発して、サンプル中に染み込み、サンプル中の化合物が抽出されると同時に 9AA の結晶がわずかに溶解します。その後、真空デシケータ内で 10 分間確実に乾燥させることにより溶解した 9AA の再結晶化が行われます。

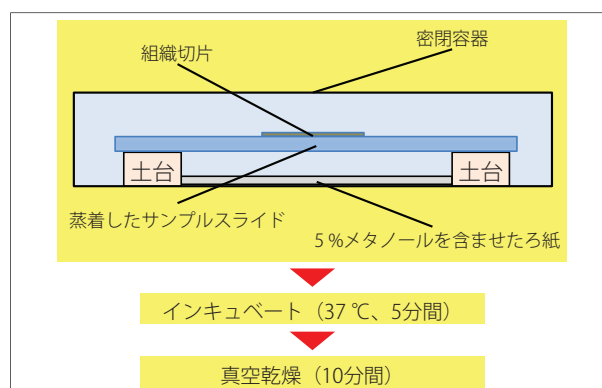


図 2 9AA 蒸着後再結晶化の方法



図3 イメージング質量顕微鏡 iMScope TRIO

表2 iMScope TRIO測定パラメータ

パラメータ	設定
測定エリア	62500 (250×250) points
分析モード	Negative
分子量範囲	$m/z$ 300 - 650
レーザー周波数	1 kHz
レーザー照射回数	50 shots
レーザー照射径	約 5 $\mu$ m
レーザー照射間隔 (空間分解能)	5 $\mu$ m

### 蒸着後再結晶化法を用いた MS イメージングにおける検出感度向上

9AA の蒸着後再結晶化を実施したマウス肝臓サンプルについて、イメージング質量顕微鏡 iMScope TRIO (図3) を用いて、表2の測定パラメータにて、MS イメージング分析を実施しました。

蒸着法でマトリックス塗布したサンプルと蒸着後再結晶化したサンプルの分析結果を比較するため、分析エリアの積算平均スペクトルを比較しました(図4)。蒸着法だけの場合は、マトリックス 9AA 由来ピーク ( $m/z$ 385.14) が強く検出され(図4▼)、低分子代謝物由来のピークは殆ど検出できていませんが、蒸着後再結晶化を実施することで、低分子代謝物由来のピーク強度が増加し(図4▼など)、検出感度向上の効果を確認することができました。また、それぞれの方法で分析したいくつかの低分子代謝物についてのMSイメージにおいても、蒸着後再結晶化を実施することで、より鮮明なMSイメージを描くことが可能となりました(図5)。

このように、従来再結晶化が難しいと言われていた9AAについて蒸着後再結晶化の方法を開発し、蒸着法の利点を損なうことなく高感度なMSイメージング分析を実現することに成功しました。

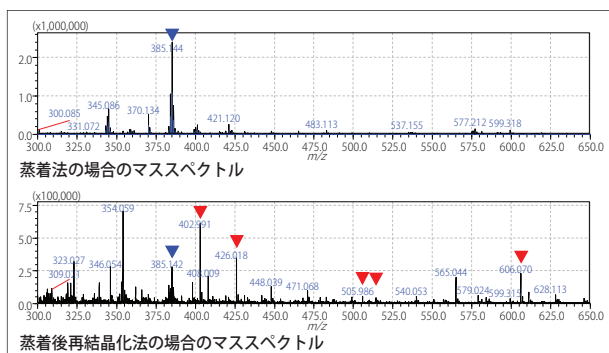


図4 マススペクトル (蒸着法と蒸着後再結晶化法の比較)

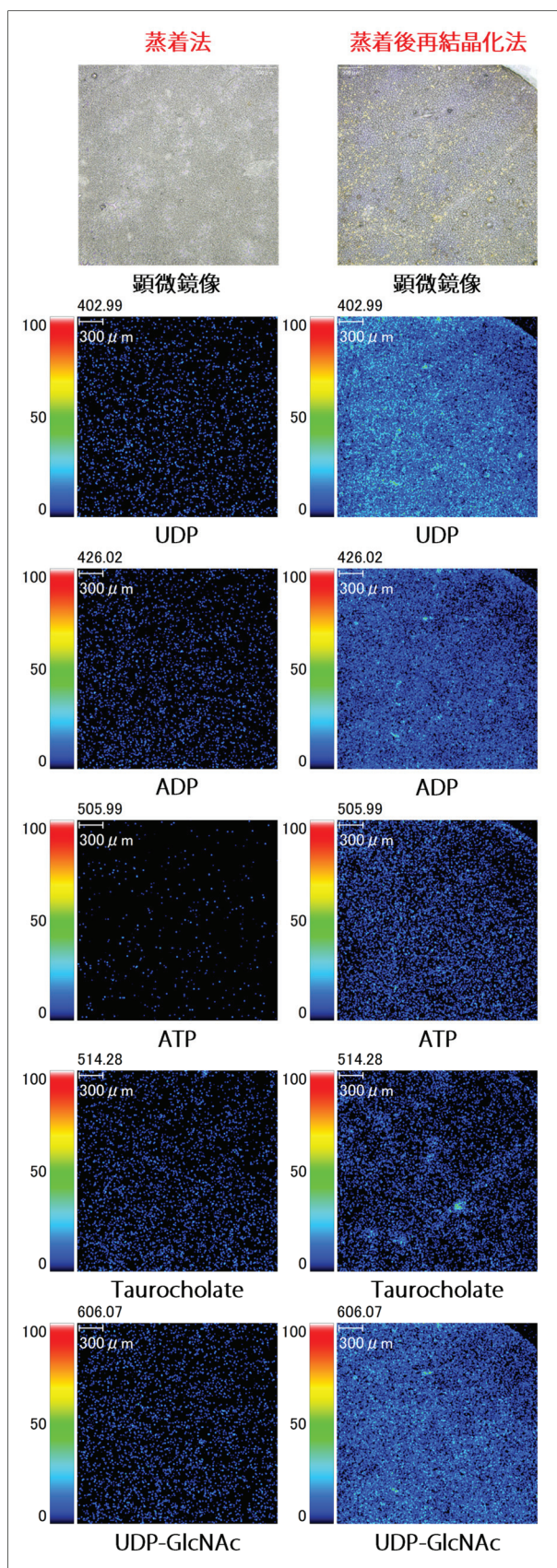


図5 MS イメージ (蒸着法と蒸着後再結晶化法の比較)

株式会社 島津製作所

分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2017年7月

島津コールセンター ☎0120-131691  
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。  
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。