

Application News

No. B53

イメージング質量顕微鏡
Imaging Mass Microscope

iMScope TRIO による高解像度イメージング - 有色ラット網膜におけるクロロキンの局在解析 -

High Spatial Resolution Imaging by iMScope TRIO -Distribution Analysis of Chloroquine in the Rat Retina-

創薬研究において、候補化合物の体内動態解析は、薬効薬理メカニズムの解明のみならず、毒性評価の観点からも重要な情報をもたらします。一般的には、オートラジオグラフィ (Autoradiography: ARG) や蛍光色素を利用した方法が利用されていますが、ARG では費用が高額になることや、蛍光剤をラベル化剤として利用することによる薬物動態への影響が危惧されていました。そこで近年、ノンラベルで候補化合物の局在情報を検出できる手法として、イメージング質量分析法が注目されています。本手法は、ラベルフリーで各種物質の局在解析が行えることに加え、薬物の未変化体と代謝物の解析を同一切片から解析できることから、創薬研究におけるブレークスルーをもたらすことが期待されています。

ここでは、イメージング質量顕微鏡 iMScope TRIO を用いて、クロロキンを投与した有色ラットの網膜を測定した例をご紹介します。

R. Yamaguchi T. Yamamoto

■ラット網膜におけるクロロキンの局在解析

Distribution Analysis of Chloroquine in the Rat Retina

この実験では、抗マラリア剤のひとつであるクロロキンを投与したラットの網膜を測定しました。クロロキンの構造式を Fig. 1 に示します。クロロキン標準品による予備実験にて、マトリックスの選定や測定モードについて最適化し、本実験に適用しました。組織切片での実験条件を、Table 1 に示します。

イメージング質量顕微鏡 iMScope TRIO を用いて、高解像度イメージングを行った結果、約 10 μm の厚みを持つ網膜色素上皮周辺でのクロロキンの分布局在を可視化しました (Fig. 2 および Fig. 3)。

クロロキンの検出においては、通常のイメージング質量分析で用いられる MS モードの解析では、生体由来の夾雑物によるイオンサプレッションの影響で、きれいな MS イメージング画像とはなりません (データ割愛)。今回の実験では、iMScope TRIO による MS/MS モードでの測定により、感度が向上し、10 μm の高空間解像度での MS/MS イメージング画像の取得が可能になりました。

Table 1 実験条件
Analytical Conditions

サンプルおよび前処理条件	
サンプル	: クロロキン投与 (20 mg/kg, po) ラット眼球切片 (OCT 包埋)
マトリックス	: CHCA (蒸着)
分析条件	
測定モード	: positive mode
プリカーサイオン	: m/z 320.190
レーザー照射径	: 10 μm
測定ピッチ	: 10 μm

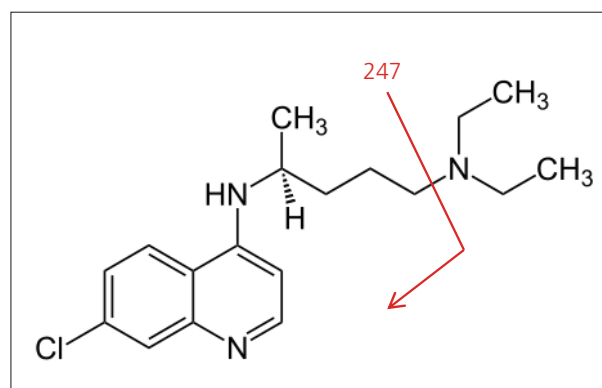


Fig. 1 クロロキンの構造式
Structure of Chloroquine

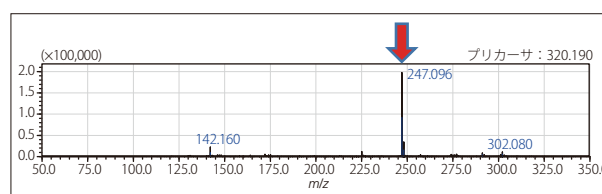
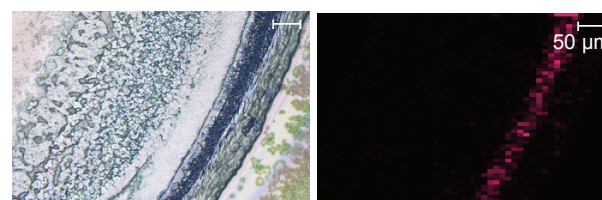


Fig. 2 組織切片上の MS/MS スペクトル
Product Ion Spectrum Acquired Directly on Tissue



光学画像 MS/MS イメージ (m/z 320.190 > 247.096)

Fig. 3 光学画像と MS/MS イメージ
Optical Image and MS/MS Image

■ラット眼球におけるクロロキンの局在解析

Distribution Analysis of Chloroquine in the Rat Eyeball

創薬研究における薬物動態解析においては、高い空間解像度での臓器内局所解析とあわせて、中程度の解像度による臓器内分布計測も望まれます。本実験では、眼球全体におけるクロロキンの分布状況を測定する目的で、中程度の解像度 (50 μm)でのイメージングを行いました (Fig. 4 および Fig. 5)。

10 μm の解像度に比べ、50 μm という少し粗い解像度での測定で生体由来の夾雑ピークが増える中でも目的フラグメントピークで綺麗なマスイメージを描くことができました。

顕微鏡による形態観察とは異なり、ピンポイントでの質量分析を繰り返すイメージング質量分析においては、測定ポイントの数が研究を進める際の律速となります。iMScope TRIOでは、レーザー照射径と測定ピッチを個別に設定することが可能なため、目的に応じた適切な解像度の設定が容易であり、研究推進の効率を向上させることができます。

Table 2 実験条件
Analytical Conditions

サンプルおよび前処理条件	
サンプル	: クロロキン投与 (6 mg/kg)
	: ラット眼球切片 (OCT 包埋)
マトリックス	: CHCA (蒸着)
分析条件	
測定モード	: positive mode
プリカーサイオン	: m/z 320.190
レーザー照射径	: 50 μm
測定ピッチ	: 50 μm

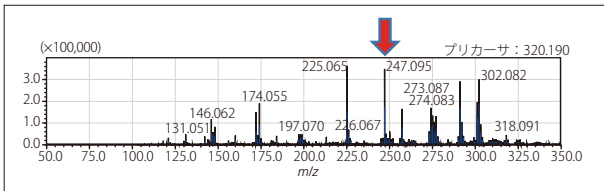
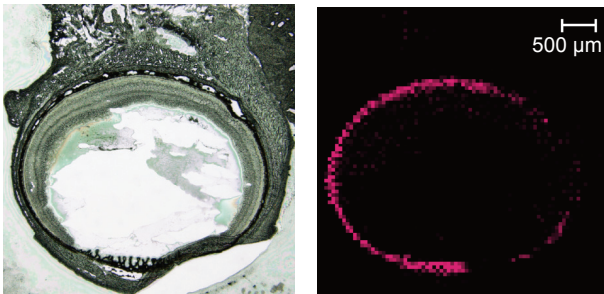
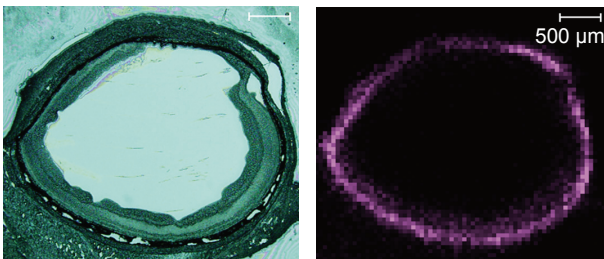


Fig. 4 組織切片上の MS/MS スペクトル
Product Ion Spectrum Acquired Directly on Tissue



光学画像 MS/MSイメージ (m/z 320.190>247.095)

Fig. 5 光学画像と MS/MS イメージ (蒸着法)
Optical Image and MS/MS Image (sublimation method)



光学画像 MS/MSイメージ (m/z 320.190>247.095)

Fig. 7 光学画像と MS/MS イメージ (スプレー法)
Optical Image and MS/MS Image (spray method)

iMScope は、医療機器として承認・認証等を受けた機器ではありません。治療診断目的にはご使用になれません。研究用途にのみ使用可能です。

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：2014年8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。

3100-07401-490-1K
2014.8

■マトリックス塗布方法の比較

Comparison of Matrix Deposition Method

また、本実験を実施するにあたり、マトリックスの塗布方法の比較実験も実施いたしました。MALDI 法によるイメージング質量分析を行う際のマトリックス塗布方法には、スプレー法と iMLayer による蒸着法があります。蒸着法の原理図を Fig. 6 に示します。iMLayer を使用した蒸着法での実験結果を Fig. 5 に、スプレー法での実験結果を Fig. 7 に示します。

蒸着法 (Fig. 5) に比べて、スプレー法 (Fig. 7) による前処理では、クロロキン由来物質の局在が滲んでいるような結果が得られました。今回、クロロキンの検出ではこのような結果となりましたが、実際には化合物によって最適な塗布方法は異なっており、近年では両者を併用した手法の研究も進んでおります。

このように、質量分析イメージング技術においては、切片作成技術はもちろんのこと、マトリックスの塗布方法に関しても、適切な前処理が必要であるといえます。

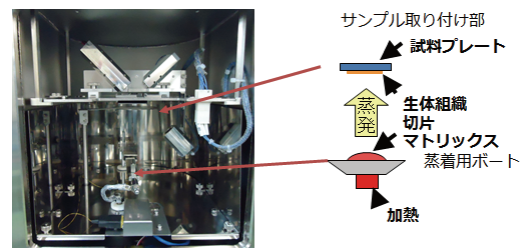


Fig. 6 iMLayer 内部と蒸着法の原理
Inside of iMLayer and the Principle of Sublimation

■同一切片からのマルチプル解析

Combination of MS and MS/MS Imaging on a Single Tissue Section

高空間解像度を持つ質量分析イメージングシステムからは、同一の切片から多くの貴重な情報を得ることが可能です。前述のように、iMScope TRIO ではレーザー照射径と測定ピッチを個別に設定することが可能です。一例としてレーザー照射径を 5 μm 、測定ピッチを 10 μm とした際の測定ポイントレイアウトのイメージ図を示します (Fig. 8)。このような測定ポイントレイアウトを利用することで、MS イメージング解析による結果を踏まえ、興味深い分布を持った複数の物質に対する高空間解像度の MS/MS イメージングを、同一切片から取得することが可能になりました。

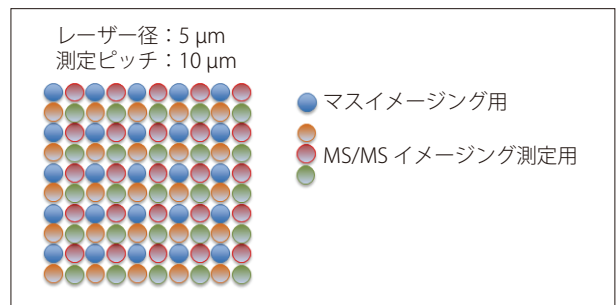


Fig. 8 マルチプル解析を目的とした測定ポイントレイアウト例
An Example of Analysis Point Arrangement for Performing Both MS and MS/MS Imaging

※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。

3100-07401-490-1K
2014.8