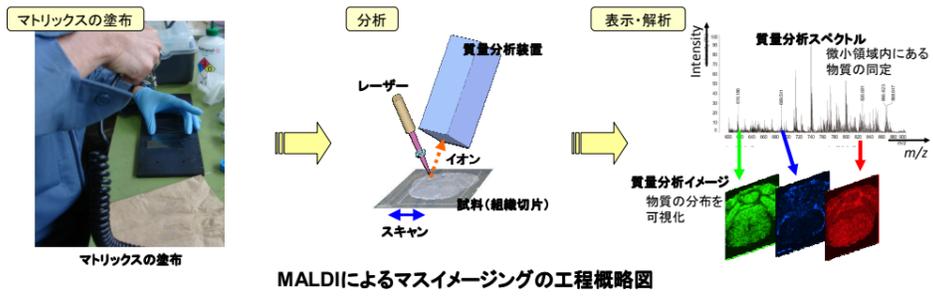


# 高空間分解能MALDI 分析のためのマトリクス塗布方法の検討

○原田高宏・高橋和輝・出水秀明・小河潔・吉田佳一  
株式会社島津製作所

## INTRODUCTION & EXPERIMENT

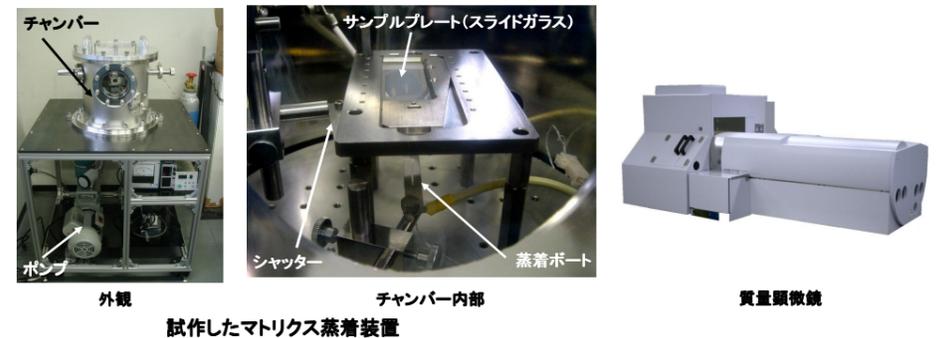
MALDIによるマスマイミゼーションは生体組織中の物質分布を可視化する方法として創薬やバイオマーカー探索、生物学的基礎研究などの分野への応用が期待されている。



MALDIによるマスマイミゼーションの工程概略図

より詳細な知見を得るためには細胞スケール(〜10 μm)の空間分解能が求められているが、そのためには高空間分解能の分析装置の開発だけでなく、マトリクスの塗布方法の開発も重要である。

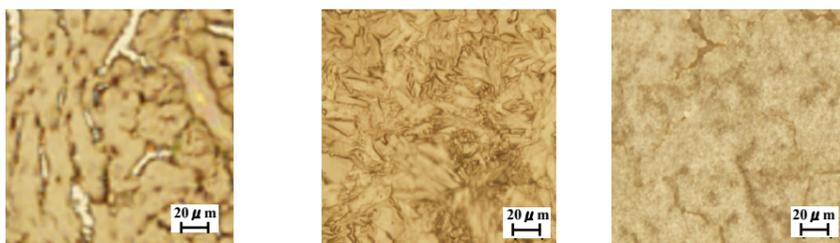
マトリクスの塗布においては、試料表面に小さな結晶を均一に生成することが重要であるが、エアブラシを用いたマトリクス溶液吹き付け(スプレー法)は再現性が乏しく、熟練を要する。この問題を解決するために、マトリクス固体を昇華し塗布する方法(蒸着法)の開発を行っている。測定評価には10 μmのレーザー照射径をもつ質量顕微鏡を使用している。



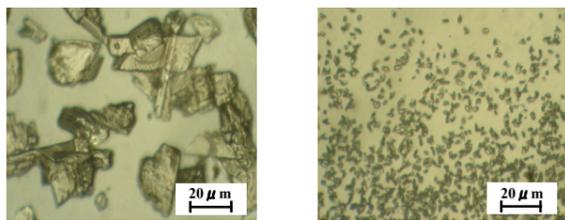
試作したマトリクス蒸着装置

## RESULT

### ①塗布方法によるマトリクス結晶状態の比較



試料切片上でのマトリクス結晶の顕微鏡観察像 (マトリクス: DHB、試料: マウス肝臓)

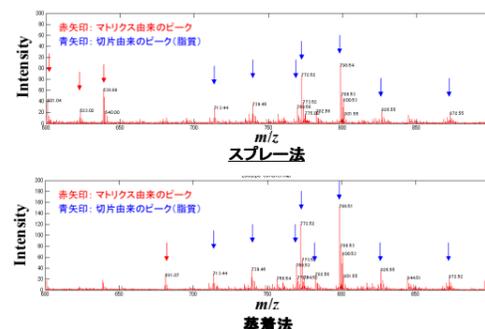
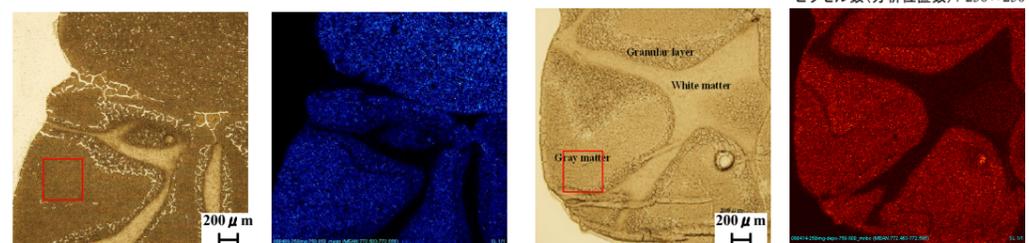


試料切片外でのマトリクス結晶の顕微鏡観察像 (マトリクス: DHB)

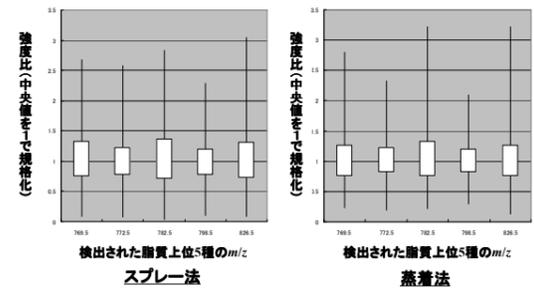
切片上においても切片外においても蒸着法の方がマトリクス結晶が微細になっている → 蒸着法はマトリクス結晶の微細化に有効である

### ②塗布方法による生体由来脂質の分析結果の比較

レーザー照射径: <10 μm  
測定ピッチ: 10 μm  
ピクセル数(分析位置数): 250 × 250

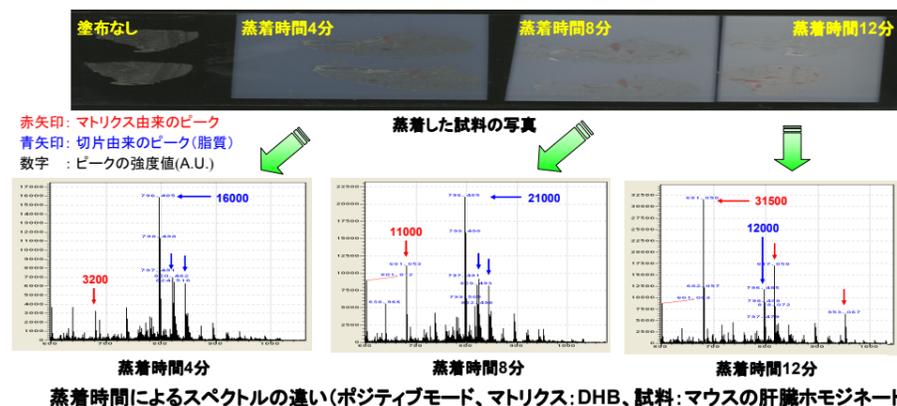


スペクトルの比較 (上図赤枠内の平均スペクトル)  
イメージング結果に大きな違いは見られなかった。検出される脂質も両者でほぼ同じ。ピーク高さのばらつきは蒸着法の方が若干小さい。



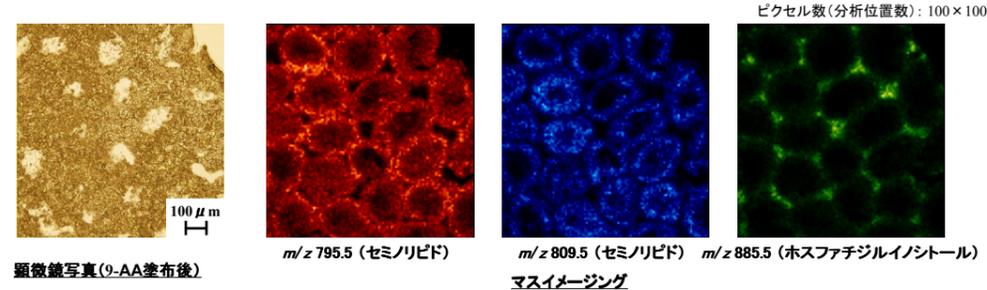
特別な熟練なしでスプレー法と同等の分析を行なえる

### ③蒸着量とスペクトルの関係



蒸着時間を長くすると、マトリクス由来のピークの強度は単調増加し、一方、生体試料由来のピークの強度はある蒸着時間以上で減少に転じる。 → 最適な膜厚で蒸着する必要がある

### ④DHB以外のマトリクスへの応用



近年ネガティブ用のマトリクスとして注目されている9-アミノアクリジン(9-AA)を用いて、セミノリピド(m/z 795.5, 809.5)やホスファチジルイノシトール(m/z 885.5)の特徴的な分布が確認された。

蒸着法はDHB以外のマトリクスにも応用可能

## CONCLUSION

- 高空間分解能のMALDIイメージングのためのマトリクス塗布法としてスプレー法よりも簡便な蒸着法を試し、
- 生体切片上に微細な結晶が生成されることを確認した。
- スプレー法と同様のマスマイミゼーション結果とスペクトルが得られることを確認した。
- マトリクスの蒸着時間に最適値があることを確認した。
- 蒸着法が9-AAにも適用可能であることを示した。

## ACKNOWLEDGEMENT

本研究は、科学技術振興機構(JST)の「先端計測分析技術・機器開発事業」にて実施しており、以下の方々と共同して研究を遂行しています。

- 浜松医科大学 瀬藤光利教授、早坂孝宏助教、井上菜穂子助教、堤弘次博士、木村芳滋博士
- 慶應義塾大学 末松誠教授、涌井昌俊講師、久保亜紀子助教
- 島津製作所 佐藤孝明、梶原茂樹、安野元英、竹下建悟、池上将弘、森永浩子、青木豊、松本結実、蔵谷雄一、山本善文