

質量顕微鏡法のためのマトリクス塗布方法の検討 Study of the matrix deposition method for Mass microscope

○高橋和輝¹・原田高宏¹・松本結実¹・出水秀明¹・小河潔¹・瀬藤光利²

1島津製作所 2浜松医科大学

○ K. Takahashi¹, T. Harada¹, Y. Matsumoto¹, H. Izumi¹, K. Ogawa¹, M. Setou²

1Shimadzu Corporation, 2 Hamamatsu University School of Medicine

1. Introduction

MALDIによるマスマイミゲ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。より詳細な知見を得るためには高い空間分解能とその再現性が求められているが、そのためには分析装置の高性能化だけでなく、前処理法の開発も重要である。中でも特にキーとなるマトリクスに注目し、その塗布方法の検討を行なった。高空間分解能を得るためにはマトリクス塗布において、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。しかし、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)ではマトリクスが試料表面で結晶成長するため、マトリクス結晶サイズが大きくなり、高空間分解能分析に悪影響を及ぼす要因となる。また、スプレー法は結晶粒形成の再現性が乏しく、感度や空間分解能のバラツキの要因となる。そこでこれら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)の検討・評価を行なった。

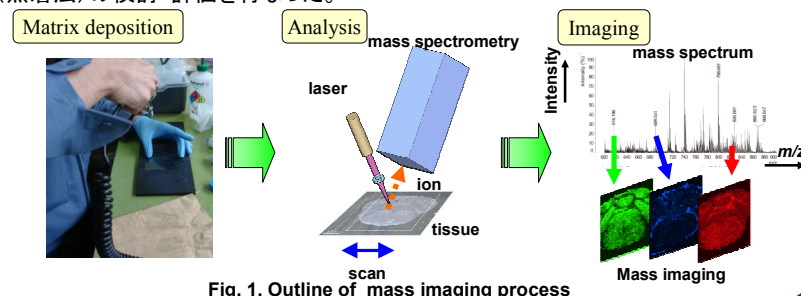


Fig. 1. Outline of mass imaging process

2. Experimental Section

今回蒸着法の条件検討とスプレー法との比較評価実験を行なった。蒸着法は試作した抵抗加熱式真空蒸着装置を用いた。スプレー法は市販のエアブラシ(PS270, GSIクレオス)を用いた。測定サンプルにはマウスの小脳、肝臓、肝臓ホモジネート、精巣を用いた。マトリクスはDHB, CHCA, 9-AAの3種類を用いた。質量分析装置は10μmのレーザー照射径をもつ質量顕微鏡(島津)を用いた。

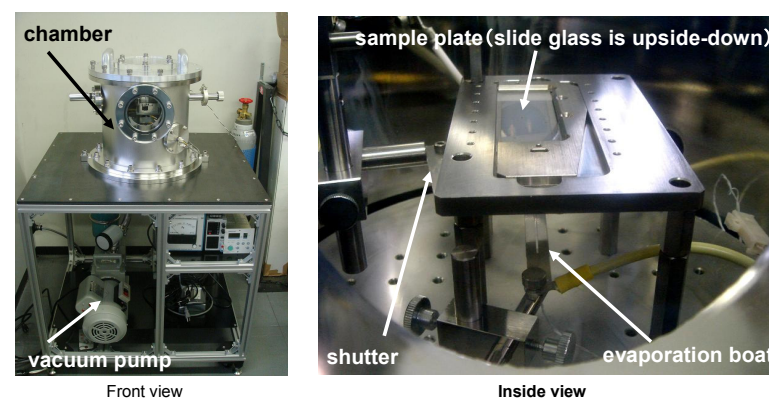


Fig. 2. Matrix deposition prototype system

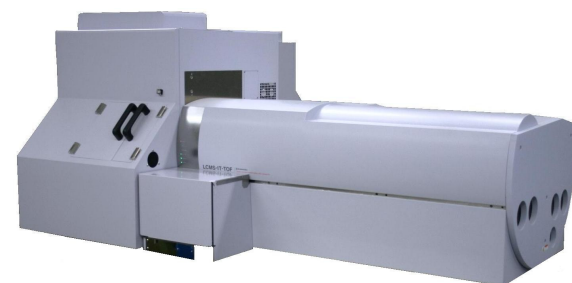


Fig. 3. Mass microscope (Shimadzu)

3. Results and Discussion

①塗布方法によるマトリクス結晶状態の比較

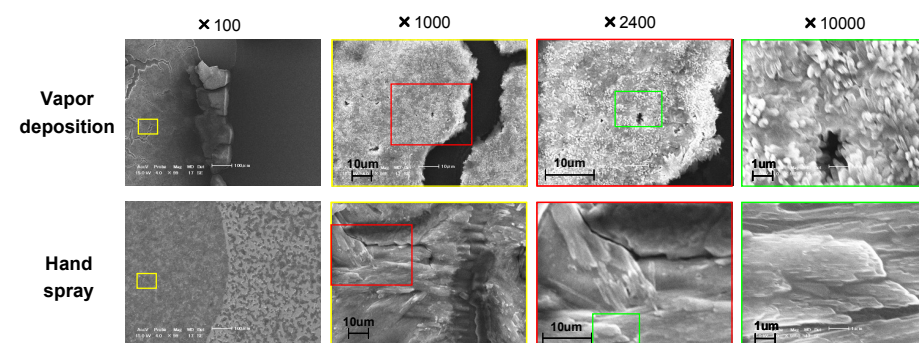


Fig. 4. SEM images for matrix deposition on liver homogenate tissue of mouse

蒸着法ではサンプル表面に均一な大きさの結晶ができています

スプレー法では結晶成長により比較的大きな結晶になっている

蒸着法を用いることで高空間分解能イメージングにも対応できる

②脂質を測定したスペクトルとイメージングの比較

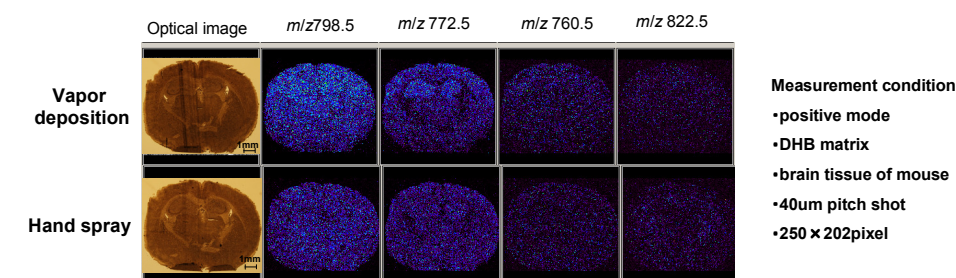


Fig. 5. Optical images (left) and Mass spectrometry images (right) of main lipid peaks.

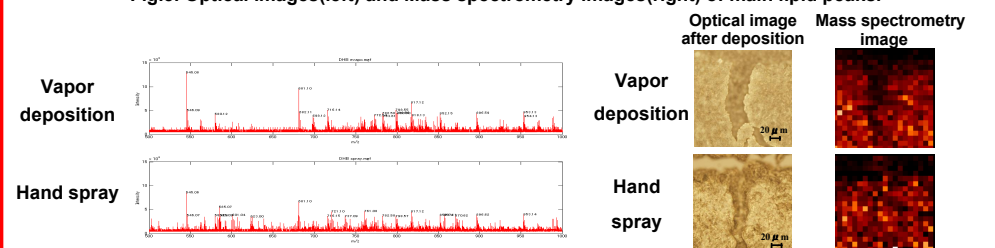


Fig. 6. Mass spectra of Vapor deposition sample and spray deposition sample

Fig. 7. Comparative example of spatial resolution (10μm pitch laser shot, mouse liver)

スペクトルには大きな違いは見られない
空間分解能には違いが見られた

③蒸着量とスペクトルの関係

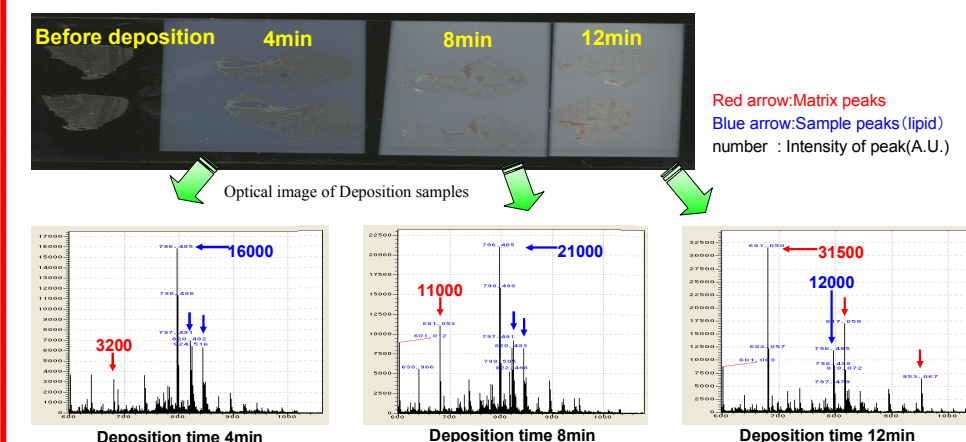


Fig. 8. Optical images and mass spectra of several deposition time samples

(measurement condition: positive mode, DHB matrix, liver homogenate tissue of mouse)

スプレー法と同様に塗布量によりスペクトルに違いが見られ最適量が存在する

ハンドスプレーでは調整要素が多い(溶液の濃度、塗布量、塗布技術、塗布環境など)

蒸着時間の制御でスペクトルの最適化ができる

④DHB以外のマトリクスへの蒸着法の応用

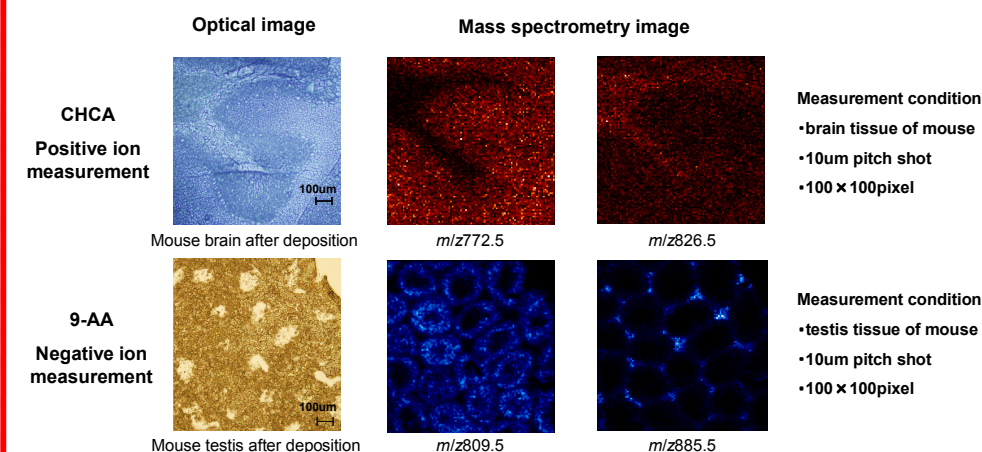


Fig. 9. Optical images (left) and Mass spectrometry images (right) of specific peaks

蒸着塗布したCHCA, 9-AAIについてのイメージング例も取得した

蒸着法で主要マトリクスを用いた測定実験に対応できる

4. Conclusion

- ・蒸着法を用いることで高空間分解能イメージングにも対応できる
- ・スペクトルには大きな違いは見られなかった
- ・蒸着時間の制御でスペクトルの最適化ができる
- ・蒸着法で主要マトリクスを用いた測定実験に対応できる
- ・蒸着法により初心者でも熟練したスプレー法と同等以上の高空間分解能分析ができる

今後の課題点

現状の蒸着法では測定できない物質もある(HemeB) 再結晶化などの方法を検討

謝辞

本発表を行うにあたりまして浜松医科大学の早坂孝宏先生、井上菜穂子先生にはサンプルのご提供などいろいろとご協力いただきました。この場をお借りしてお礼申し上げます。なお、この開発は独立行政法人科学技術振興機構の産学イノベーション加速事業【先端計測分析技術・機器開発】による成果である。