

Point

質量分析イメージング(以下、MSI)とは、試料の表面を質量分析することで、物質の二次元的局在を明らかにする技術です。主に、薄く切った動物組織表面の脂質やタンパク質などの生体高分子をマッピングすることに用いられます。また、生体以外の試料も扱うことができるため、医学・薬学・工学分野で活用が期待されます。MSIの基本とその応用技術についてご紹介します。

## 質量分析イメージングによる物質の局在解析

食品・生命科学研究所 プロフェニクス事業部 山縣 彰

### はじめに

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計(以下、MALDI-TOF/TOF型質量分析計)は、タンパク質やペプチドなどの生体分子の分析に力を発揮し、当事業部の主業務であるタンパク質の網羅的分析(プロテオーム解析)において重要な解析装置です。2016年に導入した新型機ultrafleXtreme(写真1)は、高速化と自動化が進み、精度、分解能が従来機に比べて大幅に向上しているのに加えて、近年MALDI型の質量分析計で注目されているMSIを可能としていることが最大の特長です。

MSIは組織切片の表面をメッシュ状にレーザーを照射して質量分析をすることにより、生体高分子や代謝物、化学物質の二次元的な局在を明らかにする技術です。さらに、生体組織に限らず、薄膜状であれば分析対象にできるために、医学・薬学分野だけでなく、工学分野でも活用が期待されています。

しかし薄膜加工処理やデータ解析に高度な技術が必要なため、一部の先端的な研究所や大企業での利用にとどまっています。当社では、この技術の幅広い活用に向けてMSI受託分析を開始すると同時に、応用技術の開発を目指しています。



写真1 ultrafleXtreme(Bruker Daltonics社製)

### MALDI-TOF/TOF型質量分析計について

MALDI-TOF/TOF型質量分析計の原理について説明します。質量を測定するには、試料に高エネルギーのレーザーを照射するなどの方法でイオン化する必要があります。ところが、レーザーを試料へ直接照射すると分析したい物質が壊れてしまうので、試料とマトリックス(低分

子化合物)との混合物にレーザーを照射します(図1)。混合物中のマトリックスがレーザーのエネルギーを受け取ると、周囲の試料を巻き込みつつ気化し、マトリックスと試料との間で水素イオン(プロトン)を受け渡して試料のイオン化が起きます。このマトリックスを介する手法は、分解しやすい生体高分子のイオン化に初めて成功した重要性が認められ、発見者の島津製作所の田中耕一氏らにノーベル化学賞が授与されました。

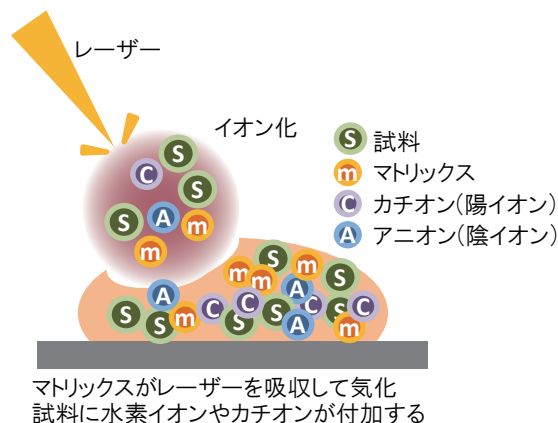
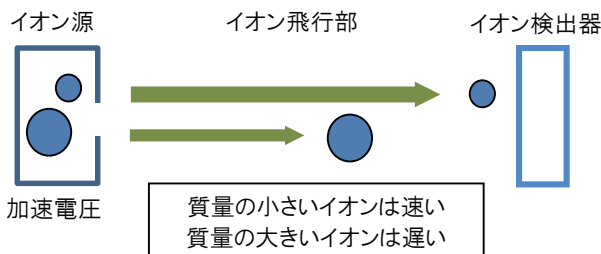


図1 マトリックス支援レーザー脱離イオン化法の原理

イオン化された試料は、加速電圧を与えられて、真空の飛行管の中をイオン検出器まで飛んでいきます。質量が小さいイオンは速く、質量が大きいイオンはゆっくりと飛ぶために、検出器に到達した時間からイオンの質量を計算できます(図2)。これを飛行時間型(Time of Flight)質量分析計といいます。



各イオンの到達時間から質量を測定

図2 飛行時間型質量分析計の原理

MSIは、これらを基本技術として、レーザーを一定の間隔で試料平面を照射していき、すべてのポイントで質量分析を行うという手法です。

## 動物組織切片のMSI例

図3はマウス脳の組織切片のMSIの結果です。凍結させた脳組織を前後方向から縦に10 $\mu$ mの厚さでスライスして電気伝導性のあるITO(Indium Tin Oxide)コートされたスライドガラスに切片をのせて乾燥させました。マトリックスとしてDHB溶液(30g/L 2,5-dihydroxybenzoic acid, 90% MeOH, 0.2% TFA)を噴霧して、50 $\mu$ mの間隔でレーザーを照射し、質量分析を行いました。切片は5mm $\times$ 10mmの大きさで、約2万ポイントを測定しています。全ポイントの質量分析データを専用のソフトウェアで解析することで、さまざまな質量を持つ脂質分子が切片のどこに存在するか、質量ごとに色を塗り分けることで視覚化しています。

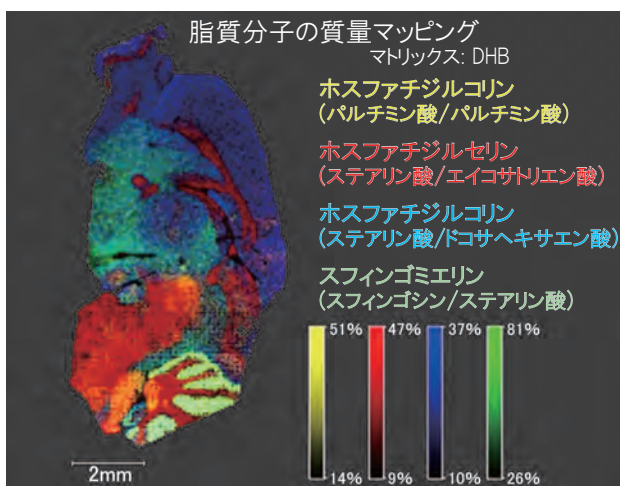


図3 マウス脳組織のMSI

DHBは脂質分子をイオン化するのに適していますが、ほかのマトリックスの例では、9-アミノアクリジンは薬物などの低分子化合物を、シナピン酸はタンパク質などの高分子化合物を効率よくイオン化します。目的に応じてマトリックスを変更することで、性質の異なるさまざまな化合物が測定できます。

## さまざまな分野のMSI例

MSIを利用したさまざまな分析例を紹介します。

### (1) 薬物と代謝物の分析

実験動物に薬物を投与して、肝臓などの組織切片をMSIで分析すると、薬物やその代謝物の切片中の局在を明らかにできます。時間経過によって薬物がどこに移動し、どのように代謝されるのか解析することも可能です<sup>1)</sup>。また質量の小さな変化を見分けますので、薬物の標的となるタンパク質がアセチル化などの修飾を受けたことも分かります<sup>2)</sup>。このような薬物に関連する分析は、目的物質の質量が既知であることから、MSIが最も得意とする分野の一つです。

### (2) 大規模データベースの構築

生物学では、組織切片を特殊な染料に浸して顕微鏡で内部構造を観察する組織学的な研究がよく行われます。現在では、これらに隣接する組織切片のMSI分析を行い、顕微鏡像と重ね合わせることで、組織学的知見と物質の局在情報を統合するデータベースの作成が試みられ、新たな知見を引き出すことが期待されます<sup>3)</sup>。

### (3) ユニークな分析例

組織切片ではなく、薄膜状の試料を分析する手法もさまざまです。図4aでは導電性テープで植物の葉を測定用金属プレートに張り付けてMSI分析を行うことにより、噴霧された農薬がどのように残留するかを明らかにしています<sup>4)</sup>。図4bは、導電性スライドガラスに微生物によるバイオフィームを形成させています。このスライドガラスをMSIで分析すると、気相、液相、界面の異なる環境で培養された微生物の生産物を比較できます<sup>5)</sup>。図4cでは、記録用メディアであるハードディスクから金属円盤を取り外し、測定用の金属プレートに張り付けてMSI分析しています。これにより、円盤表面にコートされた潤滑剤の劣化を評価しています<sup>1)</sup>。

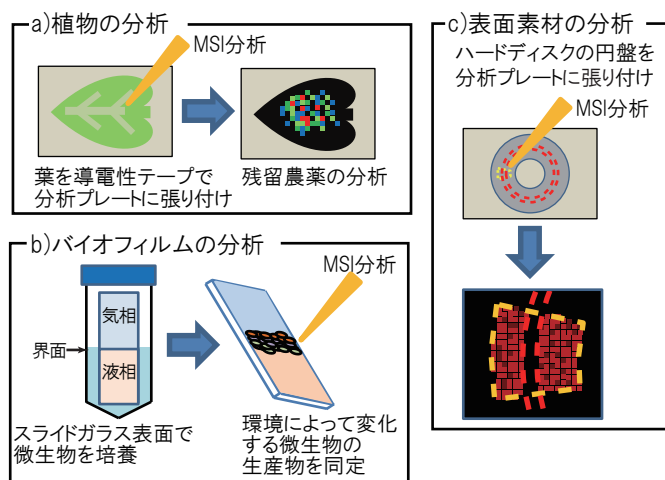


図4 ユニークな分析例

## おわりに

現状では、MSIの認知度は一部の研究分野を除きそれほど高くはありません。MSIは「薄膜表面の物質の質量を測定する」技術であり、医学・薬学以外にもさまざまな分野に活用ができます。また、MSIの結果は視覚的に分かりやすくインパクトがあります。当社は引き続きMSI技術の多方面への普及と応用技術に取り組んでまいります。

### 〔参考文献〕

- 1) 荻澤(2016), イメージング質量分析概論, プルカー・ダルトニクス株式会社セミナー資料
- 2) Munteanu, et al.(2014), Anal. Chem. 86(10)
- 3) Carreira, et al.(2015), J. Am. Soc. Mass Spectrom. 26(6)
- 4) Annangudi, et al.(2015), Environ. Sci. Technol. 49(9)
- 5) Floyd, et al.(2015), PLoS Pathog. 11(3)