

イメージング質量分析装置のサンプル作製から測定・解析まで

～技術職員の専門性を活かした連携・技術共有に向けて～

○江上 三佳^{a)}、下中 智美^{b)}

^{a)}大阪公立大学 総合技術課 医学機能系グループ、^{b)}大阪公立大学 総合技術課 分析グループ

1. はじめに

大阪公立大学は、2022 年 4 月に大阪市立大学と大阪府立大学の統合により開学し、現在はなかもず・杉本・阿倍野・森之宮・りんくうの 5 キャンパスを有する。2025 年 4 月には、全学に分散して所属していた教育研究系技術職員を集約・組織化し、「総合技術部」が設置されたが、技術職員の専門性を活かした横断的な協力体制は十分に構築されているとはいえない。

なかもずキャンパス ia (innovation academy) 棟には新たにイメージング質量顕微鏡 iMScope QTTMが導入された。本装置は、質量分析と光学顕微鏡を融合し、顕微鏡画像上で化学成分の分布を可視化できる点に特徴があり、疾患バイオマーカー探索、薬物動態解析、薬効機構解析、食品工学、法医学など、幅広い研究分野で利用されている。現在は異なるキャンパスに所属する 3 名の技術職員が担当し、利用者への初期講習や技術支援を行っている。

質量分析イメージングは、「試料前処理」「質量分析（測定）」「データ解析」の 3 工程から構成される。なかでも試料前処理は、測定結果の品質や再現性を大きく左右する重要な工程である。しかし、本学の技術職員がこれらを体系的に学び、実践的な技術を習得する機会は限られていた。そこで本実習では装置担当者および TC カレッジのカリキュラムを通して質量分析イメージングに関心を持った職員を対象に試料前処理から測定・解析までの一連の流れを実際に体験する機会を設けた。特に測定結果に大きな影響を与える試料前処理技術の獲得に重点を置き、必要な知識と技術の獲得を目的とした。また、技術職員間の交流と連携を促進し、総合技術部における横断的な協力体制の強化につながることも目的とした。

2. 事前準備と実習内容

2-1. サンプルの準備 実習試料としてマウスの肝臓を使用し、薄切まで -80°C で保存した。また、クリオスタットによる薄切練習用試料として -30°C で保存していたラット肝臓を用いた。

2-2. クリオスタットを用いた薄切 医学形態系グループの技術職員よりクリオスタットの基本操作および使用時の注意点について説明を受けた後、各参加者が実際に薄切を行った。

2-3. 包埋方法の比較 質量分析イメージングでは、一般的な凍結包埋剤である OCT コンパウンドの成分が目的化合物のイオン化を阻害する可能性があるため、臓器などの試料では凍結後に包埋せず薄切する方法が広く用いられる。一方、マウス脳のような小型で軟らかい組織では、形状保持が難しいためゼラチンまたは CMC (Carboxymethyl Cellulose Sodium Salt) で包埋してから薄切する方法が利用されている。

本実習では、マウス肝臓を用いて「ゼラチン包埋」「CMC 包埋」「包埋なし」の 3 条件で試料を作製し、薄切を実施した。事前検討では、ゼラチンは約 60°C で溶解した後、人肌程度まで冷却すること

で使用可能であった。一方、CMC は吸水性が非常に高く、水と接触すると表面がゲル化して内部が溶解しにくい性質を示した。少量ずつの添加では改善が得られなかったが、70 °Cの恒温器で約 1 時間加温しその後約 12 時間保温することでほぼ均一な溶液を得ることができた。

参加者はそれぞれ異なるキャンパスに所属しており、実習にはキャンパス間の移動を伴うため限られた時間を有効活用する目的で、筆者が事前にクリオスタット操作講習を受講し取扱マニュアルを作成した。またゼラチン、CMC の溶解条件の検討結果を報告書として取りまとめ、事前共有することで当日の作業の円滑化を図った。

2-4. 目的化合物の検出および MS イメージングの取得

薄切後の試料に対し、マトリックス試薬 2,5-Dihydroxybenzoic Acid (DHB)を膜厚 1.2 μm で蒸着した。その後、イメージング質量顕微鏡が設置されているなかもずキャンパスへ移動し測定・解析を行った。測定条件はレーザー照射回数 100 回、照射径 8 μm 、レーザー強度 93.5 とし、MS 分析はポジティブモード、測定範囲は $m/z=200.0000\sim1000.0000$ に設定した。目的化合物として以下のリン脂質 3 種を選定し、メーカー技術担当者の助言を受け MS イメージングを取得した。

- Phosphatidylcholine(32:0) + K⁺, m/z 772.525862
- Phosphatidylcholine(34:2) + K⁺, m/z 796.525862
- Phosphatidylcholine(34:1) + K⁺, m/z 798.541512

3. 結果とまとめ

得られたデータを IMAGEREVEAL™ MS を用いて解析した結果 (図 1)、マトリックス試薬由来ピーク ($m/z=273.041$) は十分な強度で検出されたものの、目的化合物のシグナル強度は低く、明瞭な MS イメージングの取得には至らなかった。しかし、前処理条件が測定結果に大きく影響することを実践的に理解できた。

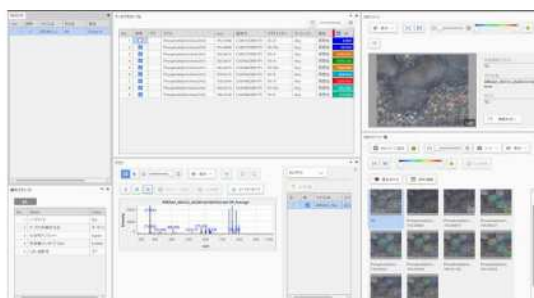


図 1. IMAGEREVEAL MS による測定データの表示と解析

OCT コンパウンドは質量分析に影響を及ぼす懸

念があるため避け、ゼラチン、CMC による包埋を検討したが、包埋試料では薄切時に臓器部分が脆くなり、しわや変形を生じやすい傾向が認められた。最終的に包埋なしの肝臓試料を測定に使用した。

質量分析イメージングでは、測定に耐えうる厚さ (10 μm 以上) の切片を作製する必要がある一方、試料中の化合物分布を保持するためには固定処理や過度な包埋材の浸透を避けなければならない。このことから、今後は薄切技術のさらなる習熟に加え、試料選択や包埋条件の最適化を含めた前処理方法について継続的に検討する必要があると考えられた。また、本実習は異なる専門分野を有する技術職員が知識や技術を共有し、相互に学び合う貴重な機会となった。キャンパスの枠を超えた技術職員のネットワーク形成や連携強化にもつながり、総合技術部における横断的な協力体制の構築に寄与したと考えられる。今後は本実習で得られた知識・技術を研究者への技術支援に還元し、本学における研究活動のさらなる発展に貢献していきたい。

謝辞 本要旨の作成にあたり、株式会社島津製作所 海野 結実様には実習内容ならびに事前準備に関して多くの有益なご助言を賜りました。また大阪公立大学研究推進機構共用研究機器センター 塩田正之先生には実習用サンプルのご提供をいただきました。ここに記して深く感謝申し上げます。