

## イメージング質量分析法と走査型電子顕微鏡による指紋分析

### 【はじめに】

マトリックス支援レーザー脱離イオン化を用いたイメージング質量分析法(MALDI-Imaging)は、サンプル表面の有機化合物の分布を可視化できる最先端の質量分析法である。主に凍結組織切片表面の脂質・ペプチド・薬剤とその代謝物などを中心にアプリケーションを拡大している。MALDI-Imagingでは、レーザーをサンプル表面上で2次元に走査し、各レーザー照射位置におけるマススペクトルを取得する。この2次元の位置情報を持つマススペクトル群を解析することで、特定の分子量をもつ有機化合物のサンプル表面の分布を、マスイメージとして示すことができる。

JMS-S3000 *SpiralTOF* (Fig. 1) は、JEOL独自のらせん軌道型イオン光学系を採用している。従来のリフレクトロン型イオン光学系より5-10倍長い17mの飛行距離を有しており、世界最高の質量分解能と質量精度を誇るMALDI-TOFMSシステムである。*SpiralTOF*を用いたMALDI-Imagingでは、高質量分解能の定性分析および夾雑物の影響をほとんど受けない化合物分布の取得を同時に行うことができる。本調査では、*SpiralTOF*を用いた喫煙者・非喫煙者の指紋のMALDI-Imaging分析結果を報告する。また、JEOL JSM-7800Fサーマル電界放出形走査電子顕微鏡(FE-SEM) (Fig. 2)によって、喫煙者の指紋も観察した。



Fig. 1 JMS-S3000 *SpiralTOF*.



Fig. 2 JSM-7800F Thermal FE SEM.

## 【実験】

サンプルの情報と測定条件を以下に示す。サンプルには、非喫煙者および喫煙者の指紋を用いた。導電性のITOスライドガラス(HST社製, 厚さ0.7mm, TypeII)に右手の人差し指を押し付け、測定試料をとした(Fig. 3)。質量校正用標準物質としてPPG400とPPG1000の混合物をそのそばに滴下した。マトリックス化合物にはDHBを用い、30mg/mLの70%メタノール溶液とした。このDHBマトリックス溶液2mLを、エアブラシを用いてスライドガラス上の指紋に噴霧した。サンプルは乾燥させた後SpiralTOFに導入した。データ取得は、SpiralTOF Positive ionモードで、測定領域7.2mm×10.0mmを、1ピクセルの大きさ0.08mm角に設定し(測定領域全体で11125ピクセル)、実施した。得られたデータは、imzML形式に変換し、Biomap3.8で解析を行った。

また、JSM-7800Fで喫煙者の指紋の二次電子像(SEM像)も取得した。サンプルは、前処理としてコーティングは行っていない。加速電圧は1kVとし、倍率50倍と5000倍で試料を観察した。

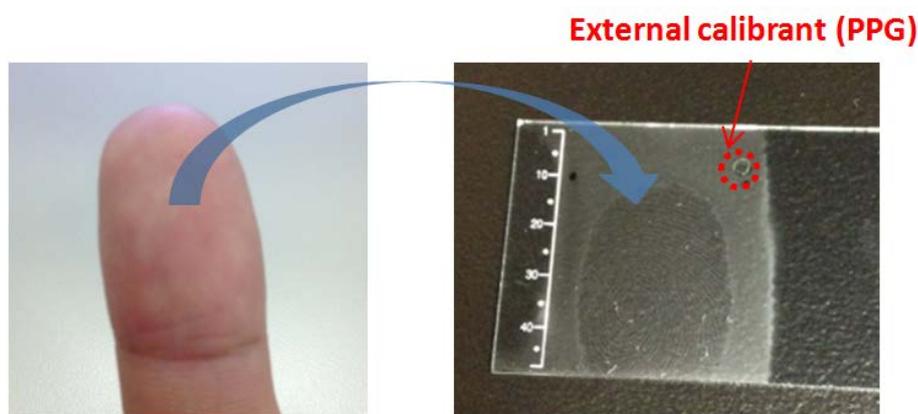


Fig. 3 Fingerprint sample.

## 【結果及び考察】

### 指紋上の脂質分析

全ピクセルの平均マススペクトルを、Fig. 4に示す。 $m/z$  700~900の範囲に、脂質由来のピークを観測することができた。そこで3種類の脂質( $m/z$  771.7, 827.8, 907.8)の指紋表面のマスイメージをFig. 5に示す。各画像の右側に表示したスケールバーは、すべてのマスイメージが同じ強度範囲で表示されていることを示している。Fig. 5a~cを観察すると、3つの脂質の分布は指紋の形をそのまま反映しているだけであり、大きな差は見られなかった。

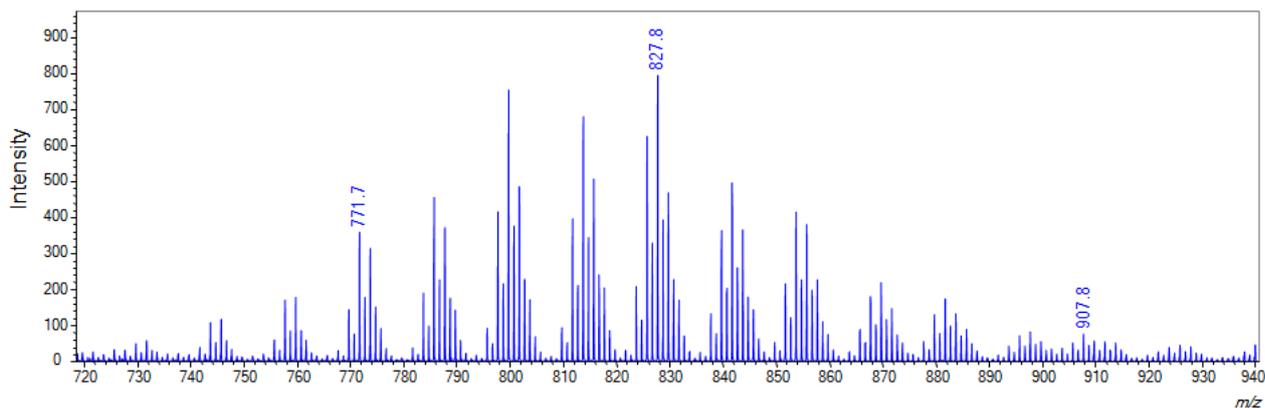


Fig. 4 Averaged mass spectrum of all measured region.

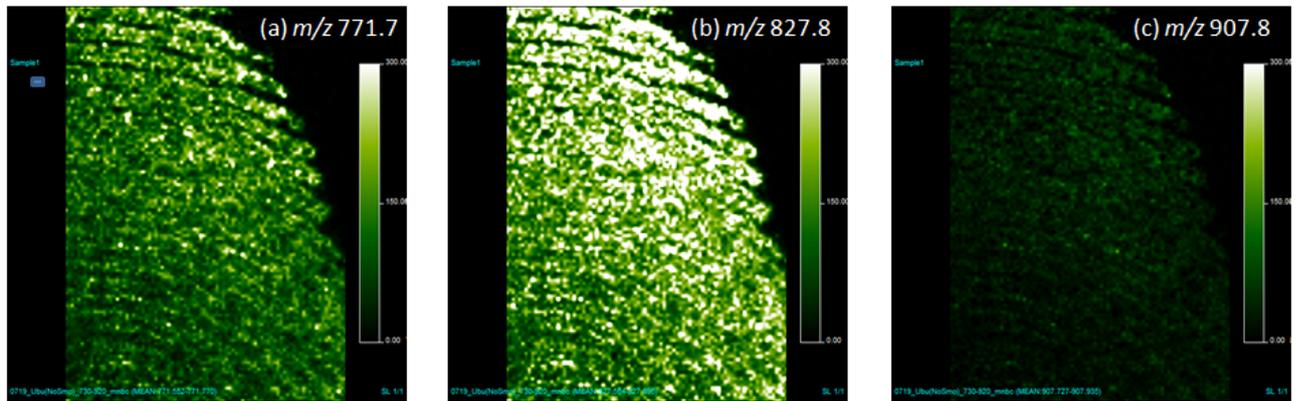


Fig. 5. Mass images of (a)  $m/z$  771.7, (b)  $m/z$  827.8, and (c)  $m/z$  907.8

### 指紋上のニコチン分析

次に、同一のマスイメージデータから、指紋上のニコチンの分布を調べた。喫煙者と非喫煙者それぞれの全ピクセルの平均マススペクトルをFig. 6aと6bに示す。喫煙者と非喫煙者の平均スペクトルを比較すると、ニコチンのプロトン付加分子( $C_{10}H_{15}N_2^+$ ,  $m/z$  163.13)が、喫煙者の指紋表面に顕著に観測 (Fig. 6a) された。一方非喫煙者の平均マススペクトルには、 $m/z$  163.13にはピークは観測されず、近接する  $m/z$  163.05に夾雑物由来のピークのみを観測した。Fig. 6c, dにそれぞれの  $m/z$  163.13のマスイメージを示す。各イメージの右側のスケールバーに示すように、両マスイメージは同じ強度範囲で表示している。喫煙者の指紋全体にニコチンが分布していることが観測されたのに対し、非喫煙者の指紋からは検出されなかった。喫煙者が喫煙時にニコチンにさらされることを考慮すれば、これは妥当な結果といえる。以上のことから、*SpiralTOF* によるMALDI-Imagingは高質量分解能により夾雑物の影響を低減し、サンプル表面の低分子化合物の分布を明確に可視化するための有効な分析ツールであることが示された。

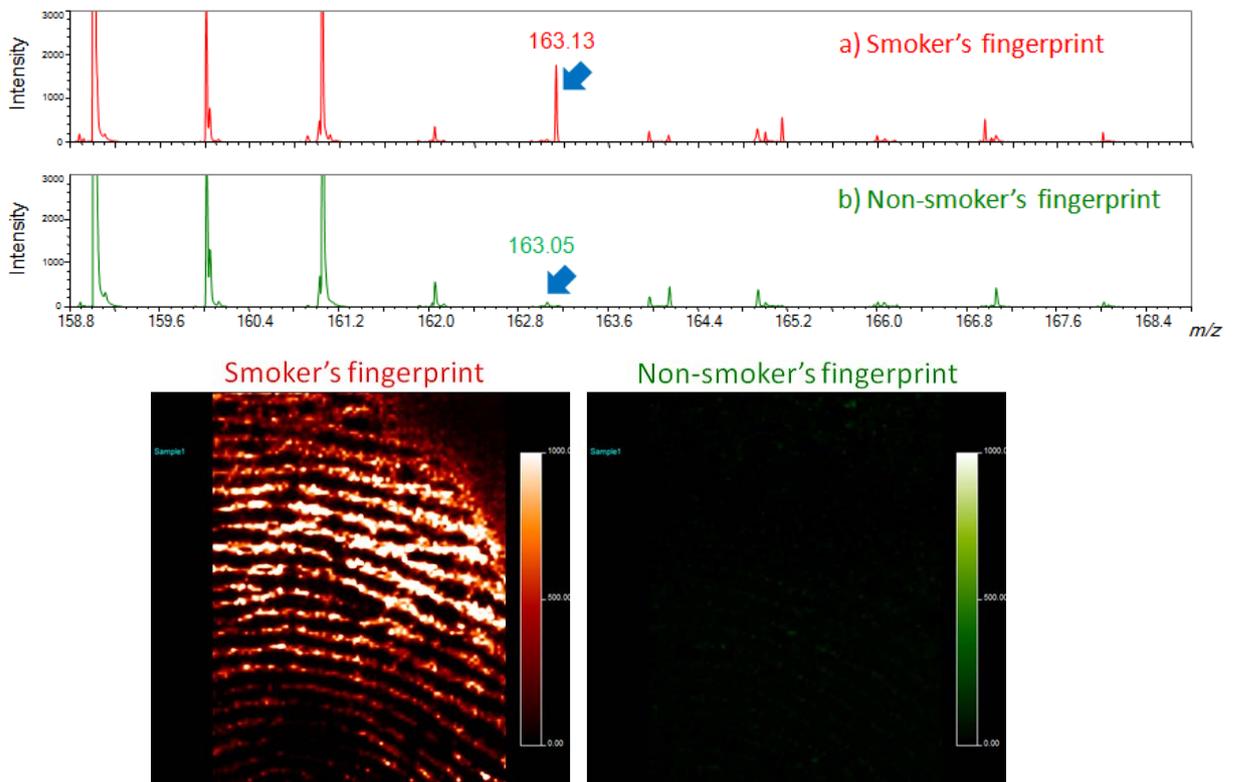


Fig. 6. Enlarged averaged mass spectra from (a) smoker's and (b) non-smoker's fingerprints, and their mass images at  $m/z$  163.13 were shown in (c) and (d), respectively

## 指紋表面のSEM像

次に、JEOL JSM-7800Fサーマル電界放出形走査電子顕微鏡によって、喫煙者の指紋を調査した。SEM像をFig. 7に示す。指紋表面から多量の皮脂、粒子、その他の汚れが観察された。JSM-7800Fでは、より低い加速電圧に設定することで、有機物についての明確なSEM像の取得が可能である。

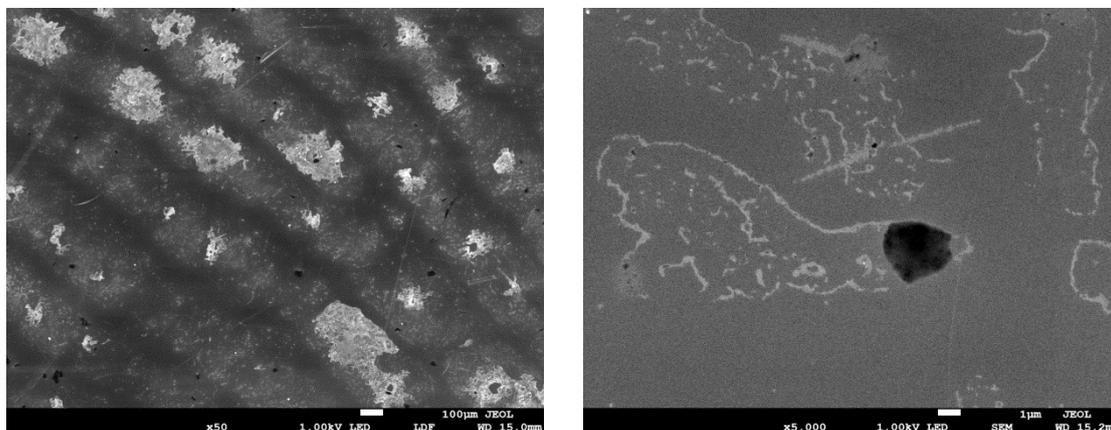


Fig. 7 SEM images of fingerprints × 50 (left) and × 5000 (right)

## 【まとめ】

MALDI-Imagingにより指紋表面の脂質とニコチンの分布を可視化することができた。高い質量分解能を有するJMS-S3000 *SpiralTOF* によるMALDI-Imagingは低分子領域において夾雑物と分離できるため、より鮮明なマスイメージを取得できることを示した。また、JSM-7800F FE-SEMでは、指紋表面に存在する有機物質を明確に観察することができる。今後、MALDI-ImagingとFE-SEMから得られる相補的な情報を利用し、より有用な知見を得ることができるようになると期待される。

日本電子株式会社

<http://www.jeol.co.jp>

お問い合わせ先: グローバル営業本部  
(03)6262-3568

本誌に掲載するデータは、その作成にあたって万全を期しておりますが、記載内容の正確性に関して弊社が保証するものではありません。

弊社は、掲載データを直接的あるいは間接的に使用して生じた、いかなる損害に対しても一切の責任を負わないものとします。本紙の記載内容は将来予告なしに変更することがあります。

Copyright (C) 2015 JEOL Ltd. All Rights Reserved.

<T4111-TY>