PR0098 標準試料を用いた LA-ICP-MS/MS による初期胚の 多元素空間分布分析法の改良

〇田中正太郎¹、大久保奈弥²、大野剛¹ (¹学習院大学、²東京経済大学)

【序論】

生体内金属元素の機能と分布を調べるメタロミクスの分野において、生物の初期胚における金属元素分布を調べることは、金属元素の発生段階における役割を知る上で重要である。近年、メタロミクスの分野では、様々な空間分布分析方法が目的に応じて用いられている。特に、レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析法(LA-ICP-MS/MS)は初期胚の微量元素分布分析で必要とされるppb レベルの多元素同時分析が可能であるため、注目を集めている。しかし、鉱物測定におけるNISTのような標準が存在しないため、濃度計測が困難であることや長時間の測定による感度低下などの問題点が存在する。そこで、本研究では、生体試料に適した標準試料を作成・使用することで、アフリカツメガエルとミドリイシサンゴの初期胚を対象としたLA-ICP-MS/MS による空間分布分析法の改良を試みた。

【分析方法】

胚試料はホルマリンを用い組織固定し、エタノールで脱水後、低温合成樹脂を用い、樹脂化させた。次にミクロトームを用いて厚さ7µmの連続切片にすることで測定試料を作成した。標準試料は、均一化した鶏の全卵を加熱することで固体化後、測定試料と同様の方法で、脱水・樹脂化させることで作成した。イメージング結果の濃度化については、標準を用いた検量線法より算出した。また、時間による感度低下の補正については、測定の際、測定試料に対し標準を挟み込む形で測定を行うことで、標準の感度変化より補正を行った。

【結果・考察】

カエルおよびサンゴにおいて、それぞれ 8,11 種の発生段階、20,15 種の元素を測定し、1,2 族を除く元素についてイメージングに成功した。また、作成した標準試料を用い、サンゴ胚に対して、そのうち 9 種の元素について検量線法を用い、定量化を試みた。その結果、ppb レベルでの定量結果が得られた。また、分解能 $5\mu m$ のイメージング分析について、標準試料を用い測定時間による感度変化補正を行ったところ、5 時間の測定中に $2\sim3$ 割程度の感度低下が起こっていた Cu や Fe に関しても、良好な補正結果が得られた。以上の結果より、LA-ICP-MS/MS を用いた初期胚の多元素分布分析法における自作標準試料の有用性が確認された。

Multi-elemenal spatial distribution analysis for early embryos using LA-ICP-MS/MS with a homemade standard.

*S. Tanaka¹, N. Okubo², T. Ohno¹ (¹Gakushuin Uinv., ² Tokyo Keizai Univ.)