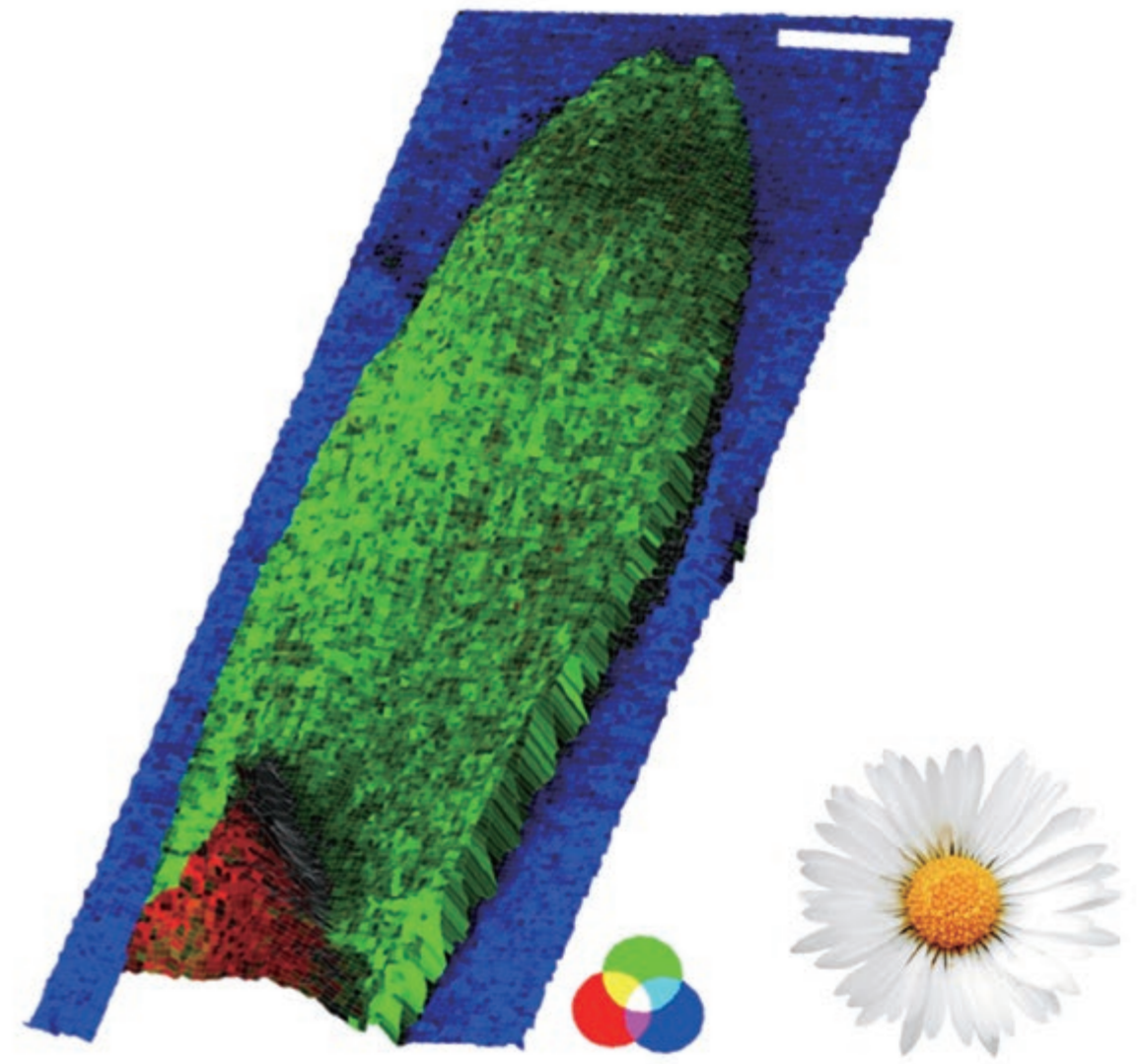


Create  
Lab Instruments

TransMIT



AP-SMALDI 5 AF

高分辨自动聚焦3D快速质谱成像系统

Create  
Lab Instruments

科瑞恩特(北京)科技有限公司

地址:北京市大兴区亦庄经济开发区经海三路109号61号703室

电话:010-69801864 邮编:102600

邮箱:info@create-labs.com

质谱成像网站:<http://www.msimagingslab.com>

公司官网:<http://www.cr-artisan.com>



微信扫一扫  
关注Create 仪器快讯

# MASS SPECTROMETRY IMAGING

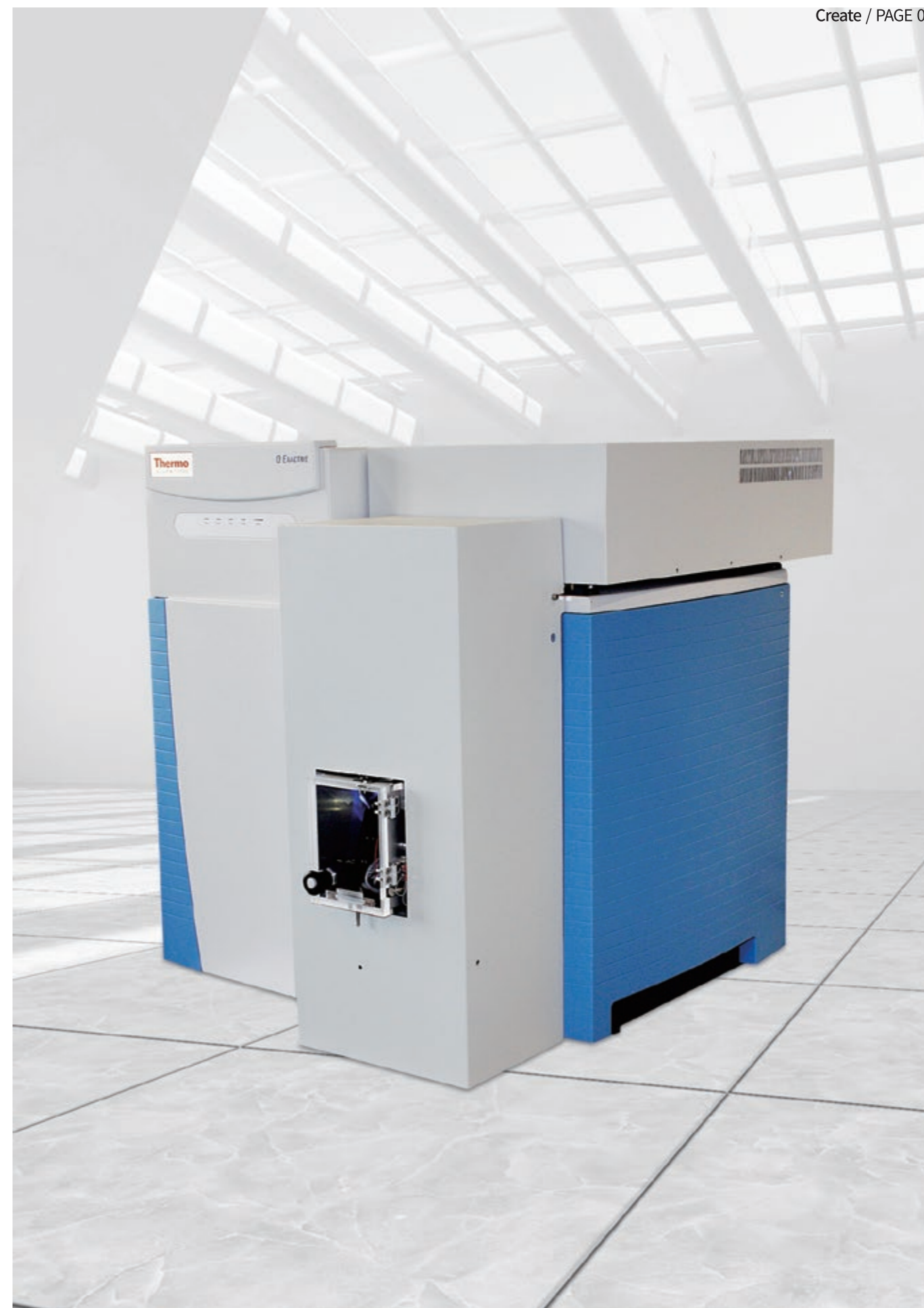
## 质谱成像技术

质谱成像是以质谱技术为基础的成像方法,该方法通过离子源直接扫描生物样品成像,可以在同一张组织切片上同时分析数百种分子的空间分布特征。

德国TransMIT公司的AP-SMALDI 5 AF高分辨自动聚焦3D快速质谱成像系统在兼具高空间分辨率和高质量分辨率特性的基础上,新增了3D检测模式、全像素检测模式、快速检测模式等,检测速度高达18pixels/s,检测灵敏度更是在AP-SMALDI 10的基础上提升了一个数量级,该系统能够快速有效地进行生物组织样本的成像检测,将会助您探索更多的科学奥秘。

## 质谱成像技术优势:

- ① 无标记检测技术,无需放射性同位素或荧光标记,无需染色;
- ② 待检测物质多样,不局限于特异的一种或几种分子,可以对非目标性物质同时进行成像分析;
- ③ 既可获得分子的空间分布信息,还能够提供目标物质的分子结构信息;
- ④ 可直接分析组织切片或细胞,样本兼容性高。

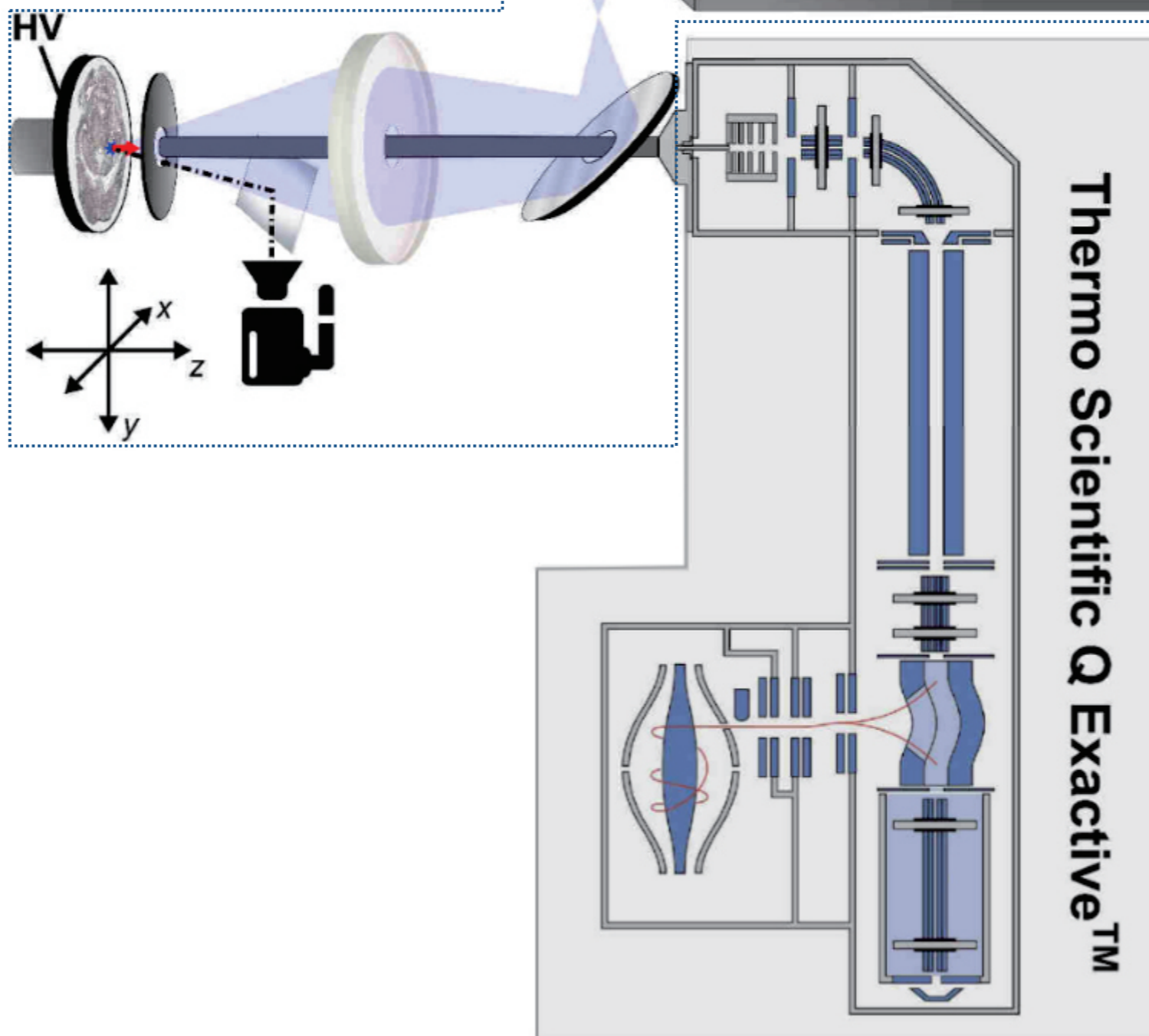




## 独特的AP-MALDI离子源设计 实现超高空间分辨率、快速检测和3D表面检测

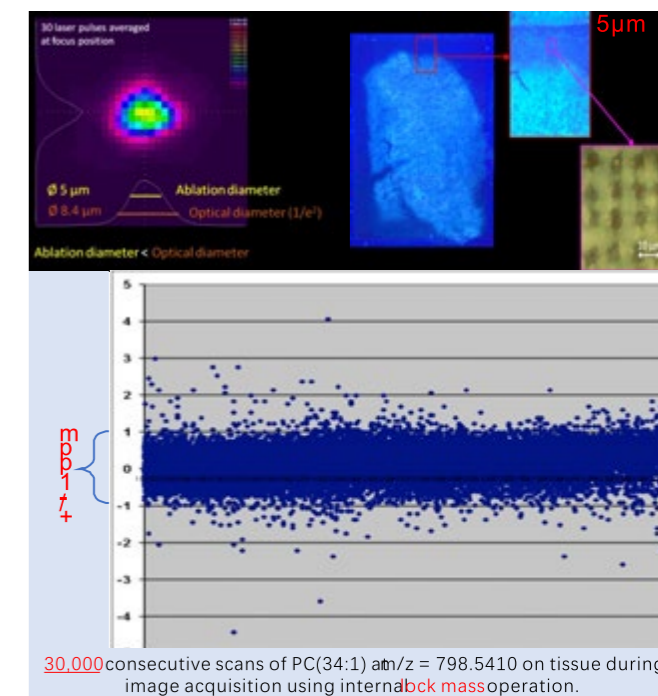
- ① 固态激光器, 自动聚焦至样品表面
- ② 3D检测模式: 可检测凹凸不平的样品表面
- ③ 快速检测模式: 最快可达18pixels/s
- ④ 单点检测模式: 逐点扫描样品表面
- ⑤ 全像素检测模式: 大大提升检测灵敏度
- ⑥ 倾斜校正功能: 保证样品检测完整性
- ⑦ 常压到中压操作环境, 接近样本生理状态, 避免了真空状态下对样本造成的影响
- ⑧ 专利激光束和离子流同轴设计, 解决了高空间分辨率和低采样量之间的矛盾

### 独特设计AP-SMALDI离子源

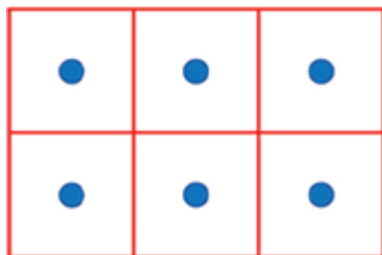


## 样本类型:

- ① 各种组织: 植物器官, 动物新鲜组织、冷冻组织, 培养细胞
- ② 各类分子: 脂类 (磷脂: PC、PE、SM、SE)、多肽、代谢物、药物及代谢产物
- ③ 数百种分子同时成像: 筛选与鉴定同时进行, 目标分子可进行多级质谱分析, 准确鉴定其组成与结构
- ④ 非靶向性检测, 无需任何标记

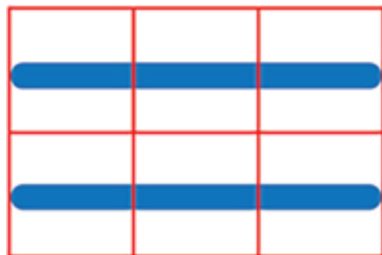
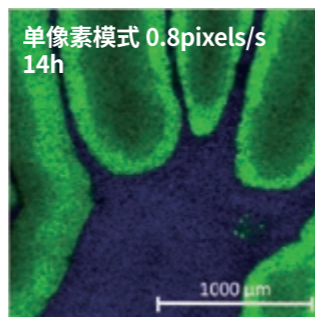


- ① 3µm高空间分辨率, 可用于单细胞质谱成像分析
- ② 高分辨质谱成像专用数据分析软件
- ③ 高空间分辨率和高质量分辨率保证分子化合物的最佳成像效果
- ④ 搭载Thermo Scientific™ Q Exactive™或Orbitrap Exploris™系列质谱仪, 提供高质量精度和分辨率 (<1ppm RMS)



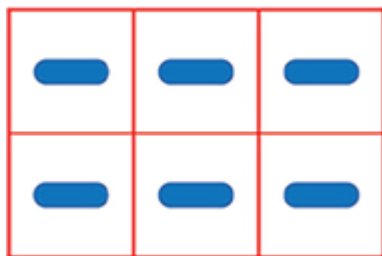
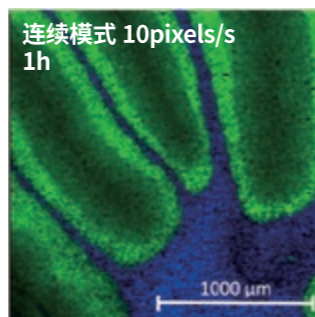
### 单像素模式

待测区域内逐像素扫描, 在每个像素的中心位置进行单点检测。



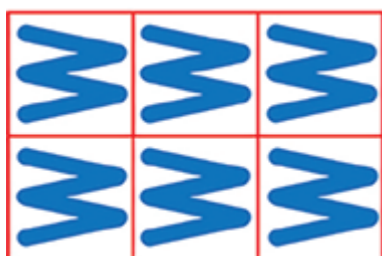
### 连续模式

检测过程中载物台快速连续移动, 像素点 $\leq 20\mu\text{m}$ 时, 取样区域为一条连续的直线。



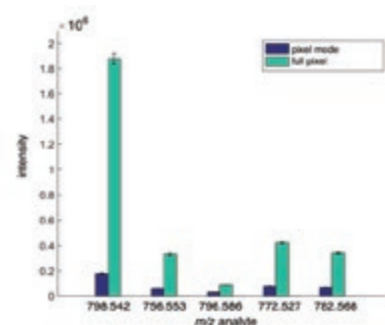
### 快速模式

检测过程中载物台快速连续移动, 像素点 $> 20\mu\text{m}$ 时, 每个像素中取样区域长度为 $20\mu\text{m}$ 。



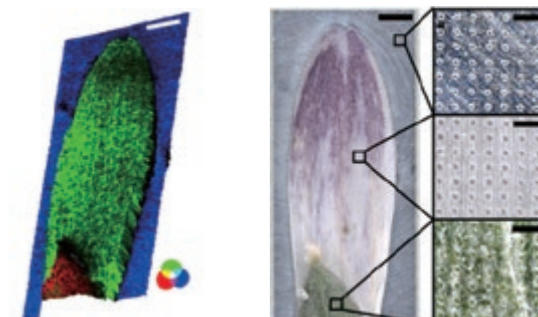
### 全像素模式

在整个像素区域 ( $\geq 25\mu\text{m} \times 25\mu\text{m}$ ) 内进行扫描, 提升检测灵敏度。



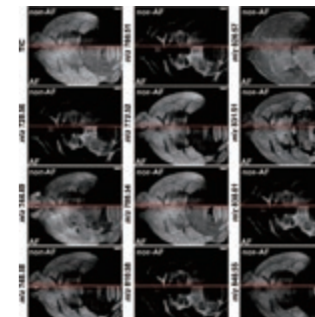
### 三维成像

该功能能够在检测过程中跟踪非平面物体表面的高度变化, 实现3D表面检测, 如叶片、花瓣、线虫等。右图为雏菊花瓣的3D RGB MS图像。



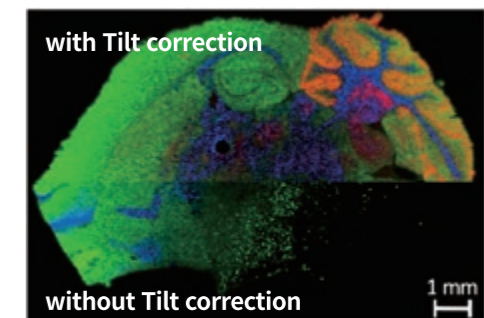
### 自动聚焦

检测前激光斑点自动聚焦至样品表面, 无需人工调节, 节省时间, 并保证样品采集完整性。



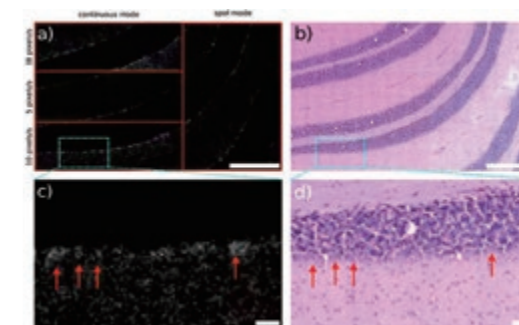
### 倾斜校正

能够在倾斜组织样本的图像采集过程中调整样品高度, 以实现恒定的离子产率和光斑大小。



### 更高分辨率

该系统把空间分辨率进一步提升至 $3\mu\text{m}$ , 可实现细胞水平化合物原位分析。





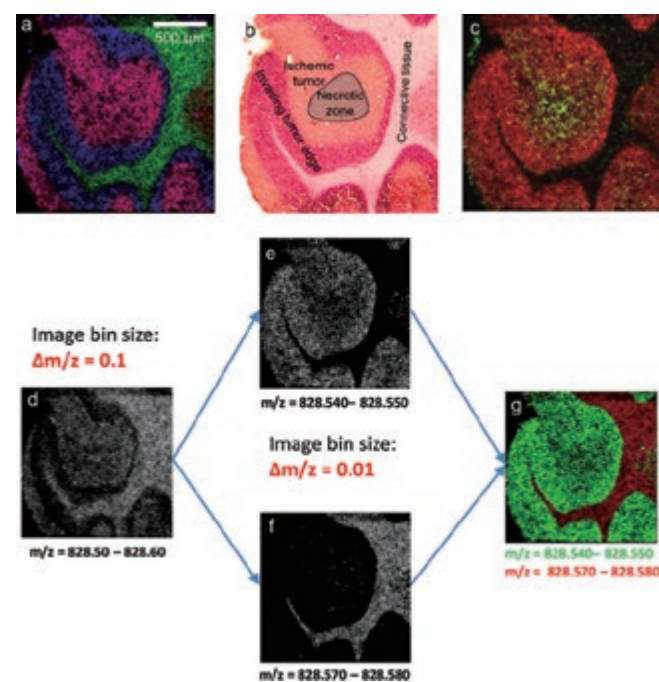
# HR<sup>2</sup> MSI

## HIGH RESOLUTION IN SPACE AND MASS

### 研究实例一:肿瘤研究

在肿瘤学领域,生物标志物一直是研究热点。作为个性化医疗的“关键词”之一,其相关研究方兴未艾。质谱成像技术的诞生,为发现肿瘤标志物的组织特异性提供了不可替代的技术手段。TransMIT AP-SMALDI 10系统可以同时提供高空间分辨率和高质量分辨率,为准确捕捉标记物提供了双重保障。以人非小细胞肺癌诱导重症联合免疫缺陷小鼠模型为例,在肿瘤组织的坏死部位发现了少量LPC存在(图1c绿色),而坏死部位的细胞开始退化,同时出现了脂类的降解产物。因此,可以通过发现未知分子的分布情况,获取肿瘤发生过程中的分子变化特征,以判断肿瘤所处的不同阶段,为肿瘤研究提供更为详尽、精准判断依据。

此外,TransMIT AP-SMALDI 10的高质量精度和分辨率为脂类的精确分析提供了保证。当质量窗口为 $\Delta m/z=0.1$ 时,健康组织和肿瘤组织无法区分开(图1d),而当质量窗口为 $\Delta m/z=0.01$ 时(图1 e、g、f),则能把两种组织明确的区分开,获得更为可靠、准确的成像结果。

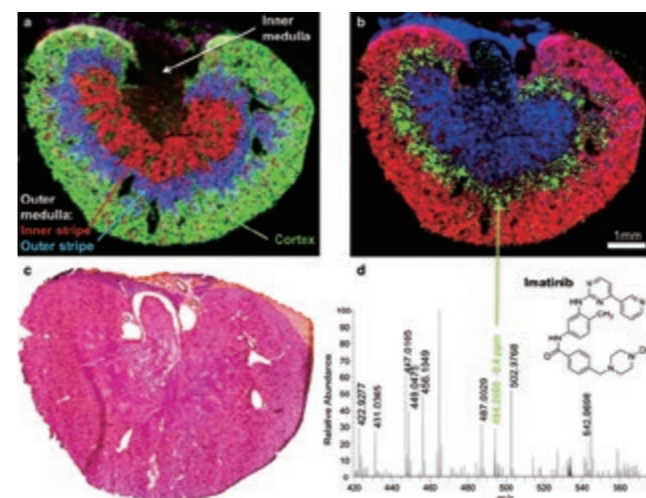


人非小细胞肺癌诱导的重症联合免疫缺陷小鼠模型:脑苷脂Cer、LPC在肿瘤组织中的分布。

图1 a 质谱成像图:像素点10µm, 185×185 pixels, 红色,鞘磷脂SM(36:1), m/z 769.5620, 绿色,脑苷脂Cer(42:2), [M + K]<sup>+</sup>, m/z 848.6376, 蓝色,卵磷脂PC(36:4), [M + K]<sup>+</sup>, m/z 820.52531, b H&E染色图像; c 质谱成像图, 像素点10µm, 185×185 pixels, 绿色,溶血卵磷脂酰胆碱LPC(16:1), [M + K]<sup>+</sup>, m/z 496.3397, 红色,卵磷脂PC(38:6), [M + K]<sup>+</sup>, m/z 844.5253; d、e、g 不同参数设置(Δm/z)条件下选定离子的质谱成像图。参考文献: Römpp A, Spengler B, Histochem Cell Biol (2013) 139:759–783.

### 研究实例二: (1) 抗肿瘤药物研究 (2) 抗结核药物研发

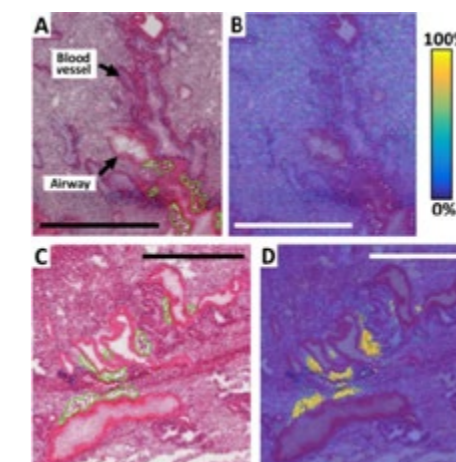
研究药物分子及其代谢产物在动物组织中的空间分布是质谱成像技术的主要应用方向之一。与传统放射自显影方法相比,质谱成像技术的主要优势是能够实现无标记检测和准确区分药物及其代谢产物。以往用于药物成像分析的分辨率普遍较低,不足以检测药物分子在组织中的空间分布。图2所示为应用TransMIT AP-SMALDI 10系统可视化抗肿瘤药物伊马替尼(图2b, 绿色)在小鼠肾脏组织中的分布,获得特异药物分子在组织中的精确定位,为肿瘤的靶向研究提供更为精准的信息。



抗肿瘤药物伊马替尼(imatinib), 酪氨酸激酶抑制剂)在肾脏组织中的空间分布

图2 小鼠肾脏组织 a 选定离子质谱成像图: 绿色, [PC(32:0)+K]<sup>+</sup> 肾皮质, 蓝色, [PC(40:6)+K]<sup>+</sup> 肾外髓层外带, 红色, [PC(38:5)+K]<sup>+</sup> 肾外髓层内带; b 选定离子质谱成像图, 红色, [PC(32:0)+K]<sup>+</sup>, 绿色, 伊马替尼 [M+H]<sup>+</sup> = 494.2662; 蓝色, [PC(34:1)+H]<sup>+</sup>; c H&E染色图像; d 小鼠肾髓质外带单像素质谱图。参考文献: Römpp A, Spengler B, Anal Bioanal Chem(2011) 401:65–73.

结核病是由结核分枝杆菌引起的一种影响呼吸道的常见传染病,曾被世界卫生组织列为最致命传染病。作为新型结核抗生素临床前评估的一部分, MALDI-MSI能够可视化药物化合物渗入结核肉芽肿的过程,评估药物在体内对抗结核分枝杆菌感染的有效性,因此这项技术有助于加快抗结核药物研发进程。本研究采用AP-SMALDI质谱成像方法,在人体等效药物剂量下,采用10µm像素可视化检测抗结核药物(吡嗪酰胺、利福平、乙胺丁醇片、异烟肼、莫西沙星和氟法齐)在小鼠肺组织中的分布,结果显示氟法齐明在气道周围脂质沉积物中积累。(图3)。



采用10µm像素检测乙胺丁醇和氟法齐明在小鼠肺组织中的分布

图3 小鼠肺组织 A H&E染色显示血管和细支气管,绿色区域表示脂肪细胞簇; B 乙胺丁醇离子信号与H&E染色叠加图像; C H&E染色显示血管和细支气管,绿色区域表示脂肪细胞簇; D 氟法齐明的离子信号与H&E染色叠加图像。参考文献: Axel Treu, J. Am. Soc. Mass Spectrom. (2020) DOI: 10.1021/jasms.0c00235.

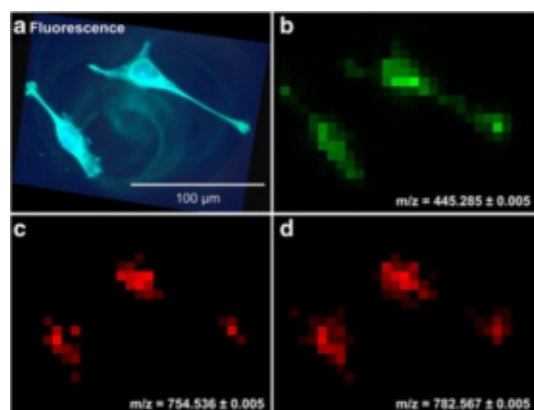


# HR<sup>2</sup> MSI

HIGH RESOLUTION IN SPACE AND MASS

## 研究实例三:单细胞研究

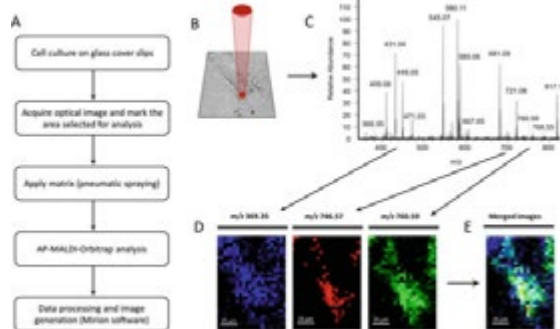
细胞是组成生命体的基本单元,了解一个细胞中发生的事件对于我们认识生命过程有重要意义。由于细胞的异质性,在群体细胞乃至组织水平上的采样可能已经使得一些重要的分子信息淹没在大量正常细胞中而被遗漏掉了。TransMIT AP-SMALDI 10系统为客户提供了单细胞质谱成像分析方案,能够可视化单细胞中的重要代谢物。如下图4所示,首次实现了单个Hela细胞中多种物质的精确区分和精准定位,为单细胞内研究提供了坚实的技术支撑。



单细胞质谱成像:荧光染料DiOC6(3)、磷脂类在单个Hela细胞内的分布

图4 a 荧光染料DiOC6(3)标记的荧光光学成像;b、c、d MALDI图像,像素点7μm,28×21 pixels;b 荧光染料[DiOC6(3)]<sup>+</sup>、c [PC(32:1)+Na]<sup>+</sup>、d [PC(34:1)+Na]<sup>+</sup>在细胞中的分布;e 细胞核区域的单像素质谱图。参考文献:Scober Y, Römpf A, Anal. Chem. 2012, 84, 6293–6297.

与显微成像技术相比, MALDI-MSI可以在样品量极少的情况下,同时对数百种脂质分子进行无标记成像,高分辨率、高质量精度以及串联质谱的应用能够保证脂质种类的精准鉴定和分析。下图所示为采用TransMIT AP-SMALDI 5 AF系统所创建的大鼠心肌细胞检测分析流程:



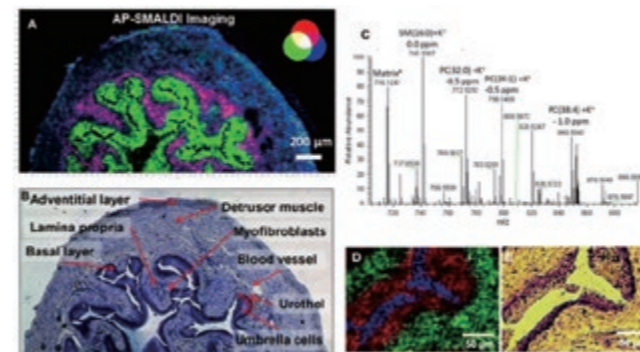
单细胞质谱成像检测流程

图5 A 单细胞MALDI MSI主要实验步骤;B 大鼠原代心肌细胞数据获取和分析方法;C 单像素质谱图;D 质谱成像图:胆固醇[M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, m/z 369.35、磷脂酰乙醇胺(PE(36:1)) [M + H]<sup>+</sup>, m/z 746.57、磷脂酰胆碱(PC(34:1)) [M +H]<sup>+</sup>, m/z 760.59;E RGB叠加图像,像素点5μm。

参考文献:Bindesh Shrestha (ed.), Single Cell Metabolism: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 2064

## 研究实例四:(1) 脂类研究

脂类代谢异常是引发多种疾病的重要原因,研究脂类分子的组织空间特异性分布对于阐明脂代谢异常疾病的机制具有重要意义。下图6中所示为小鼠膀胱组织内磷脂分子的分布特征。采用高空间分辨率成像能够实现离子成像(图6a)和组织染色(图6b)的完美对接,精准定位不同磷脂分子在组织中的特异性分布。当空间分辨率提升到3μm时,细微的差异得以揭示,如图6d中的膀胱组织肌层(绿色)和上皮层(红色)可明显区分开来。因此同传统染色方法相比,TransMIT AP-SMALDI 10系统可以提供高度特异磷脂分子在不同类型细胞中的分布,获得更为详尽的组织化学信息。



脂类分子在小鼠膀胱组织中的空间特异性分布

图6 小鼠膀胱组织 A 选定离子质谱成像图:m/z 741.5307,蓝色,上皮组织, SM(34:1); m/z 798.5410, green,膀胱上皮, PC(34:1); m/z 743.5482, red,固有层。 B 甲苯胺蓝染色图像; C 平均质谱图; D 选定离子质谱图, m/z 114.9039, In<sup>+</sup> substrate, 蓝色; m/z 798.5410, PC(34:1), 红色; m/z 741.5307, 绿色; E 甲苯胺蓝染色图像。参考文献:Angewandte chemie international edition, 2010, 49(22): 3834-3838.

## (2) 比较脂质体学研究

本研究首次采用10μm高空间分辨率、高质量分辨率(140,000 @ m/z 200)和高质量精度(≤2 ppm) AP-SMALDI MSI质谱成像系统分别在正、负离子模式下对野生型和敲除*Pex11β*基因的晚期胎鼠(E19)肺组织脂质体特征进行鉴定和对比分析,并建立了一套优化的样品制备方案和数据分析工作流程,以可靠和可重复的相对定量不同组织切片的脂质和其他细胞代谢物。研究结果表明,经过优化的MSI方法能够检测和表征E19小鼠肺中所有可能的主要脂质类型(正、负离子检测模式),这些脂质体信息可以作为肺脂质体的参考,有助于更好地了解晚期胎儿肺发育和分化,以及与脂质改变相关的各种肺部疾病的分子机制。

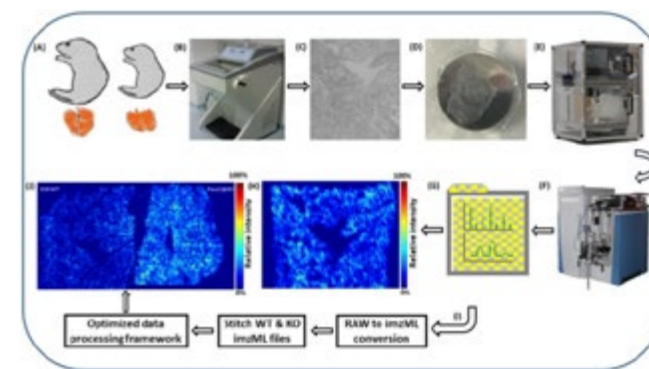


图7 采用AP-SMALDI MSI对E19晚期胎鼠肺切片脂质体进行表征和比较分析的优化工作流程

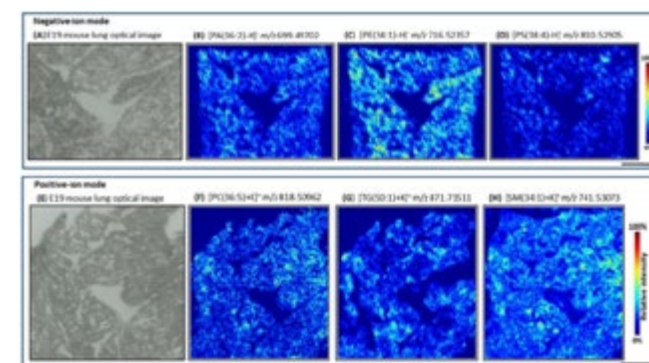


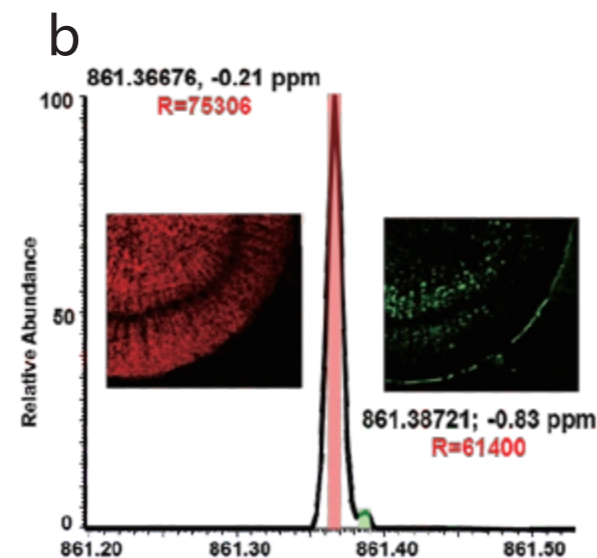
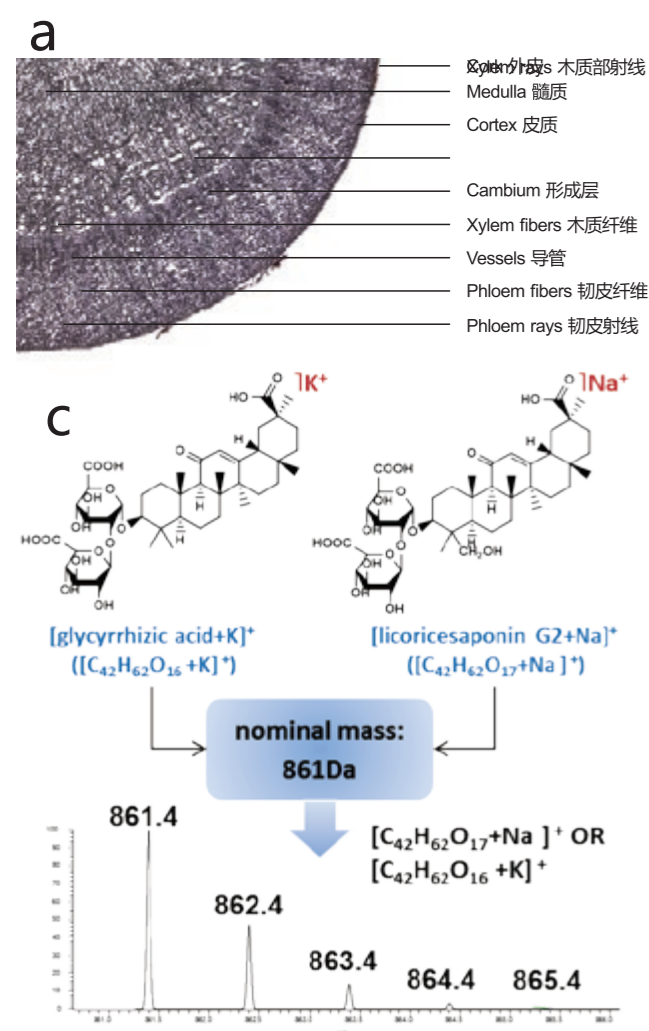
图8 利用高分辨率AP-SMALDI质谱成像技术表征晚期胎儿E19小鼠肺脂质体  
参考文献:Vannuruswamy Garikapati, Scientific Reports, (2019) 9:3192

# HR<sup>2</sup> MSI

## HIGH RESOLUTION IN SPACE AND MASS

### 研究实例五:药用植物次生代谢物研究

毫无疑问天然产物是人类药物开发的宝库。质谱成像技术为天然产物化学家和植物学家提供了新的研究思路 and 手段。以“国老”甘草为例,其根茎中的黄酮类和皂苷类成分得到了精确的定位。如图9所示,TransMIT AP-SMALDI 10系统的高质量分辨率和质量精度确保了具有相同平均质量、紧密相邻的两个峰能够被分离出合适的选择性离子图像。图9b所示m/z相差0.02098的两个离子呈现出差异性,在甘草根茎中的数量和空间分布截然不同。如采用低质量分辨率质谱成像分析,甘草酸(m/z 861.36676)和甘草皂苷G2(m/z 861.38721)无法区分开,因此高空间分辨率和高质量分辨率是准确可视化平均质量相同的化合物的可靠保证。



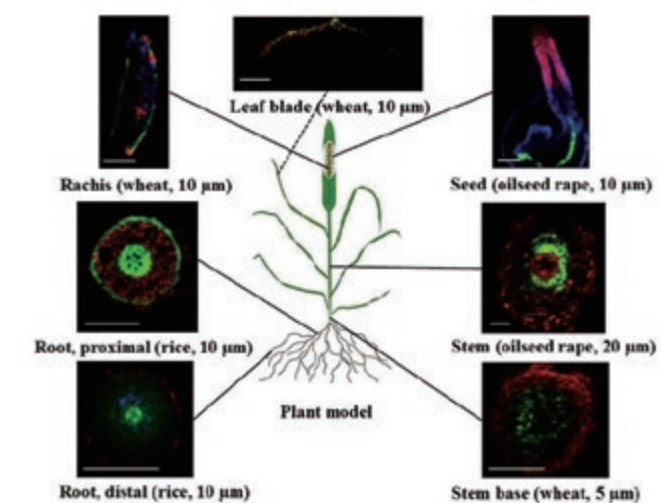
黄酮和皂苷类化合物在甘草根茎中的分布。

图9 a甘草根茎横切面光学成像;b甘草酸(GA, m/z 861.36676)和甘草皂苷G2(LS G2, m/z 861.38721)的单像素质谱图及其质谱成像图,像素点30μm, 205×255pixels,红色GA,绿色LS G2;c 低分辨率质谱图。参考文献:Li B, Spengler B, The Plant Journal (2014) 80, 161-171.

### 研究实例六:作物次生代谢物研究

代谢组学作为系统生物学的重要分支,近年来在植物研究领域得到越来越多的关注,并广泛应用于植物抗逆性、发育可塑性、基因功能、代谢调控网络等研究领域。

质谱成像是一种原位表面分子成像技术。该技术利用离子源直接扫描生物组织样本而完成组织表面待测物的可视化分析,并借助质谱的结构鉴定能力,获取化合物的分子结构信息。图10所示为采用高空间分辨率TransMIT AP-SMALDI 10质谱成像系统对植物的种子、根、茎、叶片以及穗轴等进行了可视化检测,研究植物生长发育过程中代谢物的空间分布特征。

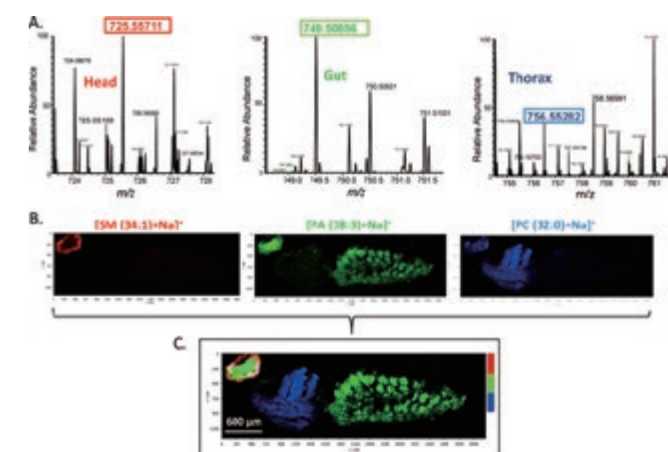


植物不同组织/器官次生代谢物分布

图10 植物不同组织/器官(小麦穗轴、小麦叶片、小麦茎基部、水稻根、油菜种子、油菜茎秆等)代谢物特异性空间分布的可视化分析,空间分辨率在5-20 μm。参考文献:Dhaka Ram Bhandari, Qing Wang, etc. Analyst, 2015, 140, 7696-7709.

### 研究实例七:昆虫内源性代谢物研究

昆虫在“生物圈”扮演着很重要的角色,在很多方面起到传播媒介的作用,但有些昆虫也会对人类产生威胁,能够通过释放毒液或叮咬对人类造成伤害,比如斯氏按蚊能够携带疟原虫引发疟疾的传播。TransMIT AP-SMALDI 10高空间分辨率的特性为体积极小的生物体成像提供了完美的解决方案。如下图11所示,该系统清晰地呈现了脂类物质在斯氏按蚊头部、胸部、腹部的空间分布,为昆虫研究提供了一个全新的技术手段。



斯氏按蚊体内磷脂类化合物的分布

图11 左A 斯氏按蚊头部、胸部、腹部AP-SMALDI 质谱图;B [SM(34:1)+Na]<sup>+</sup>、[PA(38:3)+Na]<sup>+</sup>、[PC(32:0)+Na]<sup>+</sup>的质谱成像图;C 三种化合物的RGB叠加图像,像素点5μm,点间距12μm。参考文献:Saleh M. Khalil, Bernhard Spengler, Anal. Chem. 2015, 87, 11309-11316.



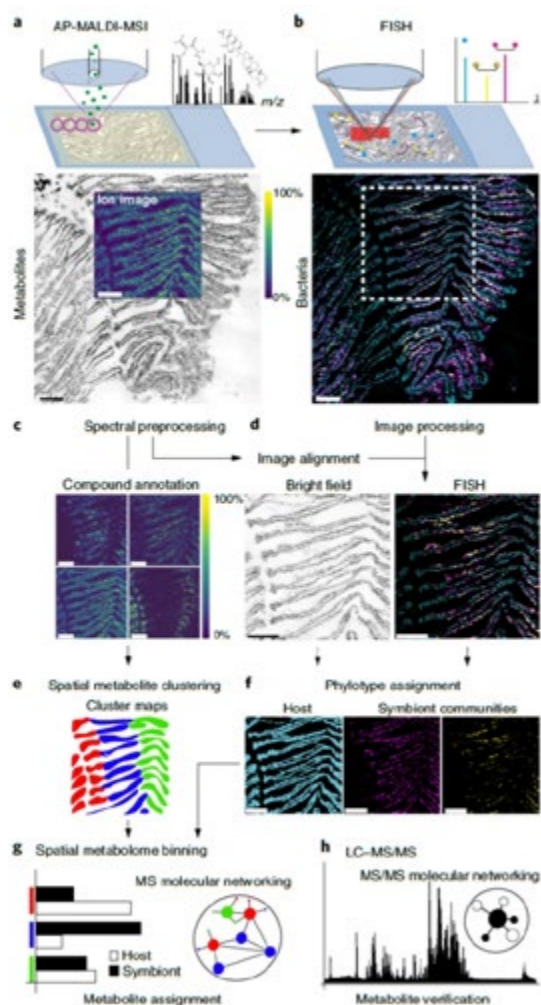
# HR<sup>2</sup> MSI

## HIGH RESOLUTION IN SPACE AND MASS

### 研究实例八:海洋微生物空间代谢组学研究

代谢物分布的可视化对于理解微生物与动植物组织之间以及微生物联盟内部的相互作用至关重要。MSI能够可视化样本原始状态的代谢组的空间分布,但它也需要诸如荧光标记等其他技术来链接宿主-微生物共生体中个体的分类学身份和定位。微米级AP-SMALDI-MSI技术在提高代谢物覆盖范围、空间分辨率和减少样品破坏性之间取得了良好的平衡,将它与FISH结合使用,可以对单个宿主细胞或小型微生物群落的代谢物分布进行成像,并将代谢表型与宿主或微生物相关联。

本研究将高空间分辨的大气压基质辅助激光解吸电离质谱成像(AP-SMALDI-MSI)技术和荧光原位杂交(FISH)技术相结合(metaFISH),绘制了深海贻贝及其细胞内共生细菌的空间代谢组图像,可揭示宿主细胞对共生体的代谢适应和细菌的代谢表型变化,并从宿主-微生物界面发现新代谢物。



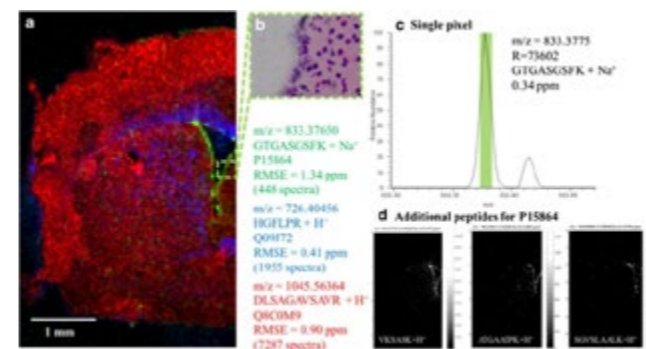
metaFISH关联空间代谢组和分类标记

图12 a 在冷冻切片上绘制高分辨率AP-SMALDI-MSI (像素大小为3 $\mu$ m)的代谢物分布;b 在同一组织切片上进行MSI后的FISH,显示了两种细菌内共生体(洋红色和黄色)和DNA染色的宿主核(蓝绿色)。用虚线表示AP-SMALDI-MSI检测的面积;c MSI数据和化合物注释的光谱预处理(例如,原始数据转换、归一化和峰选择);d 在压合和调整亮度和对比度之后,将经过处理的FISH图像与离子图像和明场图像进行对齐,以去除MSI数据中的背景像素;e 来自MSI数据的空间聚类图;f 种系分配确定宿主和共生菌的组织区域;g 基于FISH的空间代谢组,将代谢物簇关联至宿主和共生菌,并整合到化合物分子网络中;h LC-MS/MS代谢物鉴定和基于MS/MS的分子网络,以验证在代谢物关联步骤时基于AP-SMALDI-MSI推测的代谢物结构。比例尺为150 $\mu$ m(a-d, f)。a, c中的彩色比例尺表示相对离子强度。

参考文献: Benedikt Geier, et al. (2020), Nature Microbiology, 5: 498-510.

### 研究实例九:蛋白质检测

近年来,组织消化(on-tissue digestion)已成为质谱成像(MSI)中识别蛋白质的首选方法。本研究报告了在组织消化后的质谱成像数据采集和蛋白质鉴定方面的进展。本文采用50 $\mu$ m像素测量小鼠冠状脑切片中的胰蛋白酶肽,显示出详细的组织结构,如室管膜(由一至两层细胞组成, H&E染色结果验证),表明了胰蛋白酶肽质谱成像能够达到或接近细胞水平分辨率。另外,本文描述了一个详细的蛋白鉴定工作流程,鉴定出99种蛋白质(435个相应的肽),并分别采用25 $\mu$ m和50 $\mu$ m像素对小鼠小脑组织中鞘脂肽和整只小鼠切片进行了进一步检测和验证,表明高空间分辨率、高质量分辨率和高质量精度质谱成像系统检测以及科学的蛋白质鉴定流程是蛋白质精准鉴定的重要保障。

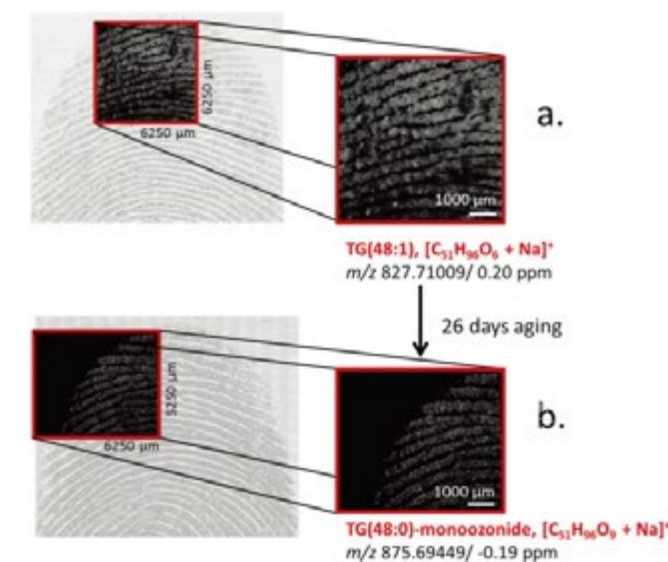


小鼠脑部胰蛋白酶肽空间分布

图13 小鼠冠状切面胰蛋白酶肽质谱成像检测 a 不同肽段选择离子叠加图像,  $GTGASGSFK + Na^+$ (对应组蛋白1 (P15864)),  $HGFLPR + H^+$ (对应髓鞘碱性蛋白(Q09J72))和  $DLSAGAVSAVR + H^+$ (对应异天冬氨酸酰胺酶/左旋天冬氨酸酰胺酶(Q8C0M9));b 室管膜区域H&E染色图像;c  $GTGASGSFK + Na^+$ 的单素质谱图;d 与P15864对应的其它胰蛋白酶肽段。参考文献: Stefanie Pleik, Analyst, 2019, 144, 3590

### 研究实例十:指纹残留物检测

在法医学中,重建犯罪过程中事件发生的时间是非常重要的。在某些情况下,特定证据留在犯罪现场的时间是一个关键问题。指纹年龄的估计能力将大大提高指纹的证据价值。为此,最有希望的方法是分析指纹残留物在老化过程中化学成分的变化。本文的研究重点是分析指纹残留物中人类特有的化合物的鉴定,其特征是具有显著的老化行为,可以用于未来指纹年龄的分析测定。臭氧分解是外界环境条件下指纹残留物中主要的脂质降解途径之一。本研究通过对老化指纹进行MALDI MS成像,证明指纹图谱中存在甘油三酯臭氧分解产物,验证了LC-MS结果的真实性,显示出了该技术在未来法医调查中的巨大潜力。



未老化指纹和老化指纹残留物检测

图 14 a未老化指纹和b 26日龄指纹m/z图像与光学图像叠加((m/z 827.71009,  $\Delta m = 0.20$  ppm and m/z 875.69449,  $\Delta m = -0.19$  ppm)。参考文献: Katharina Huber, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2018, 410:5825-5837



# HR<sup>2</sup> MSI

## HIGH RESOLUTION IN SPACE AND MASS

### 研究实例十一 AP-SMALDI 技术突破

德国吉森大学Bernhard Spengler教授团队通过向AP-SMALDI10离子源加入高重复频率激光器,并与Orbitrap质谱仪结合,开发了新的检测模式。该系统能够在5 $\mu$ m的空间分辨率和18pixels/s的成像速度下对小鼠脑组织切片进行单细胞水平可视化检测和分析。此外,在全像素检测模式下,通过在整个像素点 $\geq 25\mu$ m上进行“w”型扫描,将组织上的离子信号强度提高20倍,并将检测限降低1个数量级,提高了分析灵敏度。

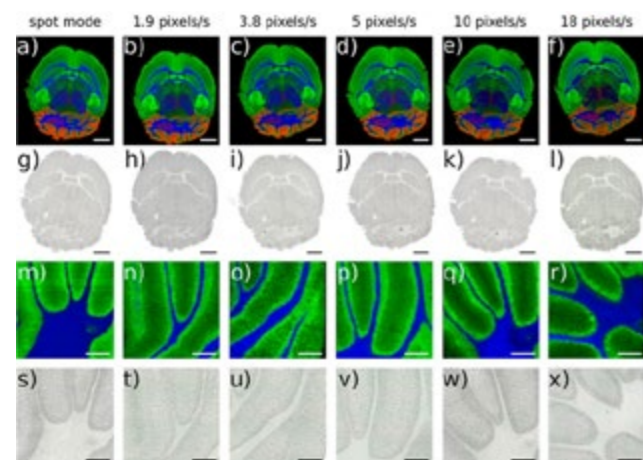
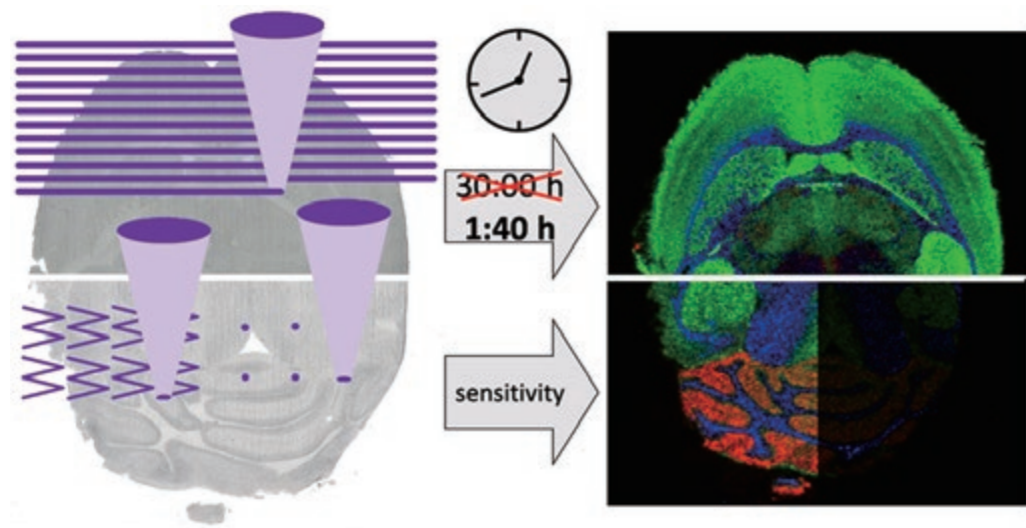


图15 (a-f) “单像素模式”和不同采集速度“快速模式”下小鼠脑连续切片MALDI MSI图像,空间分辨率40 $\mu$ m。红色:m/z 856.5827 [PC 40:6+Na]<sup>+</sup>,绿色:m/z 820.5253 [PC 36:4+K]<sup>+</sup>,蓝色:m/z 838.6169 [HexCer t 40:1+K]<sup>+</sup>。(g-l)是在MSI检测之前获得的对应的小鼠脑切片光学显微图像。(m-r)“单像素模式”和不同采集速度“快速模式”下小鼠小脑区域MALDI MSI图像,空间分辨率10 $\mu$ m。绿色:m/z 844.5253 [PC 38:6+K]<sup>+</sup>,蓝色:m/z 832.6637 [HexCer d42:2+Na]<sup>+</sup>。(s-x)是在MSI检测之前获得的对应的小鼠小脑区域光学显微图像。比例尺:(a-l) 2mm,(m-x) 500 $\mu$ m。(参考文献:Max A. Müller, et al. J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2021, 32, 465-472)

### 研究实例十二 3D表面质谱成像检测

近年来,MSI技术在医学、药学、生物学等领域获得了极大的关注。然而,现有质谱成像技术仅能对同一平面中的样品进行质谱成像分析,要想获得三维空间信息,则只能依靠图像的三维重建技术和数据归一化处理来实现,极为耗时。

针对3D MSI的技术瓶颈,德国吉森大学的Bernhard Spengler教授团队开发了最新的自动聚焦三维质谱成像技术,成果发表在国际顶尖杂志Nature Methods—Autofocusing MALDI mass spectrometry imaging of tissue sections and 3D chemical topography of nonflat surfaces (Nature Methods, 2017, 14(12): 1156)。这是继“1.4 $\mu$ m超高分辨率质谱成像技术”之后,Spengler教授团队的又一次突破。该技术通过把激光三角测量系统整合到AP-SMALDI10 MSI系统中,实现了小于10 $\mu$ m的侧向分辨率。如下图所示,自动聚焦MALDI质谱成像系统能够清晰的可视化苜蓿叶片中糖苷类和脂类物质的三维空间分布 (Fig.16c),曼氏裂体吸虫中磷脂类物质空间特异性分布 (Fig.16e, f),以及小鼠脑部磷脂类物质的组织空间特异性分布 (Fig.16g, h)。该技术的出现可直接对三维生物样品进行质谱检测,其自动聚焦技术能够大大提升检测效率和检测通量,并有效避免样品中检测信号的缺失。

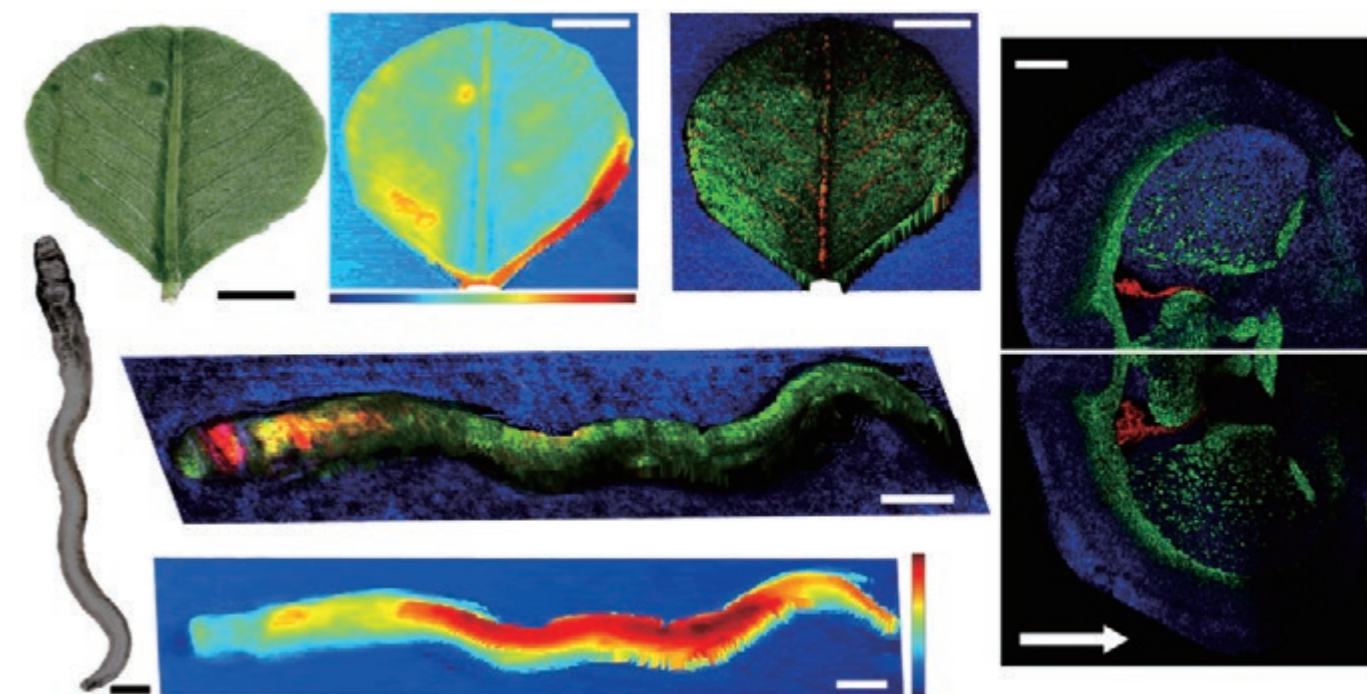


图16 苜蓿叶片、曼氏裂体吸虫和小鼠脑部自动聚焦3D质谱成像。a, 苜蓿叶片光学成像图;b, 总离子质谱图像;c, 3D RGB质谱叠加图, [trifolin + Na]<sup>+</sup>红色、[MGDG(36:6) + K]<sup>+</sup>绿色、m/z 594.8937蓝色;d, 血吸虫光学成像图;e, 3D RGB质谱叠加图, [PC(36:1) + Na]<sup>+</sup>红色、[PC(34:1) + Na]<sup>+</sup>绿色、m/z 585.0636蓝色;f, 总离子质谱图像;g, 小鼠脑部3D-RGB和2D-RGB质谱叠加图, [SM(d 40:2) + K]<sup>+</sup>红色、[PI-Cer(d38:0) + H]<sup>+</sup>绿色、[PC(40:7) + K]<sup>+</sup>蓝色,其中上图为自动聚焦,下图为非自动聚焦。(参考文献:Kompauer M, et al. Nature Methods, 18 Sep 2017, 14(12):1156-1158)

	AP-SMALDI 10	AP-SMALDI 5 AF
载物台移动维度	xyz三维移动载物台	xyz三维移动载物台
扫描方式	xy二维平面扫描	xyz三维非平面扫描
载物台移动精度	0.2 $\mu\text{m}$	0.2 $\mu\text{m}$
空间分辨率	5 $\mu\text{m}$	3 $\mu\text{m}$
倾斜校正功能	是	是
全像素模式	否	是
激光斑点自动聚焦至样品表面	否	是
3D检测模式	否	是
全程常压运行	是	是
激光和离子轴同轴	是	是
高质量分辨率、高质量精度	是	是
原位二级质谱成像检测	是	是

## 部分参考文献：

- ① Luca Rappez, et al. Nature Methods, 2021, 18, 799–805.
- ② Max A. Müller , et al. J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2021, 32, 465–472
- ③ Benedikt Geier, et al. Nature Microbiology, 2020, 5: 498-510.
- ④ Bindesh Shrestha et al. Single Cell Metabolism: Methods and Protocols, 2020, ol. 2064.
- ⑤ Axel Treu et al. J. Am. Soc. Mass Spectrom, 2020, DOI: 10.1021/jasms.0c00235.
- ⑥ Vannuruswamy Garikapati, Scientific Reports, (2019) 9:3192
- ⑦ Mario Kompauer, Sven Heiles & Bernhard Spengler, Nature methods, 2017, 201: 7.
- ⑧ Mario Kompauer, Sven Heiles & Bernhard Spengler, Nature methods, 2017, 14(1): 90-96.
- ⑨ Bin Li, Bernhard Spengler, Scientific reports, 2016, 6: 36074.
- ⑩ Yu-Hsuan Tsai, Richard A. Yost, Proteomics 2016, 16, 1822–1824.
- ⑪ Nadine E. Mascini, Ron M.A. Heeren, Anal. Chem. 2016, 88, 3107–3114.
- ⑫ Saleh M. Khalil, Bernhard Spengler, Anal. Chem. 2015, 87, 11309–11316.
- ⑬ Dhaka Ram Bhandari, Andreas Römpf, Analyst, 2015, 140(22): 7696-7709.
- ⑭ Wen-Xuan Wang, Michael Spiteller, Appl Microbiol Biotechnol (2015) 99:7651–7662.
- ⑮ Dhaka Ram Bhandari, Bernhard Spengler, Anal Bioanal Chem (2014) 406:695–70.
- ⑯ Yvonne Schober, Andreas Römpf, Anal. Chem. 2012, 84, 6293–6297.
- ⑰ Dhaka Ram Bhandari, Qing Wang, etc. Analyst, 2015, 140, 7696-7709.