

## TransMIT AP-SMALDI 10 超高分辨率质谱成像系统在生物学研究中的应用

### 1、TransMIT AP-SMALDI 10 超高分辨率质谱成像系统研发过程及仪器特点

TransMIT AP-SMALDI 10 超高分辨率质谱成像系统由德国吉森大学世界知名质谱学家 Bernhard Spengler 教授研制开发。Spengler 教授于 1994 年在芝加哥举行的第 42 届美国质谱年会 (ASMS) 上提出了 MALDI Ion Imaging 和 Biological Ion Imaging 的概念, 即“质谱成像 (Mass Spectrometry Imaging)”, 并首次把 MALDI 成像方法用于分析多肽类化合物。

TransMIT AP-SMALDI 10 质谱成像系统搭载 Thermo Scientific™ Q Exactive™ 系列质谱仪, 实现了超高空间分辨率和超高质量分辨率的完美结合, 是一款高端的质谱成像系统。该系统目前能够实现细胞水平的空间成像分辨率, 并且集高质量分辨率、高质量精度及串联质谱于一身, 为准确、全面的分析质谱成像数据提供了可靠保证。其具体优势如下:

- 1) 常压到中压的操作环境, 极大简化了样品制备的方法, 无需昂贵的导电靶板 (如 ITO 导电玻璃), 极大的节约了成本;
- 2) 能够获得  $<5\ \mu\text{m}$  的高空间分辨率, 全景呈现了分析物在组织中的分布和细微差别, 可用于单细胞质谱成像分析;
- 3) 激光束和离子流的同轴设计解决了高空间分辨率和低采样量之间的矛盾;
- 4) 具有独立开发的用于高分辨质谱成像的数据分析处理软件;
- 5) 与 Thermo Scientific™ Q Exactive™ 系列质谱仪兼容, 实现未知化合物的准确鉴定。



图 1 TransMIT AP-SMALDI 10 质谱成像仪

## 2、TransMIT AP-SMALDI 10 超高分辨率质谱成像系统在生物学研究中的应用

超高分辨率 TransMIT AP-SMALDI 10 质谱成像系统问世后，在生命科学领域展示了绝对优势，已经应用于不同组织中多种内源性物质的可视化检测，如脂类、多肽、蛋白质、核酸和糖类等，以及外源性物质检测，如药物及其代谢产物。多项研究成果发表于 Nature Methods、Angewandte Chemie International Edition, The Plant Journal, Analytical Chemistry, Analytical and Bioanalytical Chemistry 等国际知名期刊上。

### 2.1 应用 TransMIT AP-SMALDI 10 研究脂类分子的组织空间特异性分布

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 2 中所示为小鼠膀胱组织内磷脂分子分布特征。采用高空间分辨率成像能够实现离子成像（图 2a）和组织染色（图 2b）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  $3\mu\text{m}$  时，细微的差异得以揭示，如图 2d 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。

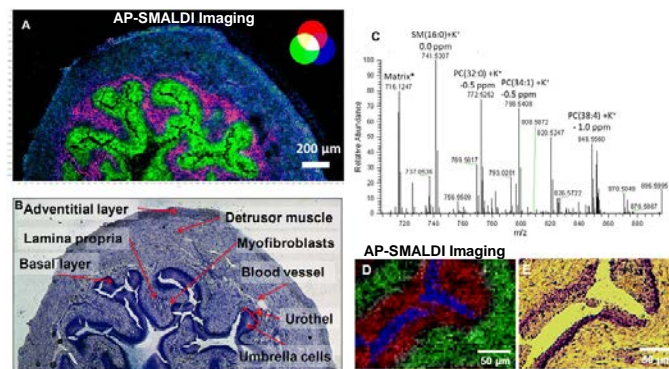


图 2 应用 TransMIT AP-SMALDI 10 研究脂类分子在小鼠膀胱组织中的空间特异性分布  
(引自: Angewandte chemie international edition, 2010, 49(22): 3834-3838)

### 2.2 应用 TransMIT AP-SMALDI 10 研究肿瘤相关生物标记物的组织空间特异性分布

在肿瘤学领域，生物标志物一直是研究热点。作为个体化医疗的“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 3c 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 3d），而当质量窗口为  $\Delta m/z=0.01$  时（图 3e、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。

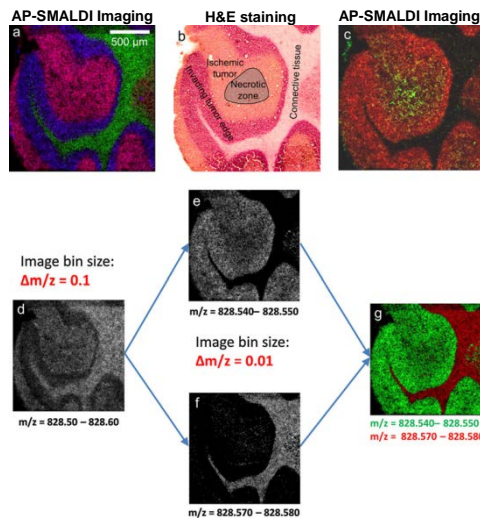


图 3 脑脂类和溶血卵磷脂胆碱类在小鼠脑组织中的分布，空间分辨率 10 $\mu$ m  
(引自: *Histochemistry and cell biology*, 2013, 139(6): 759-783)

### 2.3 应用 TransMIT AP-SMALDI 10 研究药物分子的组织空间特异性分布

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 4 所示为应用 TransMIT AP-SMALDI 10 系统可视化抗肿瘤药物伊马替尼（图 4-I、4-II）和异环磷酰胺（图 4-III）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。

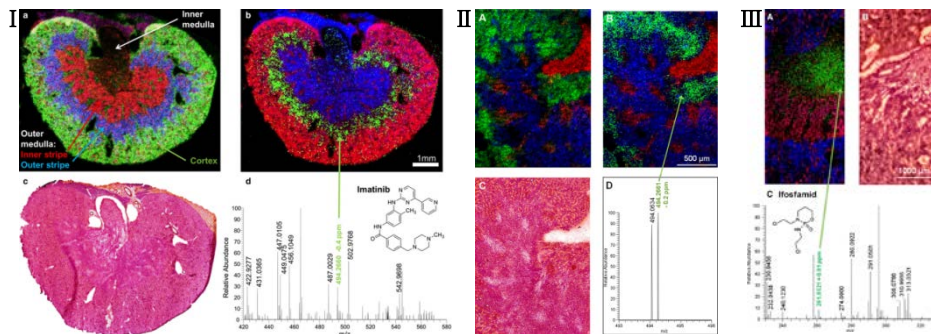


图 4 I 伊马替尼在肾脏组织中的分布，空间分辨率 35 $\mu$ m；II 伊马替尼在肾脏组织局部分布，空间分辨率 10 $\mu$ m；III 异环磷酰胺在肾脏组织局部分布，空间分辨率 25 $\mu$ m（引自: *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2011, 401(1): 65-73）

## 2.4 应用 TransMIT AP-SMALDI 10 研究植物次生代谢物组织空间特异性分布

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 5 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 5b 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，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。

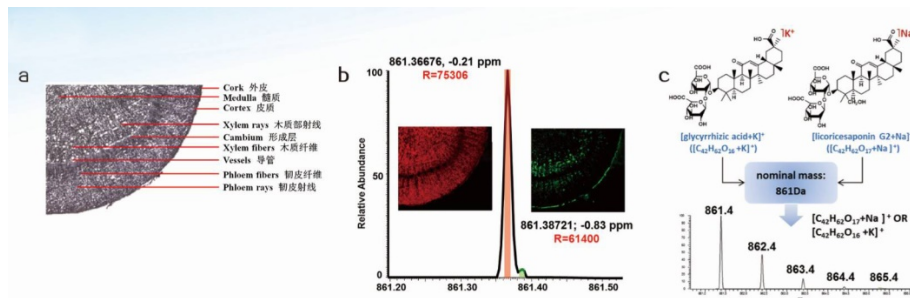
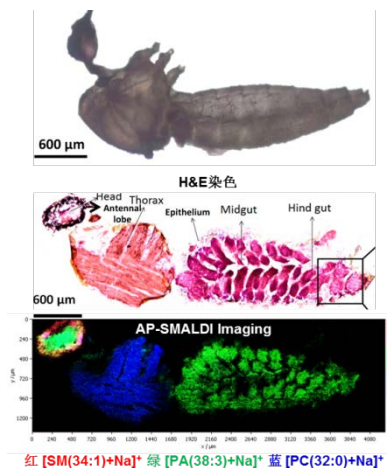


图 5 a 甘草根茎横切面光学成像；b 甘草酸 ( $m/z$  861.36676) 和甘草皂苷 G2 ( $m/z$  861.38721) 的单素质谱图及其质谱成像图，空间分辨率  $30\mu\text{m}$ ；c 低分辨率质谱图（引自：The Plant Journal, 2014, 80(1): 161-171）

## 2.5 应用 TransMIT AP-SMALDI 10 研究昆虫内源性代谢物的空间分布

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 6 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。



红 [SM(34:1)+Na]<sup>+</sup> 绿 [PA(38:3)+Na]<sup>+</sup> 蓝 [PC(32:0)+Na]<sup>+</sup>

图 6 TransMIT AP-SMALDI 10 斯氏按蚊质谱成像，空间分辨率 5  $\mu\text{m}$

(引自: *Analytical chemistry*, 2015, 87(22): 11309-11316 )

## 2.6 TransMIT AP-SMALDI 10 在单细胞研究中的应用

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 7 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。

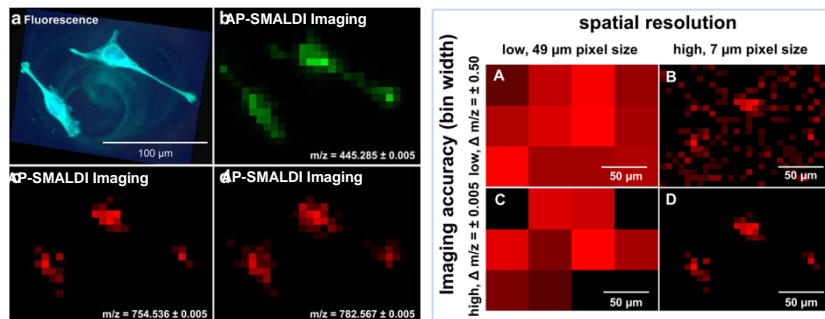


图 7 TransMIT AP-SMALDI 10 HeLa 细胞质谱成像，空间分辨率 7  $\mu\text{m}$

(引自: *Analytical chemistry*, 2012, 84(15): 6293-6297)

## 3、质谱成像设备应用展望

在国际上，质谱成像技术是分析化学领域的一支新生力量，是目前最前沿的表面分析技术之一。因其独特的分析方式，为科研工作者带来了全新的研究视角。近五年，在各大领域将继续大显身手，获得越来越多的青睐和认可。TransMIT AP-SMALDI 10 离子源与 Orbitrap 高分辨率质谱仪结合独具特色，兼具高空间分辨率、高质量分辨率和质量精度，以及串联质谱功能，将成为医学研究、药物开发、植物生物学、昆虫学、微生物等领域的重要研究工具。

未来质谱成像仪的各项性能都会继续得到提升，最受关注的依然是空间分辨率的提升，定量方法的开发以及便捷准确的数据处理方法。

### 参考文献:

- 1、Kompauer M, Heiles S, Spengler B. Atmospheric pressure MALDI mass spectrometry imaging of tissues and cells at 1.4- $\mu\text{m}$  lateral resolution[J]. *Nature methods*, 2017, 14(1): 90-96.
- 2、Kompauer M, Heiles S, Spengler B. Autofocusing MALDI mass spectrometry imaging of tissue sections and 3D

- chemical topography of nonflat surfaces[J]. *Nature methods*, 2017, 14(12): 1156.
- 3、 Khalil S M, Römpp A, Pretzel J, et al. Phospholipid topography of whole-body sections of the anopheles stephensi mosquito, characterized by high-resolution atmospheric-pressure scanning microprobe matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging[J]. *Analytical chemistry*, 2015, 87(22): 11309-11316.
  - 4、 Li B, Bhandari D R, Janfelt C, et al. Natural products in Glycyrrhiza glabra (licorice) rhizome imaged at the cellular level by atmospheric pressure matrix-assisted laser desorption/ionization tandem mass spectrometry imaging[J]. *The Plant Journal*, 2014, 80(1): 161-171.
  - 5、 Römpp A, Spengler B. Mass spectrometry imaging with high resolution in mass and space[J]. *Histochemistry and cell biology*, 2013, 139(6): 759-783.
  - 6、 Schober Y, Guenther S, Spengler B, et al. Single cell matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging[J]. *Analytical chemistry*, 2012, 84(15): 6293-6297.
  - 7、 Römpp A, Guenther S, Takats Z, et al. Mass spectrometry imaging with high resolution in mass and space (HR<sup>2</sup> MSI) for reliable investigation of drug compound distributions on the cellular level[J]. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2011, 401(1): 65-73.
  - 8、 Römpp A, Guenther S, Schober Y, et al. Histology by mass spectrometry: label-free tissue characterization obtained from high-accuracy bioanalytical imaging[J]. *Angewandte chemie international edition*, 2010, 49(22): 3834-3838.