

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ С ПОМОЩЬЮ МАСС-МИКРОСКОПА iMScore TRIO

Д.Фармаковский,  
Shimadzu,  
smo\_df@shimadzu.ru

**К**орпорация Shimadzu, один из мировых лидеров аналитического приборостроения, представила в августе 2014 года для продаж в Европе уникальный инструмент молекулярной визуализации методом масс-спектрометрии MALDI – визуализирующий масс-микроскоп iMScore TRIO. В отличие от традиционной масс-спектрометрии, которая не позволяет определять локализацию целевых соединений в образце, методы молекулярной визуализации с использованием масс-спектрометров MALDI обеспечивают получение важной информации о пространственном распределении молекул в исследуемых тканях или других образцах. В статье обсуждаются возможности и преимущества нового масс-микроскопа.

Визуализирующий масс-микроскоп iMScore TRIO (рис.1) представляет собой комбинацию оптического микроскопа, гибридного масс-спектрометра и системы ионизации при атмосферном давлении MALDI/LDI. С помощью этого прибора в ходе одного исследования можно получить и совместить три принципиально разные изображения образца: оптическое (в проходящем/отраженном свете), флуоресцентное, а также полученное путем обработки результатов масс-спектрометрического анализа. Важную информацию о структуре молекул содержат данные результатов последовательной фрагментации (до десяти раз) целевых соединений в режиме MS<sup>n</sup>. Такие широкие возможности делают iMScore TRIO незаменимым инструментом для самых сложных исследований в области молекулярной визуализации. iMScore TRIO может найти применение в исследовательских лабора-

ториях университетов, фармацевтических компаний, медицинских исследовательских организаций, предприятий пищевой, электронной и химической промышленности. Приведем некоторые примеры использования iMScore TRIO:

- идентификация маркеров конкретных заболеваний на основе различий в распределении характеристических молекул в здоровой и больной тканях;
- фармакокинетические исследования *in vivo* – изучение пространственного распределения, накопления и метаболизации лекарственных средств в тканях;
- изучение механизмов распределения наркотических и токсичных соединений в тканях и взаимодействия токсинов с тканями организма;
- контроль содержания и локализации тех или иных ингредиентов в продуктах питания;



Рис.1. Визуализирующий масс-микроскоп Shimadzu iMScope TRIO

- высокоэффективный контроль поверхности готовых изделий электронной и химической промышленности, поиск и идентификация микровключений.

iMScope TRIO состоит из блока ионизации и оптической визуализации (рис.2) и отсека гибридного масс-спектрометра (рис.3). В блоке визуализации расположены мощный оптический микроскоп с возможностью увеличения до 40 раз, механизм сверхточного позиционирования образца и запатентованный сверхбыстрый твердотельный лазер для его ионизации. Варьируемый диаметр лазерного пучка (от 200 до 5 мкм) и прецизионный механизм позиционирования обеспечивают непревзойденный на сегодняшний день уровень пространственного разрешения при молекулярной визуализации, который составляет 5 мкм. Это делает возможным детальное изучение представляющих интерес областей тканей, например, проведение сравнительного анализа здоровой и пораженной опухолью тканей или наблюдение за локализацией и трансформацией противоопухолевых препаратов в клетках организма.

Отсек масс-спектрометра содержит апробированный гибридный масс-спектрометр Shimadzu IT-TOF, включающий времяпролетный анализатор масс с рефлектроном и квадрупольную ионную ловушку. Такая уникальная комбинация позволяет проводить масс-спектрометрические измерения в режиме МС<sup>n</sup> и, как результат, с высо-



Рис.2. Отсек оптического микроскопа и системы ионизации iMScope TRIO



Рис.3. Отсек гибридного масс-спектрометра iMScope TRIO



Рис.4. Система для нанесения матрицы путем осаждения из газовой фазы iMLayer

кой точностью идентифицировать целевые соединения и детально исследовать их структуру.

Ниже перечислены основные этапы анализа при использовании iMScore TRIO.

Фиксированный на металлической или стандартной стеклянной проводящей подложке образец помещают в прибор и получают его оптическое изображение с помощью оптического микроскопа. Далее, используя оптическое изображение, оператор задает границы зоны образца, предназначенной для масс-спектрометрического анализа MALDI. При этом можно выбрать как одну, так и две смежные области, например, для сравнительного анализа двух участков ткани пациента при онкозаболевании. После чего держатель с образцом извлекают из прибора и на образец наносят

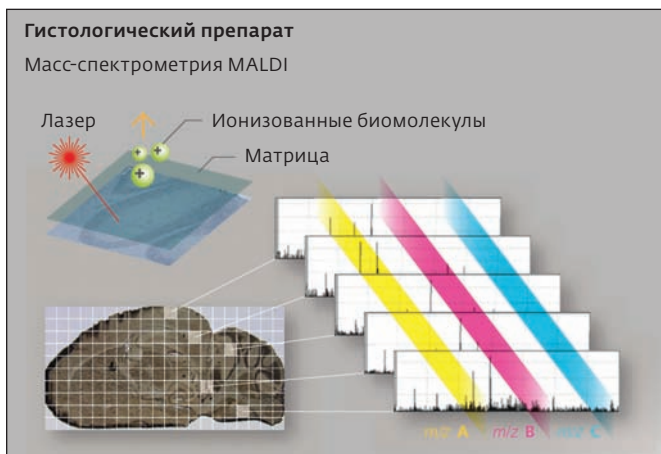


Рис.5. Молекулярная визуализация методом масс-спектрометрии MALDI

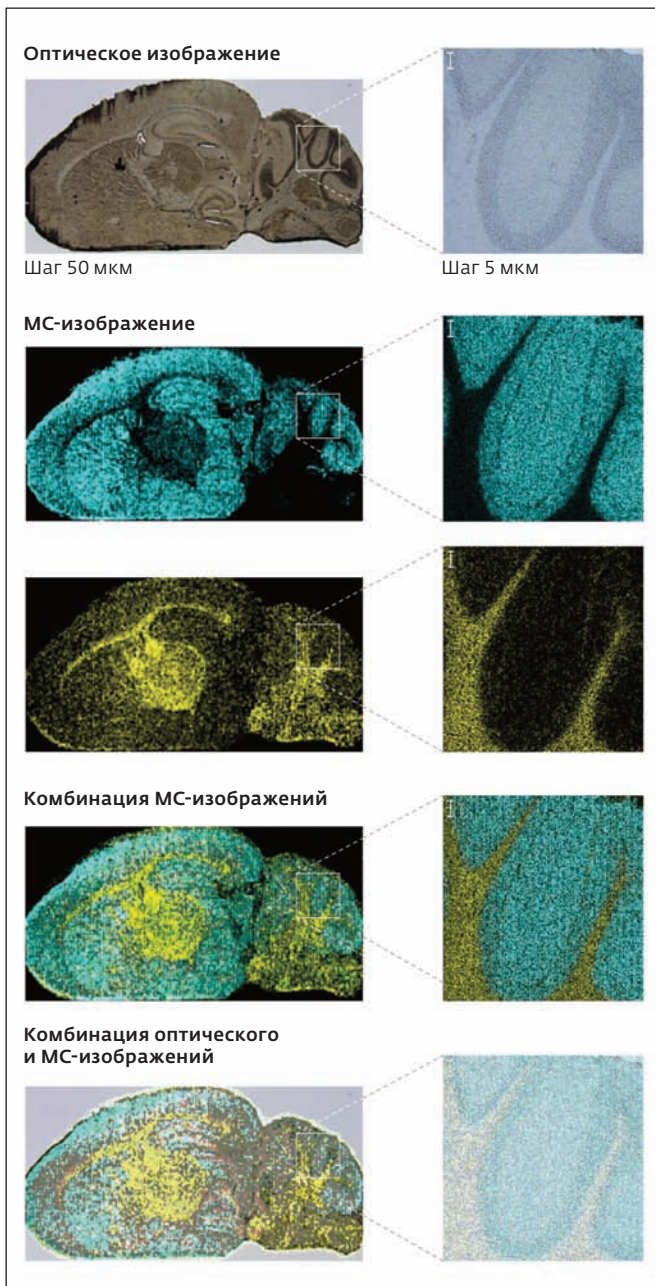


Рис.6. Комбинация оптического изображения и изображения, полученного путем обработки масс-спектров

слой матрицы, наиболее подходящей для масс-спектрометрического анализа. Матрица может быть нанесена традиционными способами, однако для работ по молекулярной визуализации при помощи масс-спектрометрии специалисты Shimadzu рекомендуют использовать специально разработанное устройство iMLayer (рис.4). Последнее предназначено для осаждения матрицы на образец из газовой фазы и рабо-

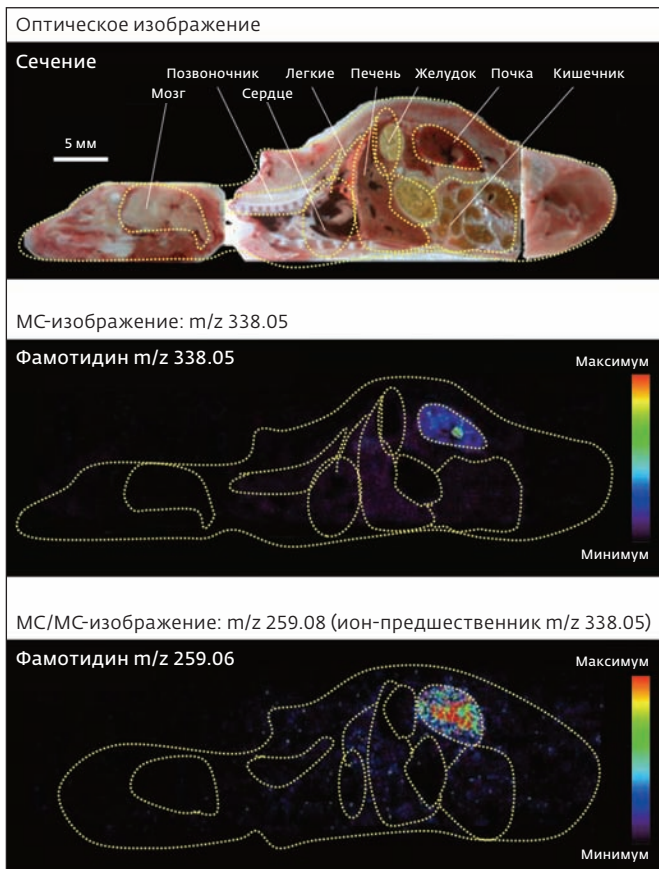


Рис.7. Фармакокинетика фамотицина в организме мыши

тает со всеми типами используемых в масс-спектрометрии MALDI матриц, обеспечивая получение тонких мелкозернистых (размер кристалла ~1 мкм) слоев. Такой равномерный слой матрицы существенно улучшает пространственное разрешение при масс-визуализирующих экспериментах. После нанесения матрицы держатель с образцом вновь помещают в прибор, при этом прецизионный механизм обеспечивает сверхточное позиционирование образца так, чтобы не произошло смещения выбранной для исследования зоны/зон. Точки выбранной зоны подвергаются воздействию лазерных импульсов по предварительно заданному алгоритму, и ионизированные молекулы образца анализируются гибридным анализатором масс (рис.5). Благодаря фирменным технологиям "охлаждения" и фокусирования ионов в ионной ловушке с последующей экстракцией их во времяпролетный анализатор масс качество получаемых масс-спектров практически не зависит от состояния поверхности образца. Гибридная конструкция масс-анализатора позволяет проводить изме-

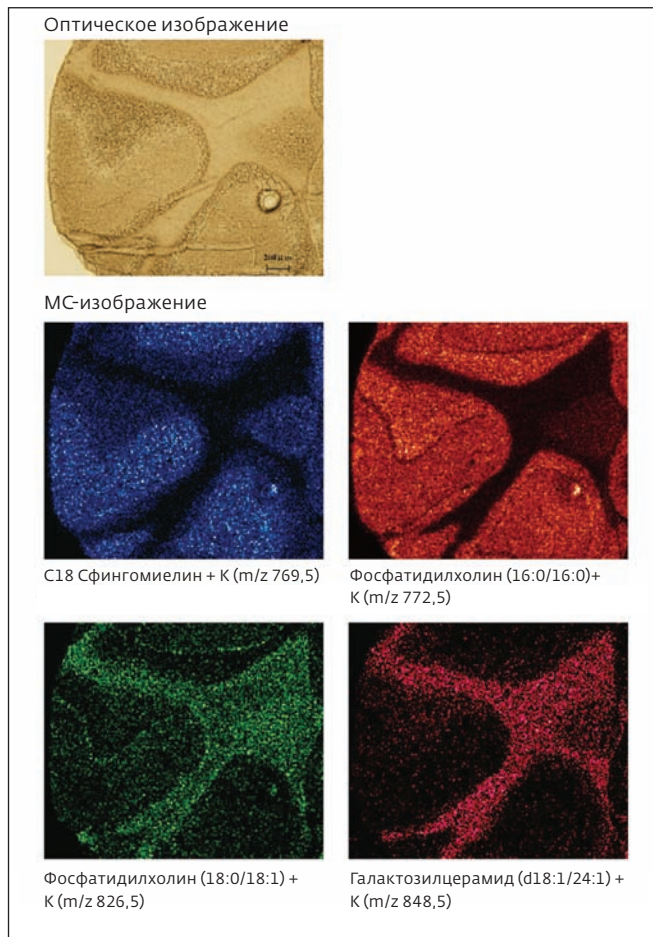


Рис.8. Пространственное распределение липидов в мозжечке мыши

рения как в режиме классической времяпролетной масс-спектрометрии, так и в режимах MS/MS и MS<sup>n</sup> (n ≤ 10). Весь массив полученных в ходе измерения масс-спектров обрабатывается программным обеспечением Imaging MS Solution и формируется 2D- или 3D-изображение пространственного распределения целевых соединений в исследуемом образце. Важнейшей особенностью Imaging MS Solution является возможность комбинирования всех типов изображений (оптических и полученных с помощью масс-спектрометрии) в единое изображение (рис.6). Это позволяет получать важную информацию о взаимосвязи морфологических особенностей образца с содержанием и пространственным распределением целевых соединений. Помимо этого, программное обеспечение включает в себя мощные инструменты для анализа полученных масс-спектрометрических изображений. Так, например, программный инструмент Principal

Component Analysis выявляет в заданном диапазоне масс основное (доминирующее) соединение в образце, а инструмент Region of Interest (ROI) Analysis используется для проведения сравнительного анализа содержания и пространственного распределения множества характеристических молекул в двух выбранных зонах образца.

Далее приведены примеры практического использования iMScore TRIO для исследования различных объектов.

Возможности iMScore TRIO при проведении фармакокинетических исследований иллюстрирует рис.7. Срез тушки лабораторной мыши был приготовлен через три минуты после внутривенного введения ей фамотидина. Подготовленный гистологический препарат проанализировали с использованием iMScore TRIO. Матрицу (2,5-дигидроксибензойную кислоту, DHB) нанесли напылением. Масс-спектрометрический анализ всей поверхности препарата проводили в режиме МС/МС с пространственным шагом 200 мкм. Как видно из рисунка, определена специфическая локализация фамотидина и продуктов его метаболизации в клетках почек лабораторного животного.

На рис.8 представлены результаты изучения пространственного распределения липидов в мозжечке мыши. Как и в предыдущем примере, в качестве матрицы использовали DHB, которую наносили на препарат мозжечка путем осаждения из газовой фазы с помощью iMLayer. Шаг сканирования лазером составлял 10 мкм. Полный цикл измерения занял около трех часов. На верхнем снимке показано оптическое изображение препарата, а на снимках ниже приведены изображения, полученные в результате обработки данных масс-спектрометрии.

Опционально iMScore TRIO можно оснастить традиционной системой ионизации электроспреем для использования совместно с ВЭЖХ-системами производства Shimadzu.

Таким образом, iMScore TRIO предлагает исследователям уникальный комплекс возможностей при работе с биологическими объектами: высокий уровень пространственного разрешения при молекулярной визуализации, комбинацию морфологического и масс-спектрометрического анализов в ходе одного исследования, а также изучение структуры целевых соединений за счет режима МС<sup>n</sup>.

α

## НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА "ТЕХНОСФЕРА"



### МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ: АППАРАТУРА, ТОЛКОВАНИЕ И ПРИЛОЖЕНИЯ

Экман Р., Зильберинг Е.,  
Вестман-Бринкмальм Э., Край А.

Москва: Техносфера, 2013. –  
368 с.+ 16 с. цв. вкл.,  
ISBN 978-5-94836-364-6

Цена 1090 руб.

Написанная при участии видных экспертов из Европы и Северной Америки, книга познакомит читателей с миром масс-спектрометрии, а также перспективами ее использования в различных областях науки. В книге представлена история метода, обсуждение приборов, теории и основных приложений. Особое внимание уделяется применению масс-спектрометрии в таких сферах, как органическая и неорганическая химия, судебная медицина, биотехнологии.

Книга призвана дать широкому кругу читателей фундаментальные знания по масс-спектрометрии, ставшей важной частью академического образования в области аналитической химии.

#### КАК ЗАКАЗАТЬ НАШИ КНИГИ?

✉ 125319, Москва, а/я 91; ☎ (495) 234-0110; 📠 (495) 956-3346; [knigi@technosphera.ru](mailto:knigi@technosphera.ru), [sales@technosphera.ru](mailto:sales@technosphera.ru)