

使用SELECT SERIES™多反射ToF (MRT)质谱仪改进组织成像应用的特征检测和推断性鉴定

Lisa Reid, Mark Towers, Emma Marsden-Edwards, Sheba Jarvis

Waters Corporation, Imperial College

用于体外诊断。仅在部分国家/地区销售。

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

与传统的研究型oa-QToF质谱仪相比，SELECT SERIES MRT质谱仪可对HRMS DESI成像提供更高的质量精度和质量分辨率。MRT质谱仪的质量分辨率 $>200,000$ FWHM，可实现出色的分析物检测；且质量精度 <500 ppb，可改善生物标志物的推断性鉴定。

优势

使用DESI-MRT质谱仪分析野生型小鼠肾上腺组织切片。与传统的oa-QToF质谱仪相比，在MRT质谱仪上使用DESI时，组织分析物的检测和鉴定有明显改善。

简介

基于质谱的组织成像是个快速发展的研究领域，在生命科学、制药、医学和食品科学中都有应用。该学科成功的关键是能够检测与疾病、毒性、污染、质量等相关的变化，并快速鉴定这些变化产生的推断性“生物标志物”。因此，优化质谱分析的速度、质量分辨率和质量精度可以明显提高结构鉴定的效率和信心。

SELECT SERIES MRT质谱仪是一款Q-ToF质谱仪，具有两个无栅静电反射镜，使离子束能够在质量分析器内进行多次反射，并将离子飞行路径延长至>48米当量。此特性使质量精度(<500 ppb)和质量分辨率(>200,000 FWHM)在非捕集仪器中实现突破性提升，并且在宽泛的质量范围以及快速的扫描速度下始终保持一致。这一进步为常规或大型组织成像应用提供了高质量分辨率。

为了证明SELECT SERIES MRT质谱仪现在可以提供更高的质量分辨率和质量精度，我们分别在SELECT SERIES MRT质谱仪和传统的研究型oa-QToF质谱仪上对冷冻切片的小鼠肾上腺进行了分析。肾上腺是重要的内分泌器官，富含脂质，为糖皮质激素、盐皮质激素和雄激素的合成提供胆固醇底物。本研究的目的是通过肾上腺的结构和组成可视化更好地了解肾上腺功能异常与组织脂质成分变化之间的关联。

结果与讨论

将健康的野生型小鼠肾上腺冷冻切片到载玻片上，厚度为15 μm。

在SELECT SERIES MRT质谱仪以及分辨率为20,000 FWHM的传统研究型oa-QToF质谱仪上对这些切片进行DESI-MS分析。在正电离和负电离模式下以25 μm像素大小的图像分辨率采集数据。

使用High Definition™ Imaging (HDI™)软件解析生成的原始数据，该软件可创建离子化合物的视觉叠加图，映射肾上腺内每个离子的分布。得到的数据清楚表明，可以在组织内清晰地识别髓质、皮质和皮质的外部区域。在正离子和负离子数据中，每个区域都有强烈的独特生物标记。红/绿/蓝(RGB)叠加图像示例显示了每个区域的不同化合物（图1），这表明MRT质谱仪可以提供和可视化特有的化合物定位信息。

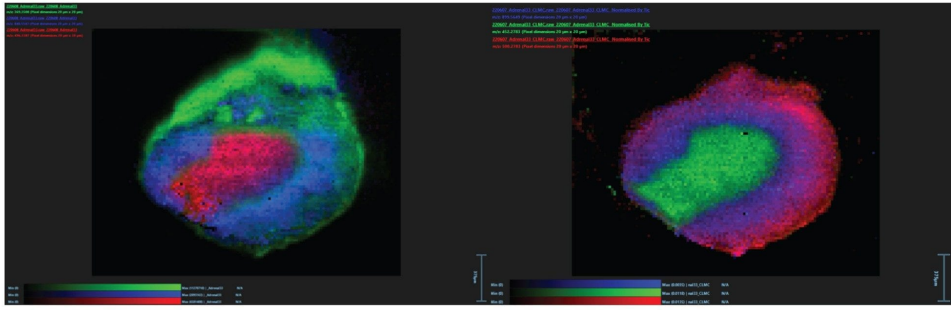


图1.在MRT上通过DESI MSI以正电离模式（左）和负电离模式（右）（TIC归一化）分析小鼠肾上腺组织切片的示例图像

MRT质谱仪提供的>200,000 FWHM的高质量分辨率揭示了推断性生物标志物的精细同位素结构，并提供<500 ppb的质量精度，从而可以更自信地推断出元素组成。质量精度提高能够使潜在元素组成的数量显著减少，由此增加对鉴定结果的信心。根据MRT质谱仪提供的精确质量分辨率，通过生成理论元素组成预测来分配三种脂质的推断性结构鉴定（图2）。然后通过在线数据库搜索建议的分子式以寻找潜在的化合物鉴定结果。

在RGB叠加图（图1，A）中，正电离模式显示以下信号：红色 m/z 496.33972被推断性鉴定为LPC 16:0/LPE 19:0 ($M+H^+$)，质量精度为20 ppb；蓝色 m/z 848.55695被推断性鉴定为PC 38:4/PE 41:4 ($M+K^+$)，质量精度为39 ppb（图2）；绿色 m/z 369.35156被推断性鉴定为胆固醇($M-H_2O+H^+$)，质量精度为54 ppb。RGB叠加图（图1，B）中的负电离模式显示：红色 m/z 500.27826被推断性鉴定为LPE 20:4 ($M-H^-$)，质量精度为120 ppb；蓝色 m/z 899.56519被推断性鉴定为PI 39:4 ($M-H^-$)，质量精度为356 ppb；绿色 m/z 452.2783被推断性鉴定为LPC 13:0 ($M-H^-$)，质量精度为133 ppb。

脂质 m/z 806.55说明了MRT提高MS分辨率带来的影响。传统的oa-QToF质谱仪在 ± 50 mDa偏差窗口下运行，产生了13种可能的化合物鉴定结果，最佳匹配为PC 38:6 ($M+H^+$)。MRT质谱仪则能够将该信号区分为三个不同的质量数并提供推断性鉴定结果（质心质量数值）： m/z 806.51007鉴定为PE 35:4 ($M+K^+$)，质量精度为508 ppb； m/z 806.55829鉴定为PE 36:4 ($C_{13_2} M+Na^+$)，质量精度为260 ppb； m/z

806.56909鉴定为PE 38:6 (M+H⁺), 质量精度为422 ppb。

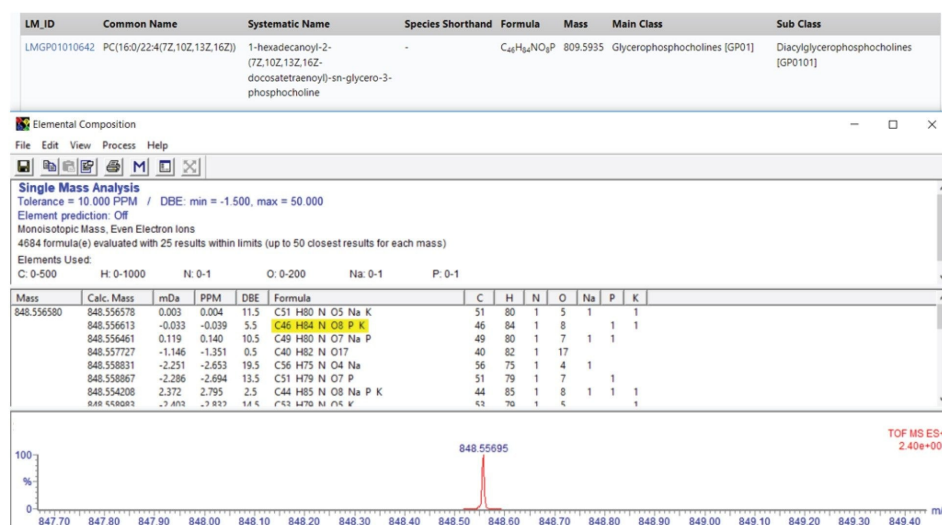


图2. MassLynx软件中的元素组成搜索示例以及MRT DESI MSI数据集中的建议组成相应的LIPID MAPS³数据库匹配

图3显示了从两个质谱仪获得的示例谱图。传统oa-QToF产生的谱图只有一个离子信号m/z 806.55。而使用MRT质谱仪研究该信号时，由于该质谱仪的质量分辨率更高，因此能够将该m/z信号分离成三个不同的（近）基线分离的质荷比特征（非质心质量数）：m/z 806.50964、m/z 806.55829和m/z 806.56726。

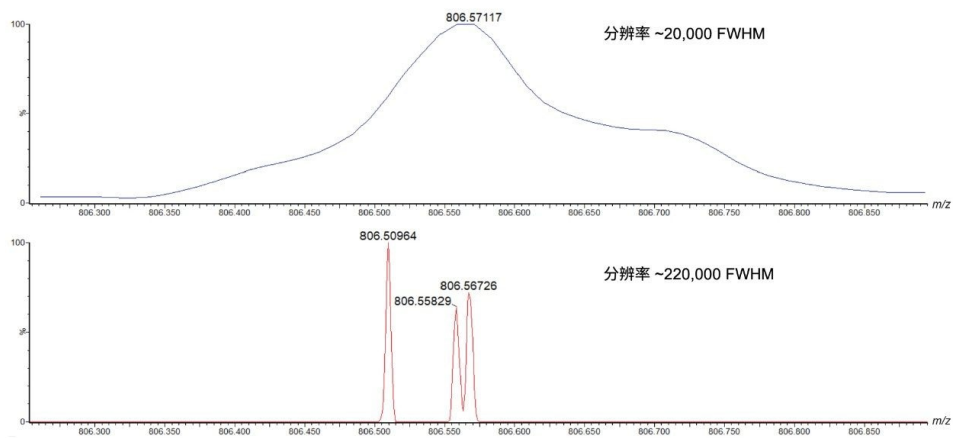


图3.使用传统oa-QToF质谱仪（上）和SELECT SERIES MRT质谱仪（下）分析小鼠肾上腺组织产生的窄 m/z 范围的代表性质谱图

当使用HDI软件可视化这些质量数时，传统oa-QToF中观察到的 m/z 806.55离子在肾上腺的髓质和皮质上显示出强烈的信号，显示为未定位或未区分的脂质标记物（图4 A）。如果使用MRT数据研究该信号，可以检测出三种不同的脂质；每个都显示差异组织定位（图4，B、C、D）。两个信号： m/z 806.51007 (B)和 m/z 806.55829 (C)似乎主要位于肾上腺皮质区域。信号B在髓质内的水平较低，而信号C似乎不存在于髓质内。 m/z 806.56909 (D)处的信号似乎主要位于肾上腺的髓质内，而在皮质内观察到较低水平。

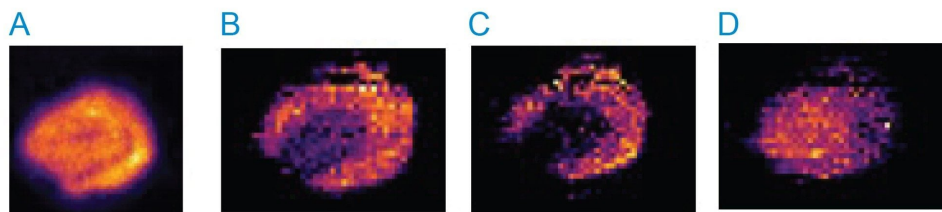


图4.传统oa-QToF质谱仪上 m/z 806.55的化合物图谱(A)，以及MRT质谱仪上 m/z 806.51007 (B)、 m/z 806.55829 (C)和 m/z 806.56909各化合物的图谱。

MRT质谱仪生成的数据可用多种不同的软件包处理，包括沃特世软件（例如

MassLynx™和HDI)；以及第三方软件，例如LipoStar™ MSI (Molecular Discovery)。本应用中处理肾上腺组织切片的工作流程包括用于谱图质量测定的MassLynx调查和元素组成工具。HDI用于绘制化合物图谱，能够生成组织图像以及每个组织区域的峰列表，从而能够在MetaboAnalyst²在线统计软件中进行统计分析以发现目标标记化合物。

结论

本应用表明SELECT SERIES MRT质谱仪上的DESI-MSI是一款合适的哺乳动物组织成像工具，如本例中小鼠肾上腺的分析所示。SELECT SERIES MRT质谱仪提供的高质量分辨率揭示了精细的同位素结构，并通过分离更多分子量非常相似的离子来增加观察到的特征数量。该质谱仪提供<500 ppb的质量精度，可减少潜在元素组成的数量，从而增加通过数据库搜索（例如LIPID MAPS™ Lipidomics Gateway网站）或通过专用软件得到的推断性鉴定结果的可信度。使用这项技术获取的数据可以通过MassLynx软件轻松处理，导入到HDI等图像处理软件中，并通过Metaboanalyst等统计软件进一步研究。

参考资料

1. US Department of Health Sciences, NIH (National Institute of Child Health and Human Development), Adrenal Gland Disorders.
 2. Ref: Pang, Z., Zhou, G., Ewald, J. *et al.* Using MetaboAnalyst 5.0 for LC–HRMS spectra processing, multi-omics integration and covariate adjustment of global metabolomics data. *Nat Protoc* (2022).
<https://doi.org/10.1038/s41596-022-00710-w> <
<https://doi.org/10.1038/s41596-022-00710-w>> .
 3. Update of the LIPID MAPS® comprehensive classification system for lipids. Fahy E., Subramaniam S., Murphy R., Nishijima M., Raetz C., Shimizu
-

T., Spener F., van Meer G., Wakelam M., and Dennis E., *Journal of Lipid Research* 50, S9-S14 (2009).

特色产品

[SELECT SERIES MRT <](#)

[https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135021297<](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135021297)

[DESI XS <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135047466>>](#)

[MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>](#)

720007810ZH, 2022年12月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)