

Исследование белков и пептидов методами масс-спектрометрии MALDI

Д.А. Фармаковский, Shimadzu Europa GmbH

Масс-спектрометрия MALDI: история

Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry - Лазерная десорбция/ионизация при содействии матрицы + времяпролетная масс-спектрометрия

разработано в 1980-х Karas & Hillenkamp и К. Танака с соавторами

Anal. Chem. **1988**, *60*, 2301–2303

Laser Desorption Ionization of Proteins with Molecular Masses Exceeding 10 000 Daltons

Michael Karas*
Franz Hillenkamp

Protein and Polymer Analyses up to m/z 100 000 by Laser Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry

Koichi Tanaka[†], Hiroaki Waki, Yutaka Ido, Satoshi Akita, Yoshikazu Yoshida and Tamio Yoshida

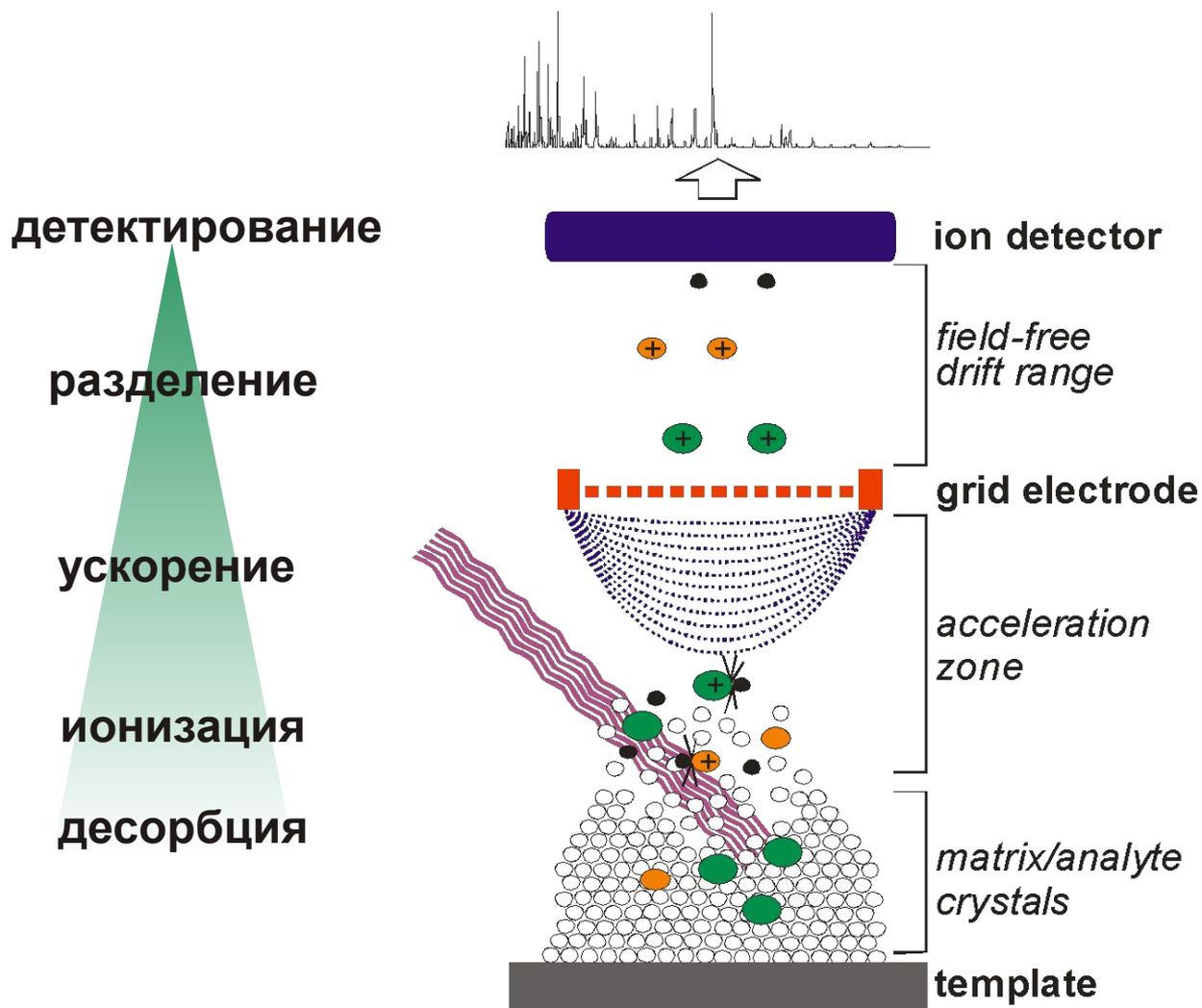
Shimadzu Corporation, Nishinokyo-Kuwabaracho, Nakagyo-ku, Kyoto 604, Japan

RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY, VOL. 2, NO. 8, 1988 151

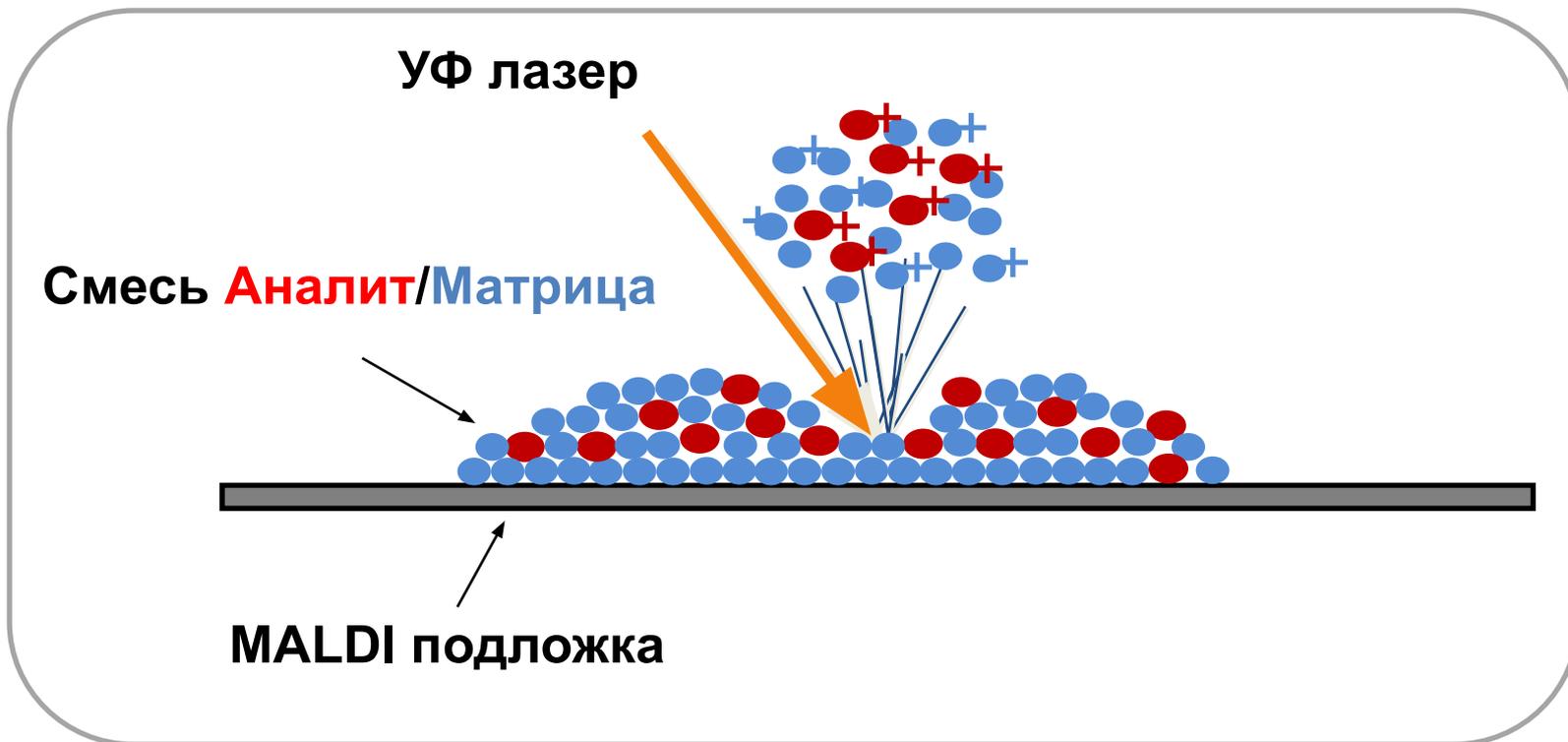
Нобелевская премия по химии К. Танака, 2002



Масс-спектрометрия MALDI-TOF: основные принципы



Ионизация MALDI



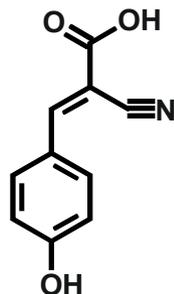
Матрицы для MALDI

Низкомолекулярные органические кислоты:
поглощают УФ, доноры протонов

Положительная ионизация

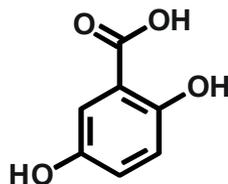
α -cyano-4-hydroxy-
cinnamic acid (HCCA)

$m = 189.07$ Da



2,5-dihydroxy-
benzoic acid
(DHB)

$m = 154.03$ Da



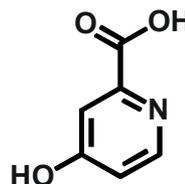
sinapic acid (SIA)

$m = 224.07$ Da

Отрицательная ионизация

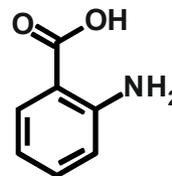
4-hydroxy-picolinic acid

$m = 139.05$ Da

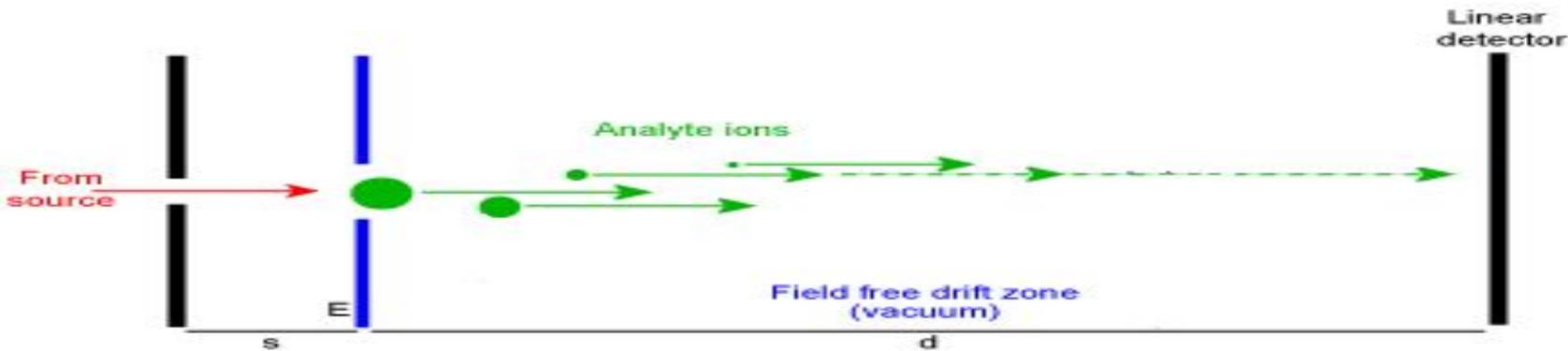


anthracinic acid

$m = 137.05$ Da

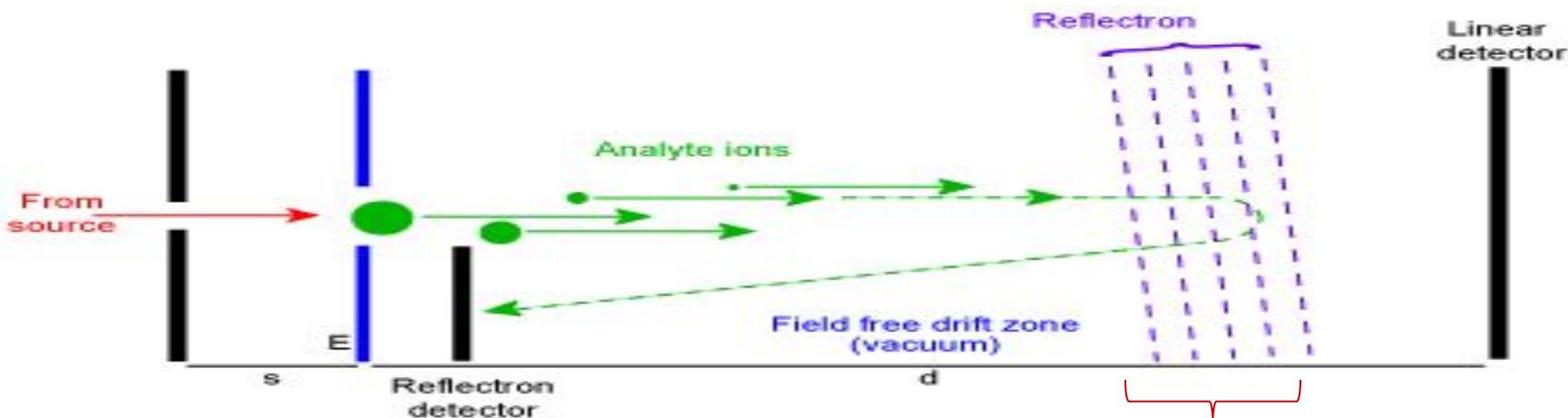


Линейный времяпролетный масс-анализатор (TOF)

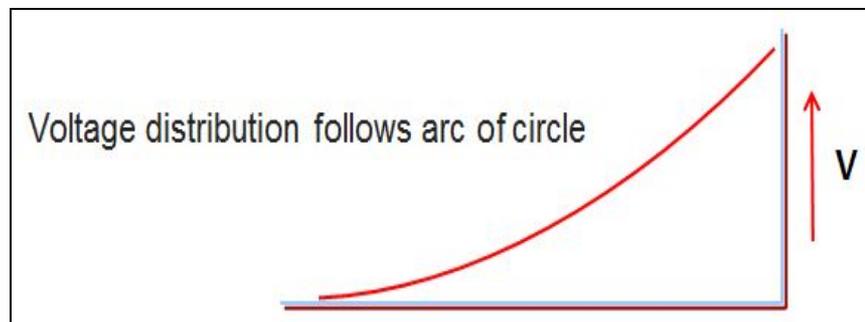


- диапазон масс до 350 КДа
- высокая чувствительность
- низкая величина разрешения по массам
- разрешение по массам в основном зависит от геометрических размеров времяпролетной трубы – чем длиннее путь пролета ионов, тем выше разрешение

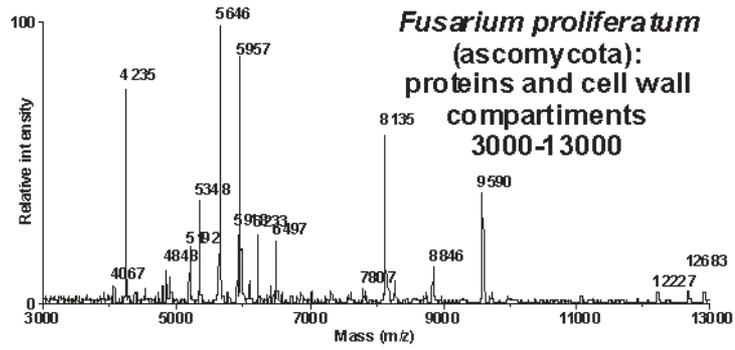
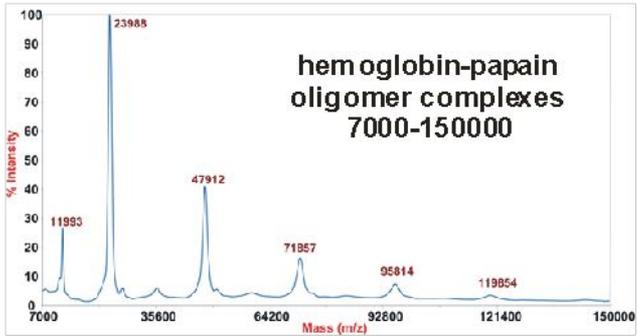
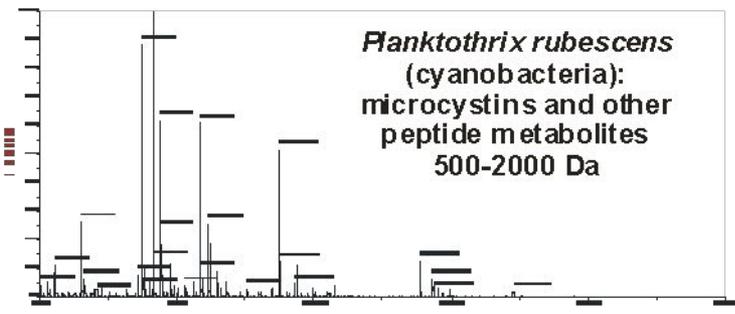
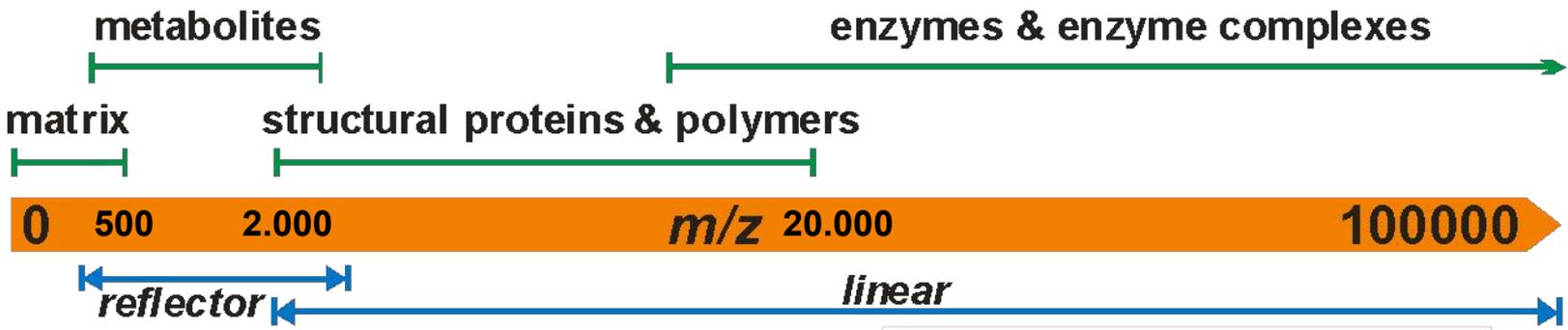
Времяпролетный масс-анализатор с рефлектроном (TOF reflectron)



- диапазон масс до 50 Кда
- использование рефлектрона существенно увеличивает путь пролета ионов без увеличения геометрических размеров прибора
- высокое разрешение по массам
- уникальный рефлектрон искривленного поля обеспечивает бесступенчатую регистрацию фрагментарных ионов



Масс-спектрометрия MALDI-TOF: диапазоны масс

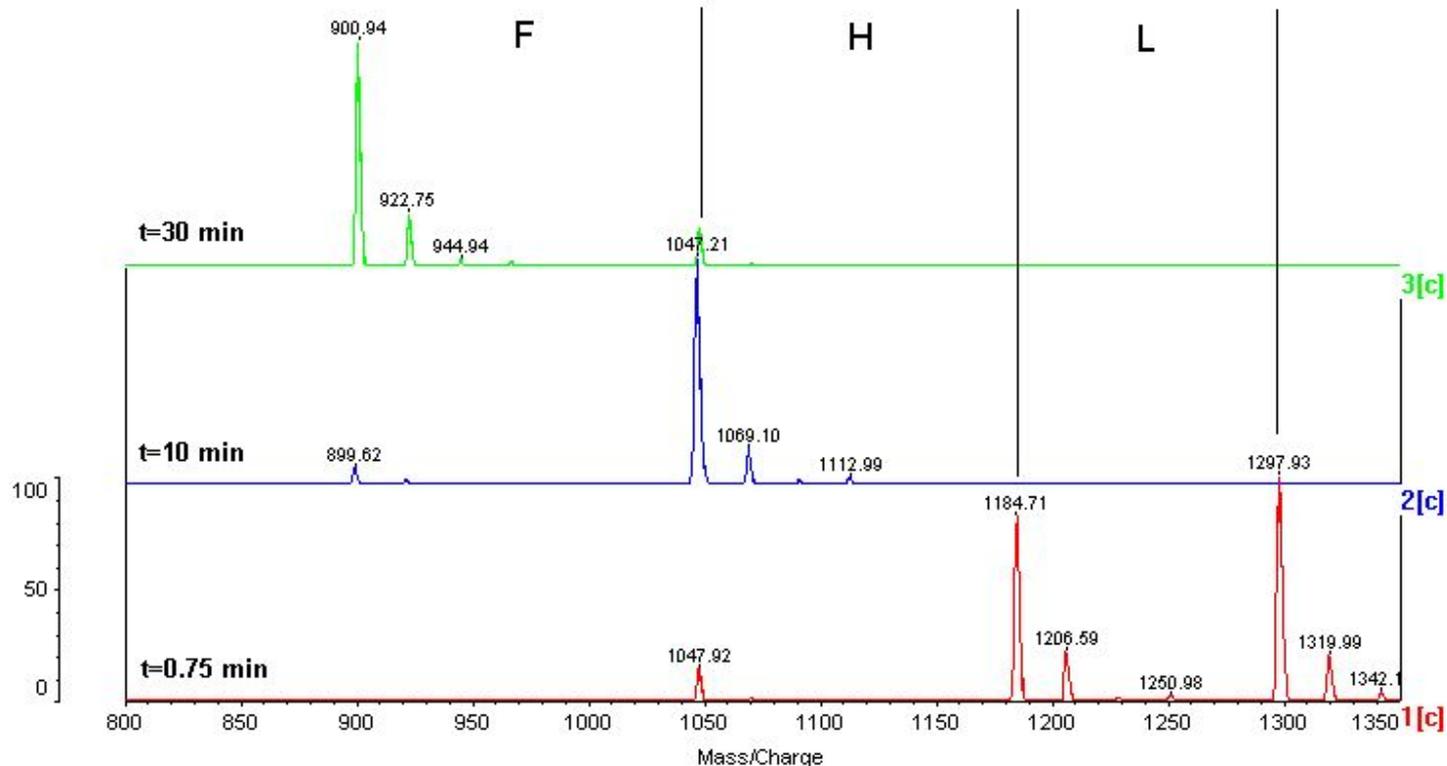


Масс-спектрометрия MALDI-TOF: преимущества метода

- Широчайший диапазон масс анализируемых соединений: от сотен Да до 500 КДа
- Возможность анализа высокомолекулярных соединений без разрушения молекулы.
- Высочайшая чувствительность: от 10^{-12} до 10^{-21} моль исследуемого вещества
- Высокая толерантность к солям
- В ходе ионизации образуются в основном однозарядные ионы, что значительно облегчает интерпретацию масс-спектров
- Возможность работы с многокомпонентными смесями
- Возможность получения информации о структуре анализируемых соединений при использовании MS/MS-анализа

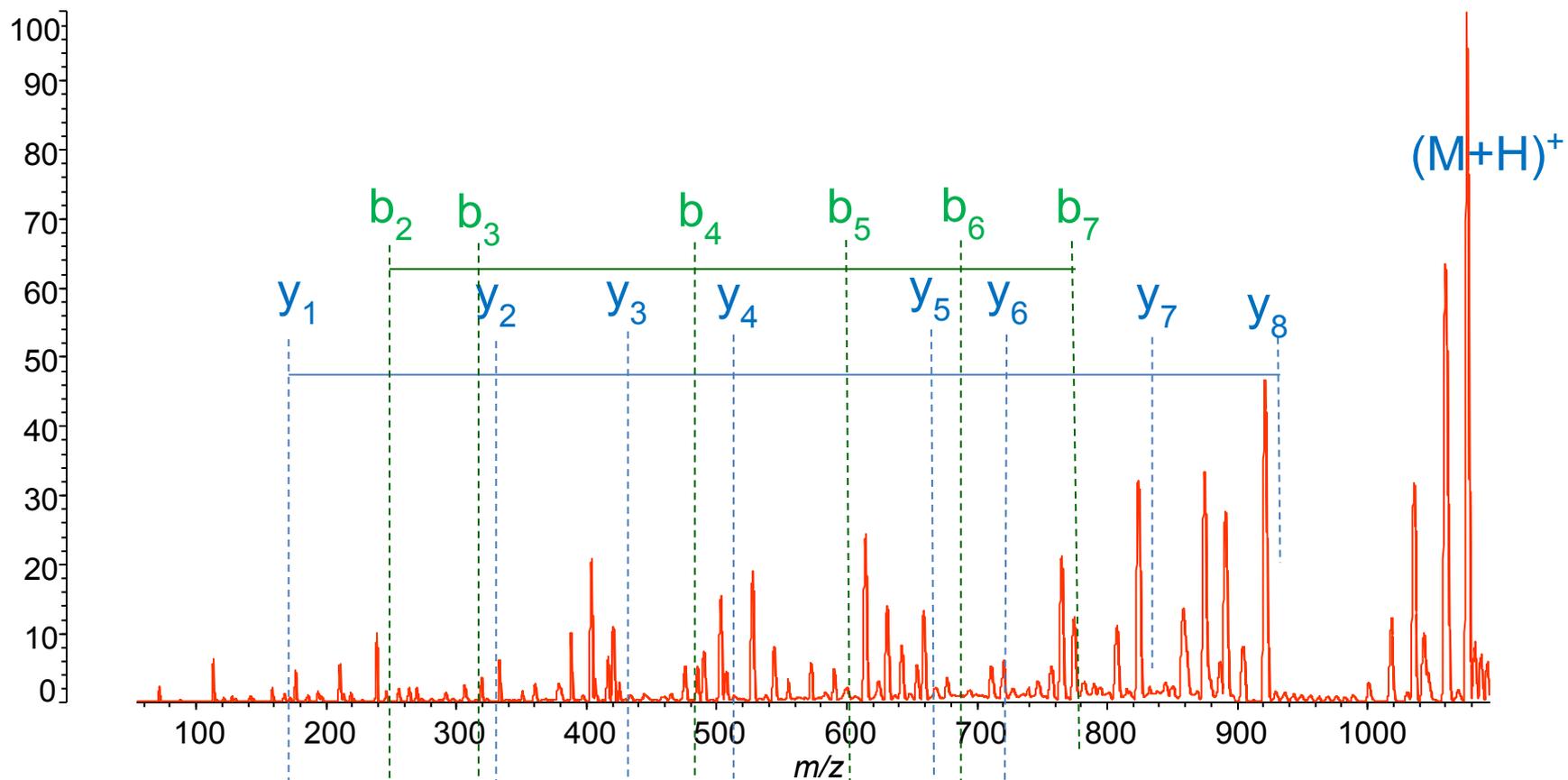
Леддерное секвенирование *de novo*:

- Ферментативный гидролиз амидных связей пептида
- Масс-спектрометрический анализ продуктов реакции
- Разница в массах соответствует массе аминокислотного остатка



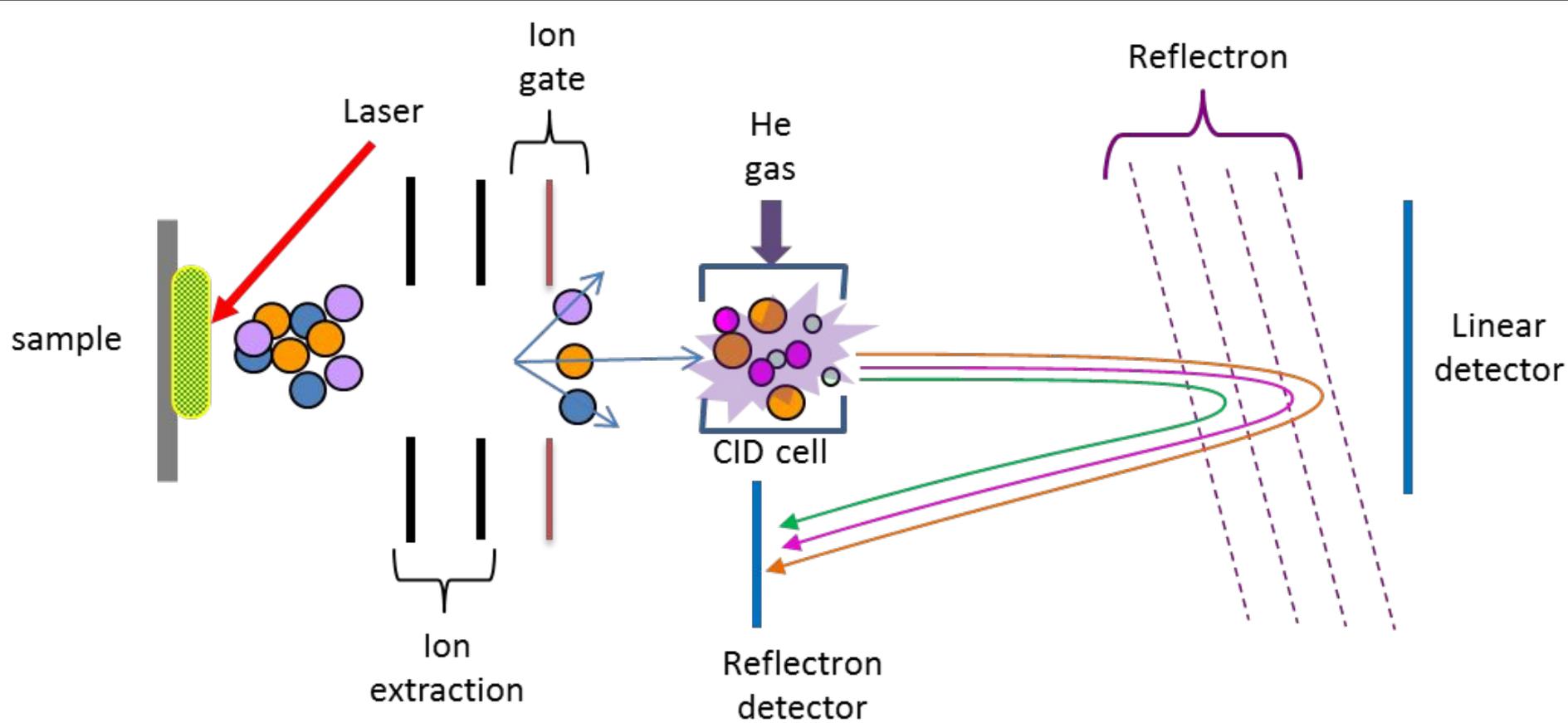
angiotensin I (DRVYIHPFHL), гидролизат (карбоксипептидаза)

Секвенирование пептидов (PSD)

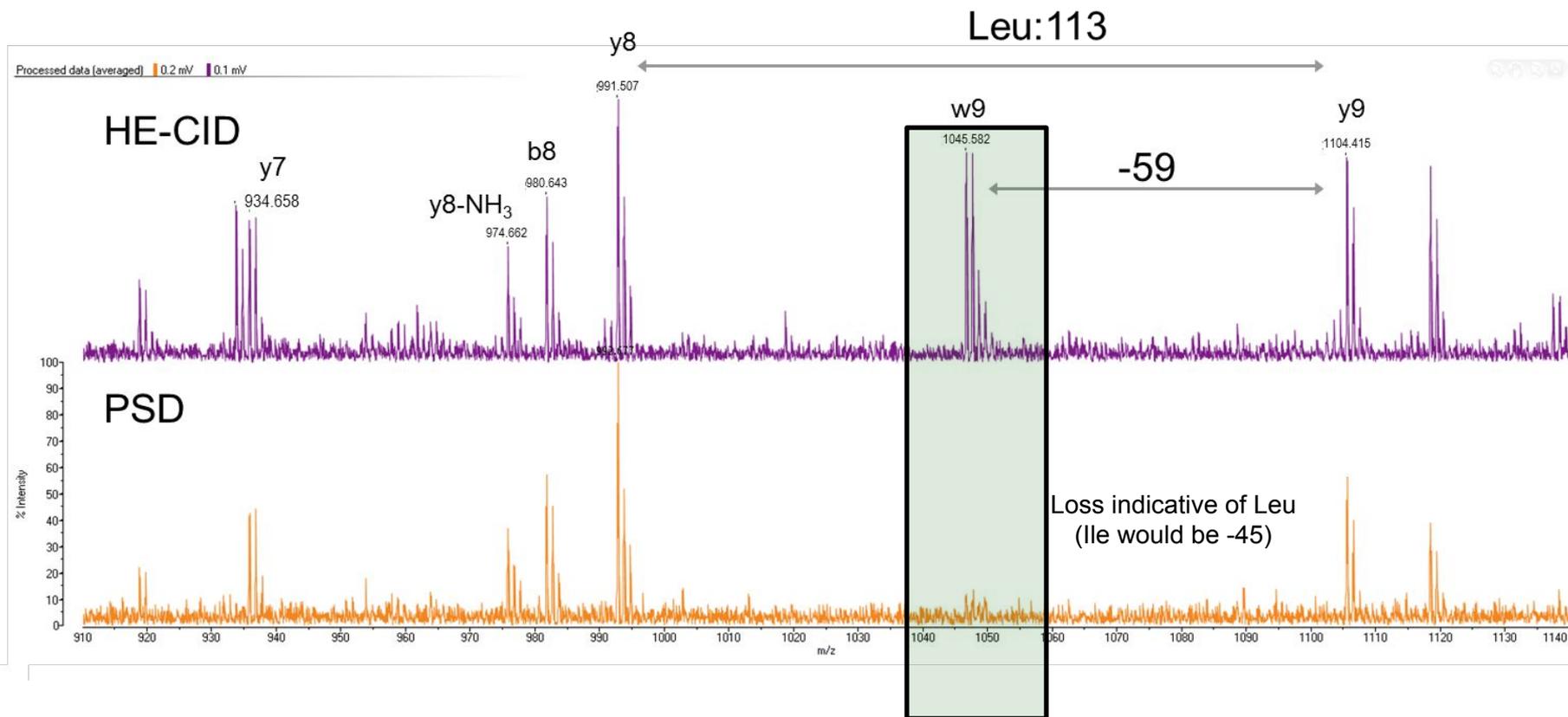


Низкоэнергетическая фрагментация пептидов за пределами источника ионизации

Секвенирование пептидов (HE-CID)

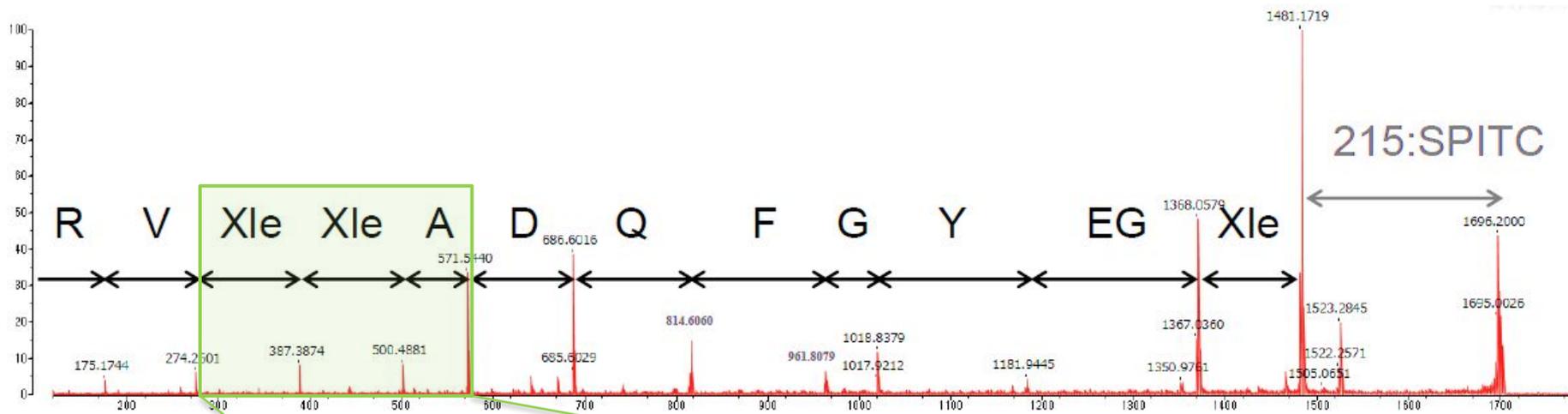


Секвенирование пептидов (HE-CID)

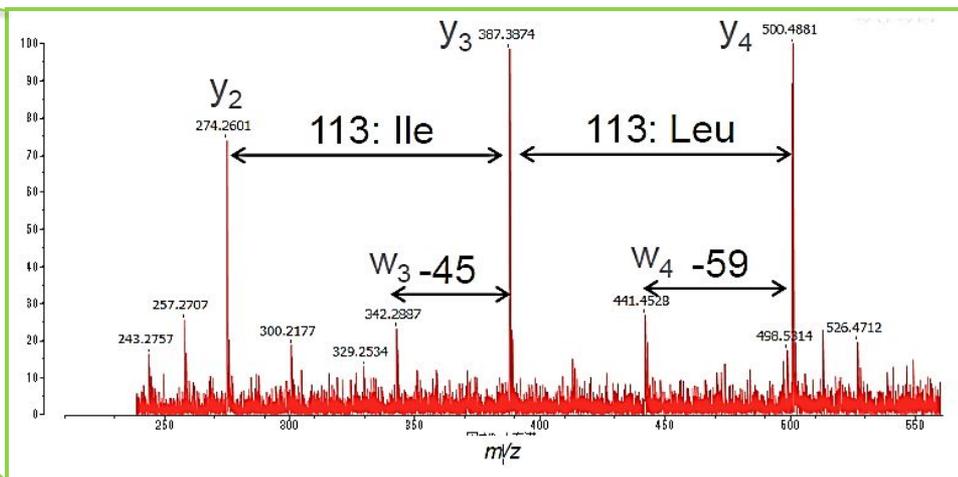


Фрагментация боковых цепей пептидов за счет высокоэнергетической соударительной диссоциации – дифференциация изомеров и изобаров, например, лейцина и изолейцина

Дифференциация лейцина и изолейцина

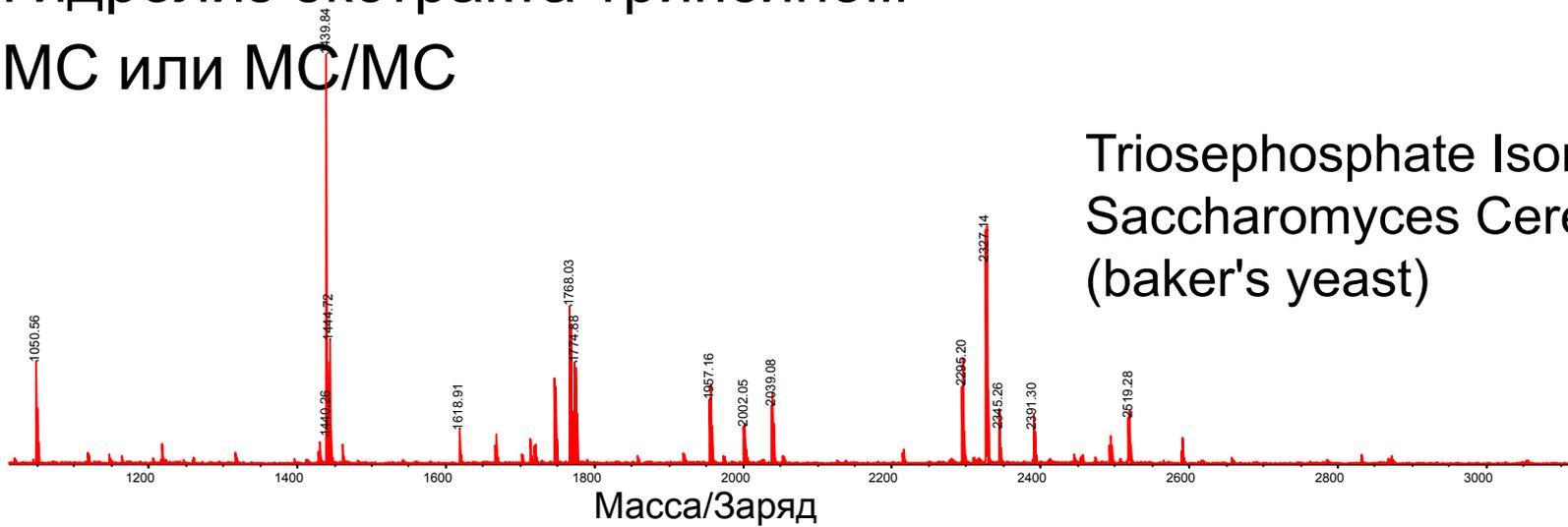


Фрагментация боковых цепей пептидов за счет высокоэнергетической соударительной диссоциации (HE CID) – дифференциация изомеров и изобаров, например, лейцина и изолейцина



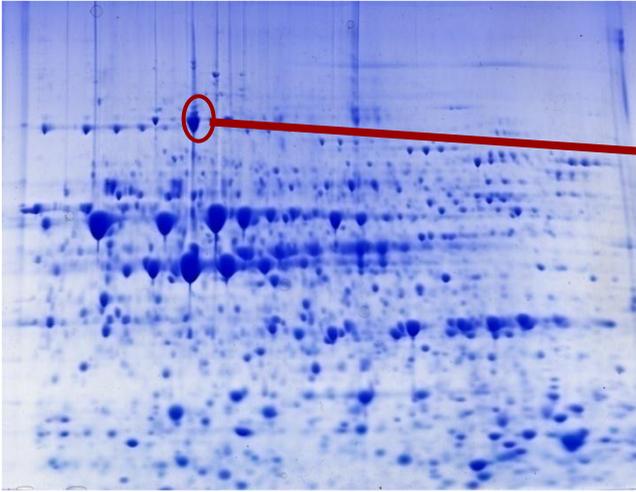
Идентификация белков и пептидов

- Определения массы не достаточно для точной идентификации (множество различных белков имеют близкую молекулярную массу)
- Предварительное разделение (2D электрофорез)
- Экстракция «пятна» из геля
- Гидролиз экстракта трипсином
- MS или MS/MS



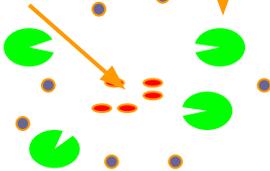
Triosephosphate Isomerase
 Saccharomyces Cerevisiae
 (baker's yeast)

Идентификация белков и пептидов

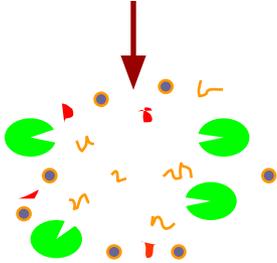


Расщепление в геле

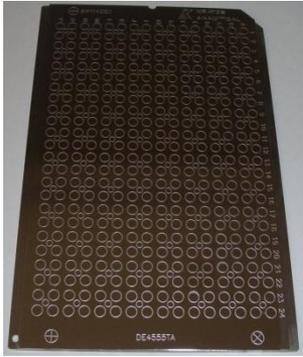
белок трипсин



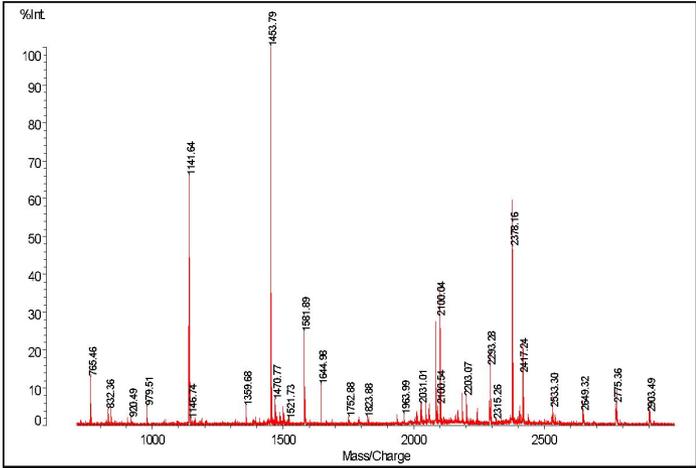
пептиды



приготовление образца



PMF



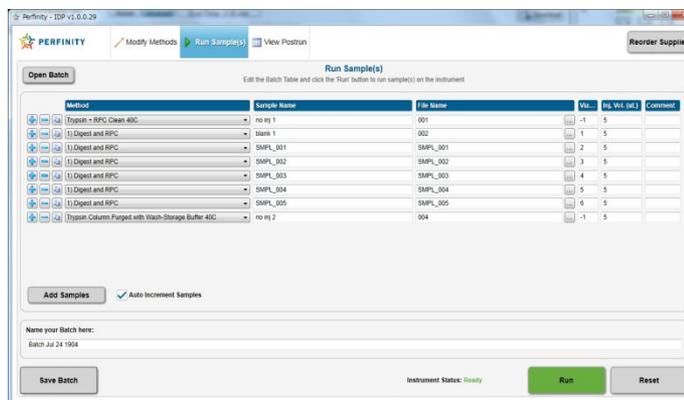
Идентификация пептидов: «пептидный фингерпринт» (PFM)

Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Sequence
48 - 60	1470.77	1469.76	1469.73	0.04	0	TRMVMVFGEITTK
48 - 60	1486.74	1485.73	1485.72	0.01	0	TRMVMVFGEITTK Oxidation (M)
75 - 91	1752.88	1751.87	1751.84	0.03	1	AIGFVSDDVGLDADKCK
92 - 113	2417.24	2416.23	2416.25	-0.02	0	VLVNIEQQSPDIAQGVHGHFTK
157 - 169	1502.74	1501.73	1501.75	-0.01	1	KNGTCAWLRPDGK Carbamidomethyl (C)
170 - 180	1359.68	1358.67	1358.64	0.04	0	TQVTVEYYNDK
170 - 187	2084.05	2083.04	2083.04	0.00	1	TQVTVEYYNDKGAMVPIR
170 - 187	2100.04	2099.03	2099.04	-0.00	1	TQVTVEYYNDKGAMVPIR Oxidation (M)
188 - 208	2378.16	2377.15	2377.19	-0.03	0	VHTVLISTQHDETVINDEIAR
209 - 222	1644.98	1643.97	1643.96	0.01	1	DLKEHVIKPVIPEK
212 - 227	1937.08	1936.07	1936.07	0.01	1	EHVIKPVPEKYLDEK
223 - 237	1789.95	1788.94	1788.92	0.03	1	YLDEKTIFHLNPSGR
228 - 237	1141.64	1140.63	1140.60	0.03	0	TIFHLNPSGR
238 - 252	1453.79	1452.78	1452.75	0.04	0	FVIGGPHGDAGLTGR
238 - 253	1581.89	1580.88	1580.84	0.04	1	FVIGGPHGDAGLTGRK
254 - 273	1963.99	1962.98	1962.96	0.02	0	IIIDTYGGWGANGGGAFSGK
254 - 277	2405.18	2404.17	2404.18	-0.01	1	IIIDTYGGWGANGGGAFSGKDPTK
281 - 287	765.46	764.45	764.42	0.03	0	SGAYIVR
292 - 300	920.49	919.48	919.45	0.03	0	SVVANGMAR Oxidation (M)
339 - 355	2013.99	2012.98	2012.97	0.01	0	ESFDFRPGMNTINLDLK
339 - 355	2030.01	2029.00	2028.96	0.04	0	ESFDFRPGMNTINLDLK Oxidation (M)
339 - 355	2045.98	2044.97	2044.96	0.01	0	ESFDFRPGMNTINLDLK 2 Oxidation (M)
339 - 356	2170.09	2169.08	2169.07	0.01	1	ESFDFRPGMNTINLDLKR
339 - 356	2186.09	2185.08	2185.07	0.02	1	ESFDFRPGMNTINLDLKR Oxidation (M)
339 - 356	2202.07	2201.06	2201.06	0.00	1	ESFDFRPGMNTINLDLKR 2 Oxidation (M)
365 - 373	979.51	978.50	978.47	0.04	0	TAAYGHFGR
365 - 387	2649.32	2648.31	2648.30	0.01	1	TAAYGHFGRDDPDFTWEVVKPLK

1. [gi|81647](https://gi.org/81647) Mass: 43117 Score: 262 Expect: 3.2e-22 Queries matched: 27
 methionine adenosyltransferase (EC 2.5.1.6) - Arabidopsis thaliana

«Perfinity iDP» – автоматизированная подготовка белковых образцов для анализа

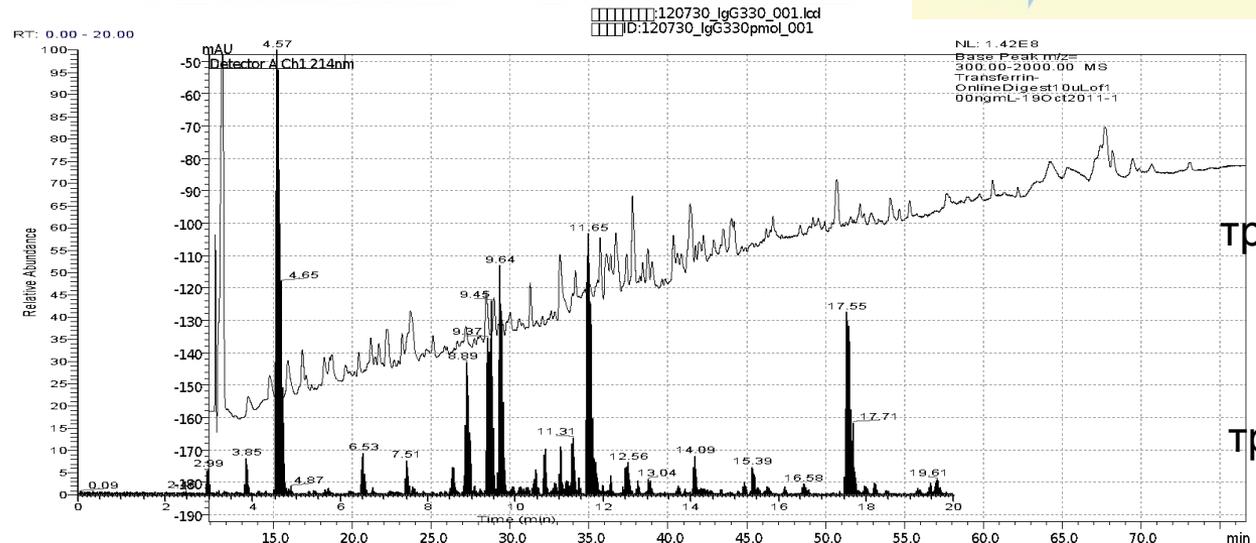
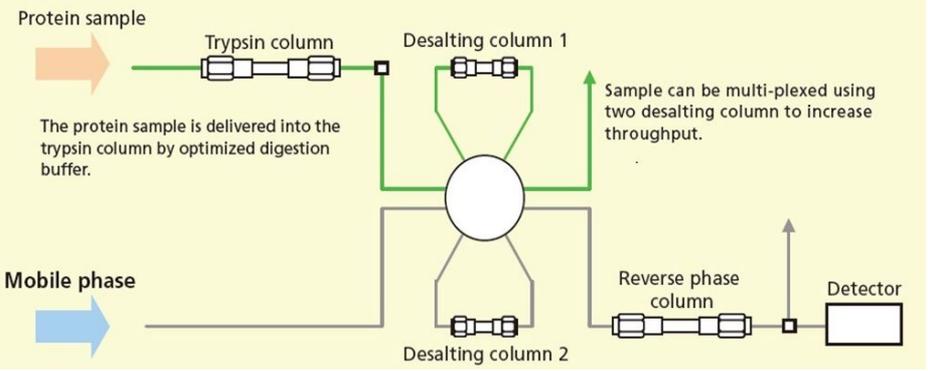
- Обычно подготовка проб для протеомного анализа требует 18-часового гидролиза трипсином
- Perfinity iDP снижает время пробоподготовки до 30 мин!
- Система обеспечивает автоматическую замену буфера, ферментное разложение, обессоливание и ОФ разделение
- Уменьшение вспомогательного оборудования, минимизация ошибки, увеличение продуктивности лаборатории
- Применение: очистка белков, разработка лекарственных препаратов, исследование биомаркеров



Колонка с
иммобилизованным
трипсином

«Perfinity iDP» – автоматизированная подготовка белковых образцов для анализа

Patient Sera/Plasma diluted 1:50

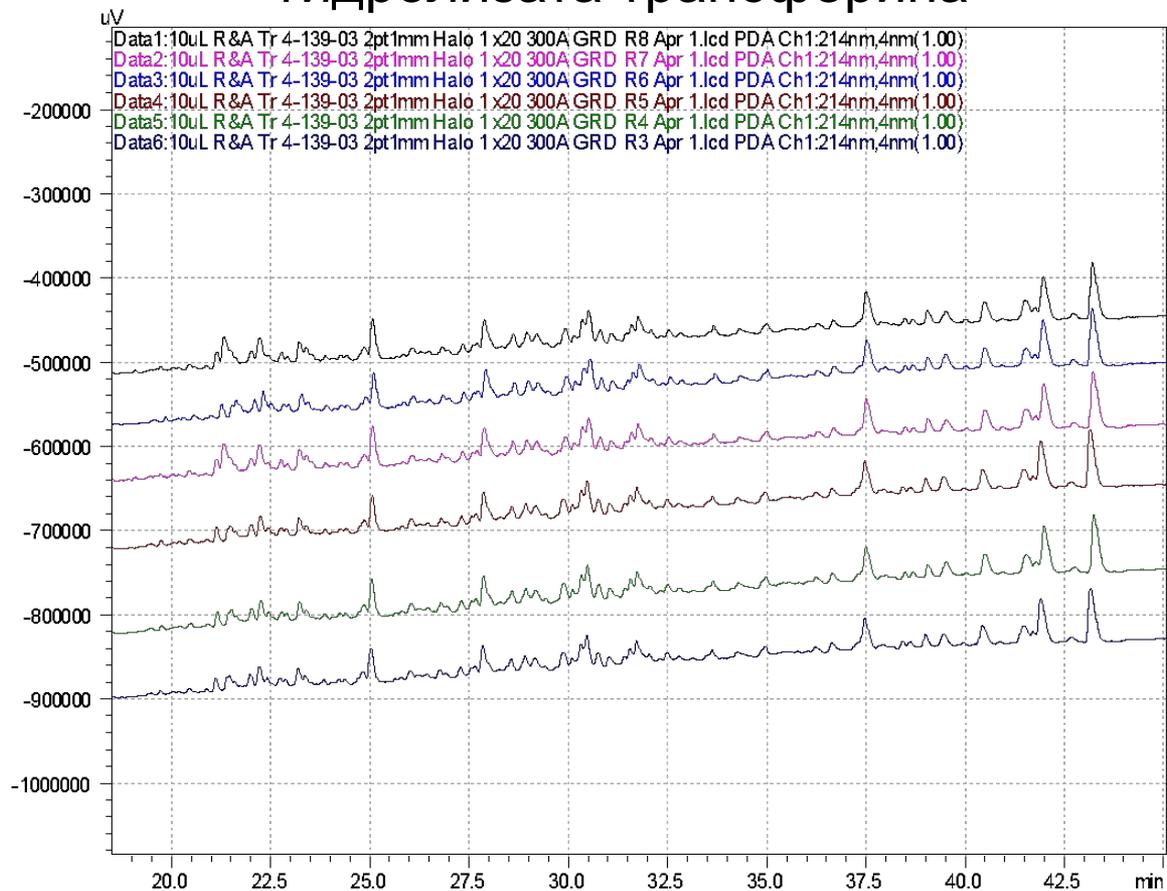


МС-хроматограмма
трипсинового гидролизата
трансферина

УФ-хроматограмма
трипсинового гидролизата
IgG

«Perfinity iDP» – автоматизированная подготовка белковых образцов для анализа

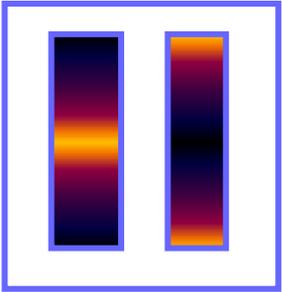
Результаты 6 последовательных анализов трипсинового гидролизата трансферина



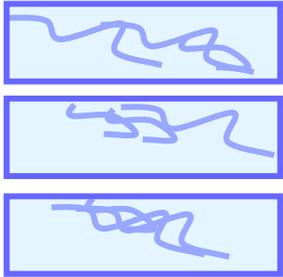
Полная автоматизация процесса пробоподготовки обеспечивает получение надежных и воспроизводимых результатов

Совмещение MALDI-МС и ВЭЖХ

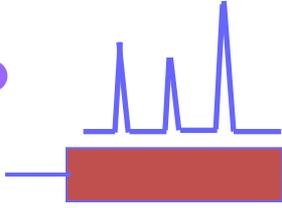
1D гель-электрофорез



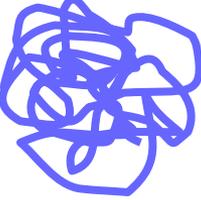
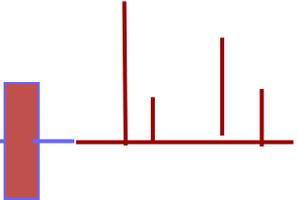
Гидролиз в геле



ОФ хроматография

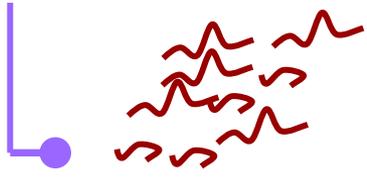


MS анализ



Смесь белков

Поиск по базам данных
Идентификация белка



Гидролиз в растворе

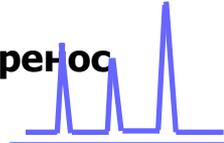
Обессоливание и перенос



SCX хроматография

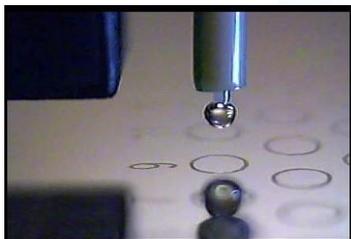


ОФ хроматография

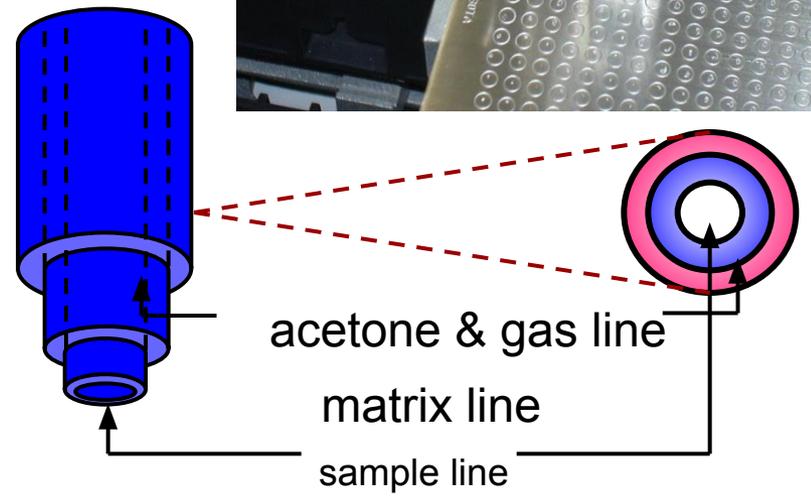
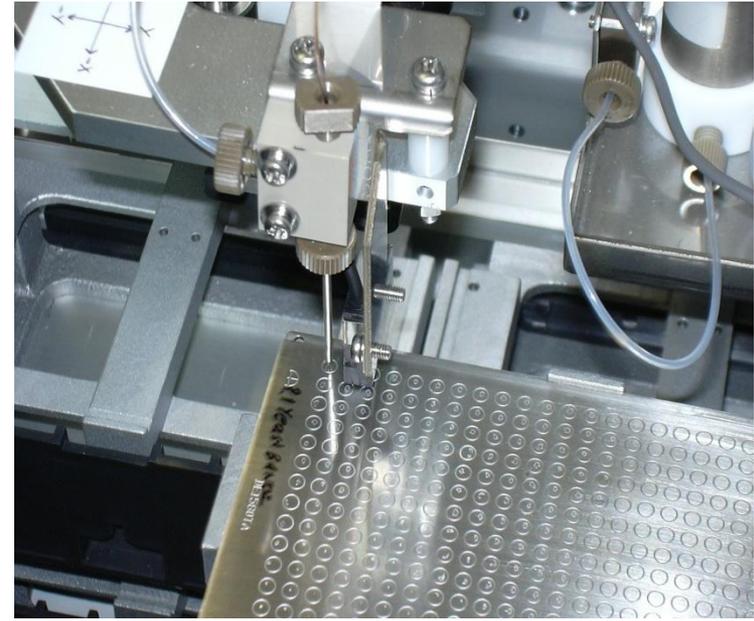
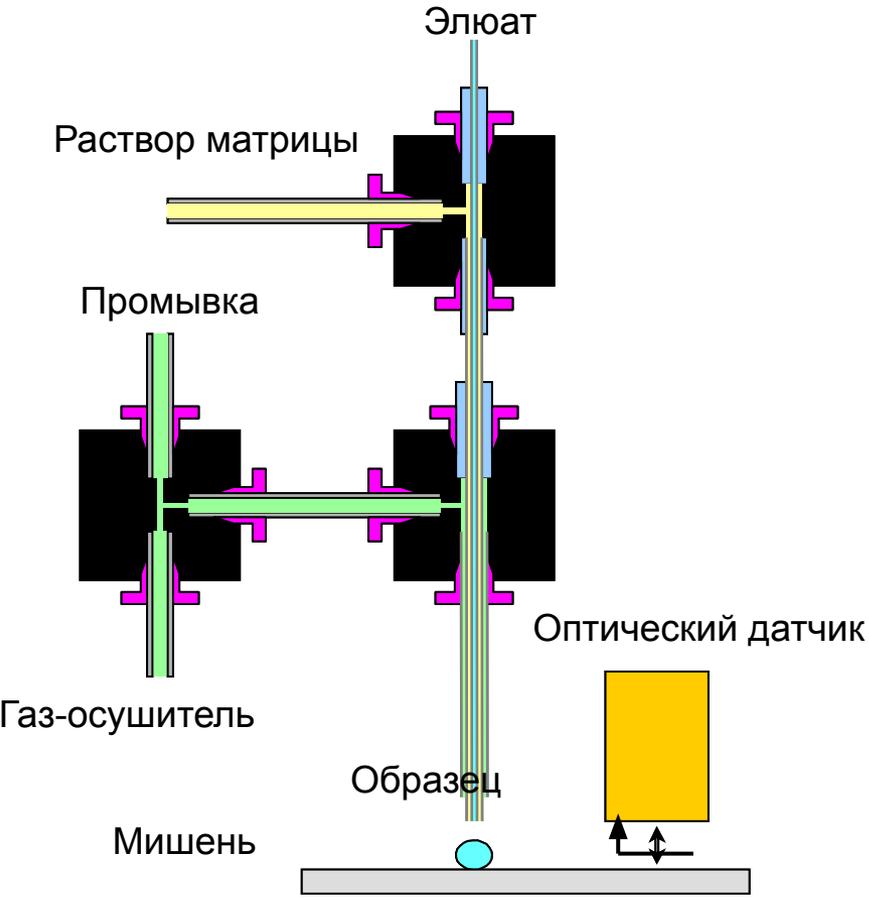


MS анализ

АссиSpot – нано-споттер для MALDI-МС



AccuSpot – нано-споттер для MALDI-МС

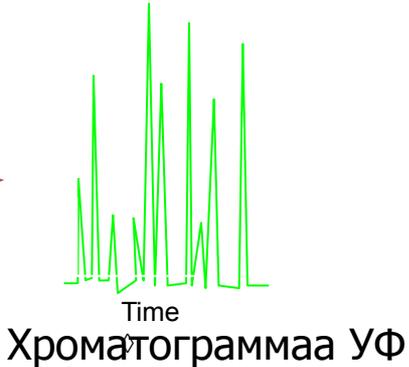


ВЭЖХ-MALDI

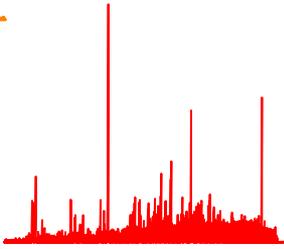
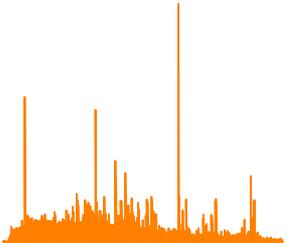
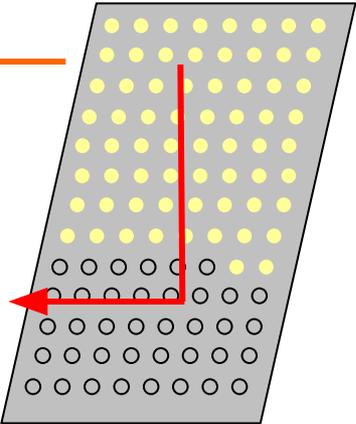
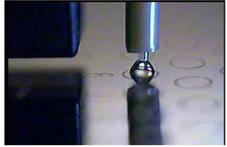
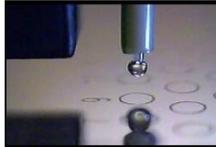
Образец: ферментный гидролизат или смесь нативных белков



ВЭЖХ разделение 1D или 2D

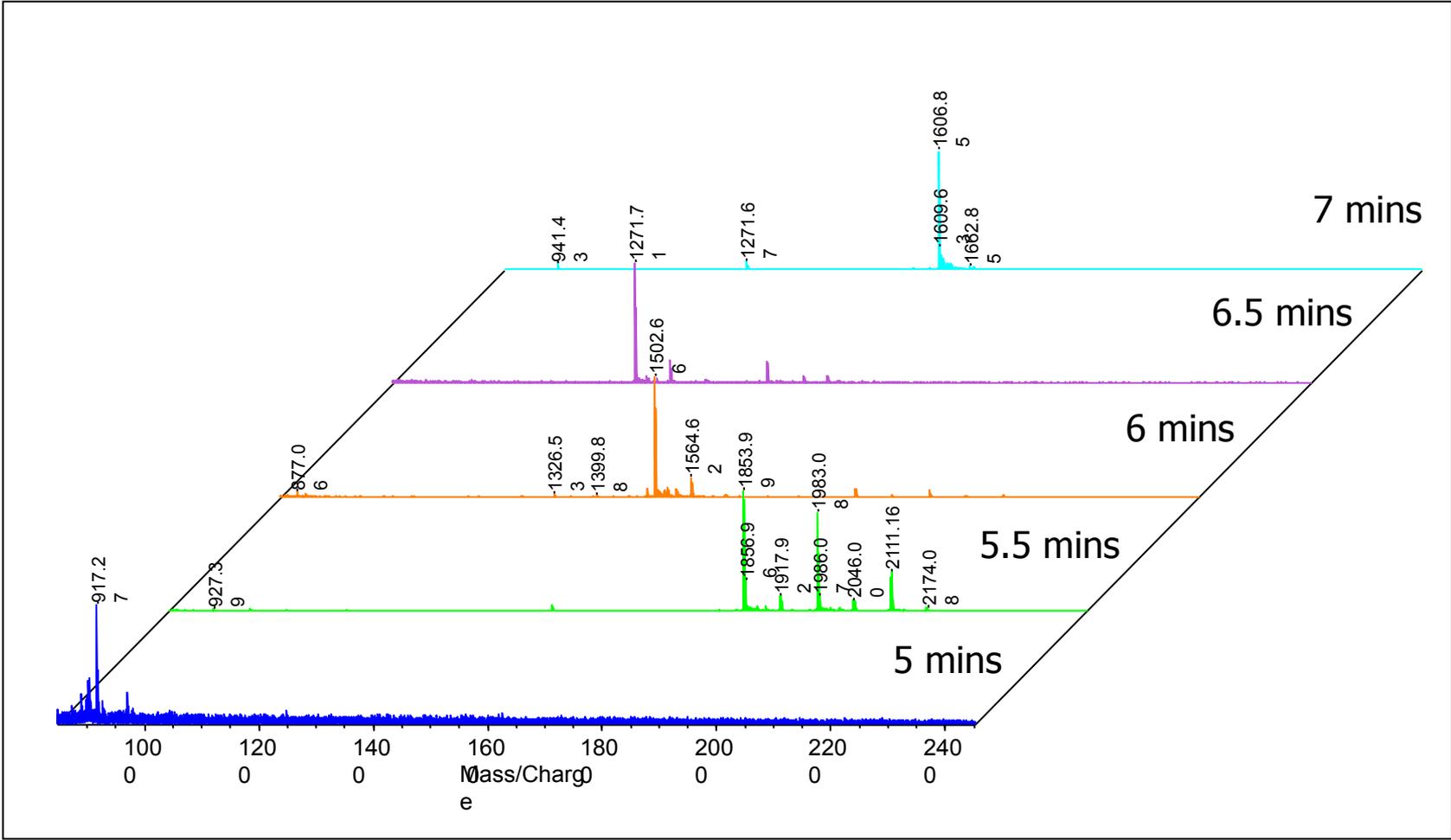


Автоматическое совместное нанесение элюента и матрицы на мишень
AccuSpot



MALDI-MS

ВЭЖХ-MALDI 50 фМ гидролизата миоглобина



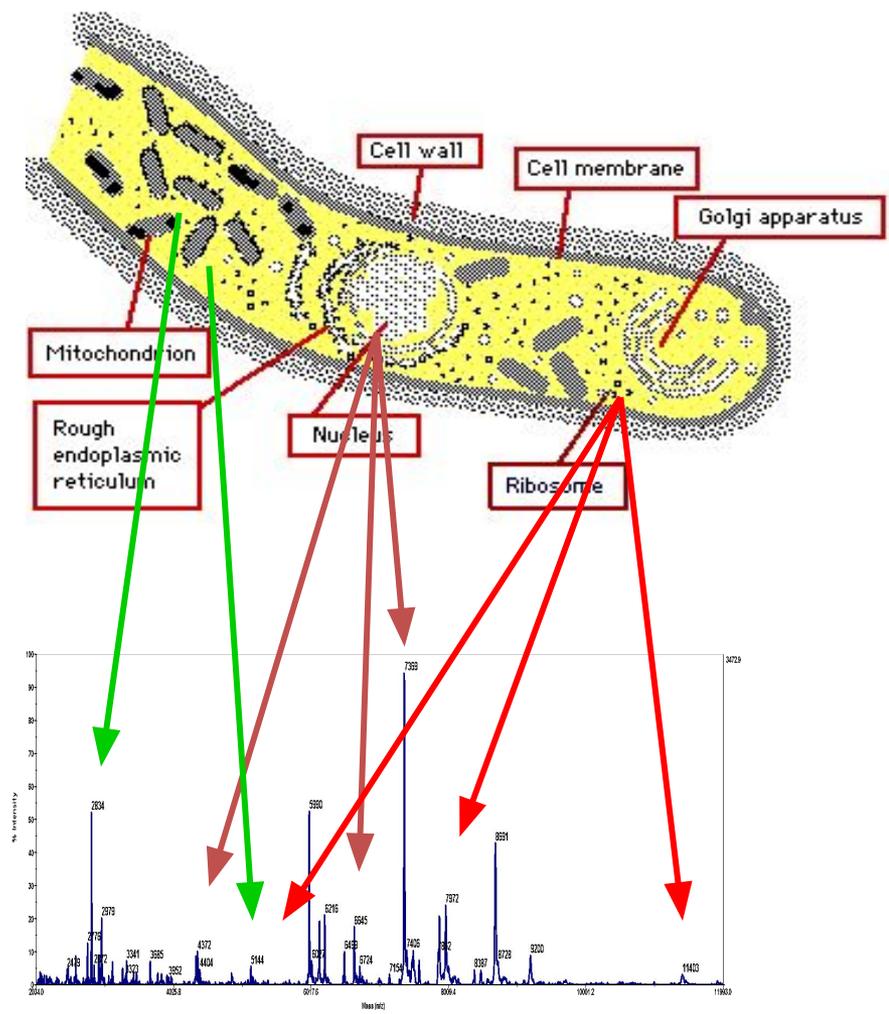
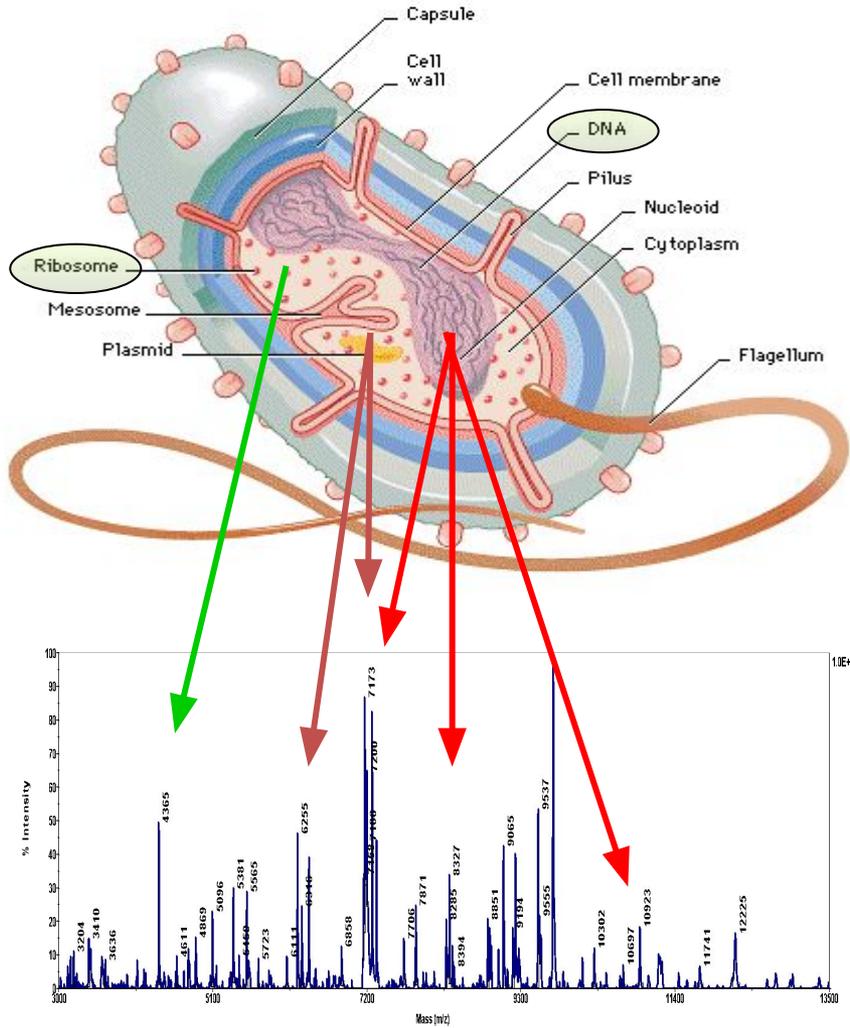
Новое интенсивно развивающееся направление: идентификация микроорганизмов методом масс- спектрометрии MALDI

□ Идентификация микроорганизмов:

- ✓ Быстрый и надежный скрининг широкого спектра микроорганизмов
- ✓ Идентификация грам-положительных и грам-отрицательных бактерий, водорослей, грибов и дрожжей
- ✓ Надежная идентификация возможна благодаря тому, что MALDI является таксономически-специфичным
- ✓ Для идентификации используются масс-спектры из базы данных SARAMIS
- ✓ SARAMIS: **S**pectral **AR**chive **A**nd **M**icrobial **I**dentification **S**ystem



Принцип идентификации: рибосомальные белки



Масс-спектры нативных бактериальных клеток: масс-спектрометрические «отпечатки пальцев»

Pantoea agglomerans

Acinetobacter Iwoffii

Burkholderia cepacia

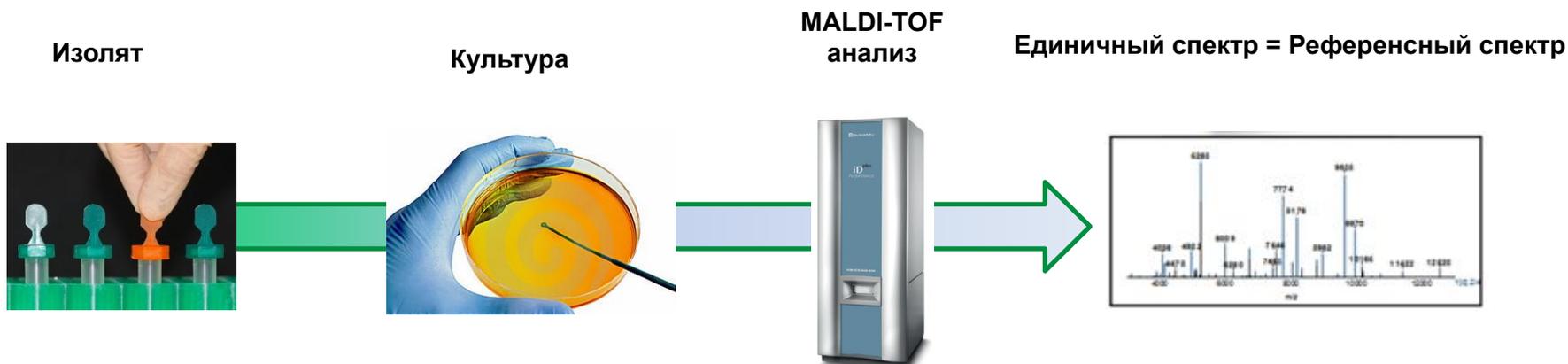
Raoultella ornithinolytica

Staphylococcus aureus

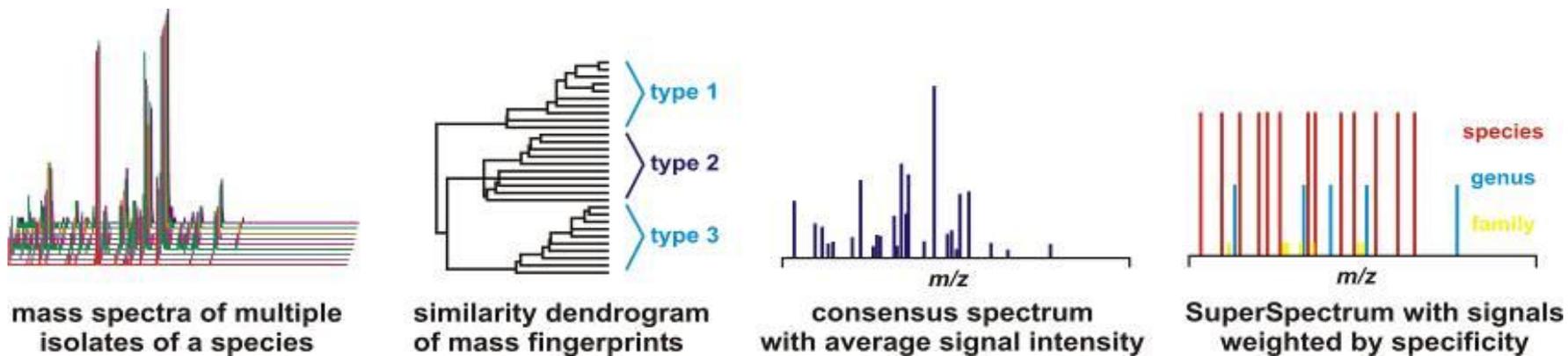
Escherichia coli

SARAMIS

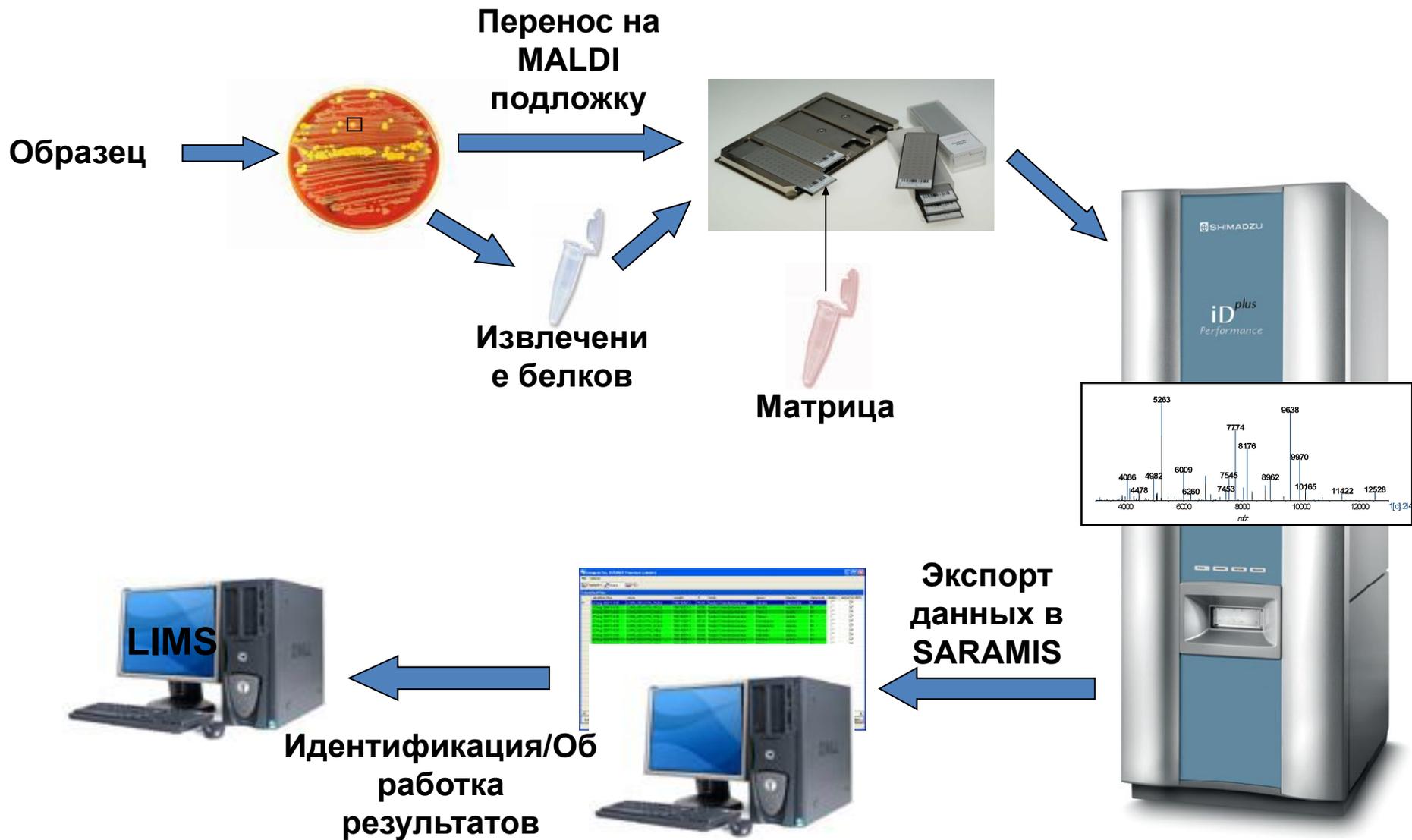
□ Референсные масс-спектры



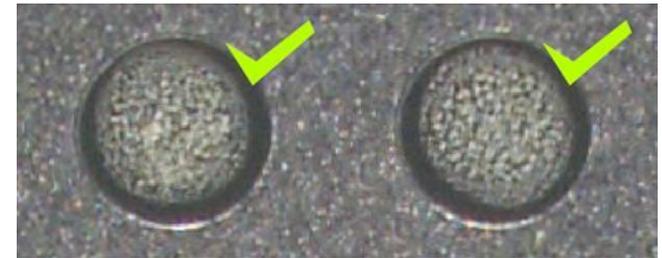
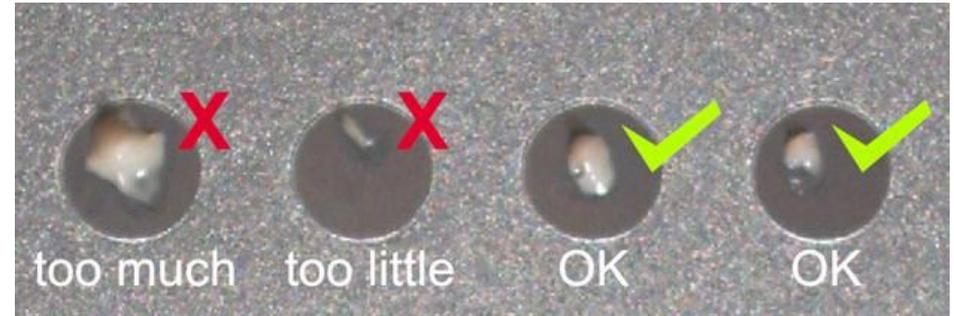
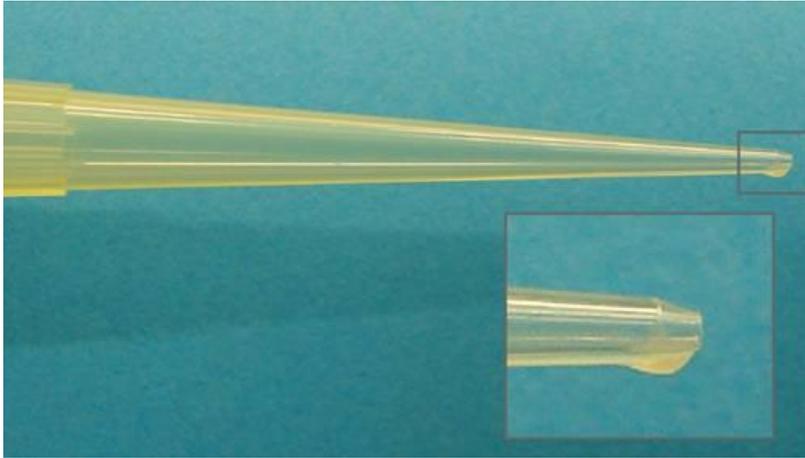
□ СуперСпектры



Система AXIMA iD^{plus} для идентификации



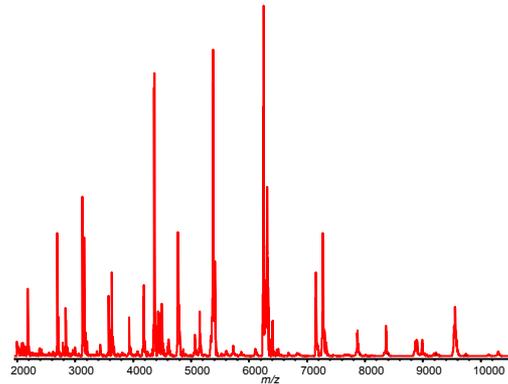
iDPlus: подготовка образца к анализу



Приготовление образцов бактерий, дрожжей, водорослей и грибов прямым методом «мазка». Никакая дополнительная пробоподготовка не требуется (даже для дрожжей).

iDPlus: идентификация с помощью MALDI и SARAMIS

Получение масс-спектра



Экспорт в SARAMIS (ASCII)



Результаты

Дата/вре
мя
Имя образца
Имя файла
Семейство
Уровень совпадения
Род
Вид
К-во масс-пиков

Identified Files													
acquisition time	name	sample	%	family	genus	species	typ	datacount	delete	export to LIMS	compare	compare result	import
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1G1[c]	03116258-1	99.90	Family I Enterobacteriaceae	Providencia	rettgeri		196	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1F4[c]	31106236-1_02	99.90	Family I Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	maltephila		181	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1F3[c]	31106236-1	99.90	Family I Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	maltephila		166	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1F2[c]	31106225-1_02	99.90	Family I Enterobacteriaceae	Escherichia	coli		198	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1F1[c]	31106225-1	99.90	Family I Enterobacteriaceae	Escherichia	coli		195	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1E4[c]	17056488-1_02	99.90	Family I Enterobacteriaceae	Escherichia	coli		167	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1E3[c]	17056488-1	94.80	Family I Enterobacteriaceae	Escherichia	coli		117	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1E2[c]	18053559-1_02	95.20	Family VI Streptococcaceae	Streptococcus	bovis/alactol		93	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1E1[c]	18053559-1	95.20	Family VI Streptococcaceae	Streptococcus	bovis/alactol		72	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
19 Nov 2008 14:38	ANAS_001_0621_1D4[c]	18052218-1_02	99.90	Family VIII Staphylococcaceae	Staphylococcus	aureus		134	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

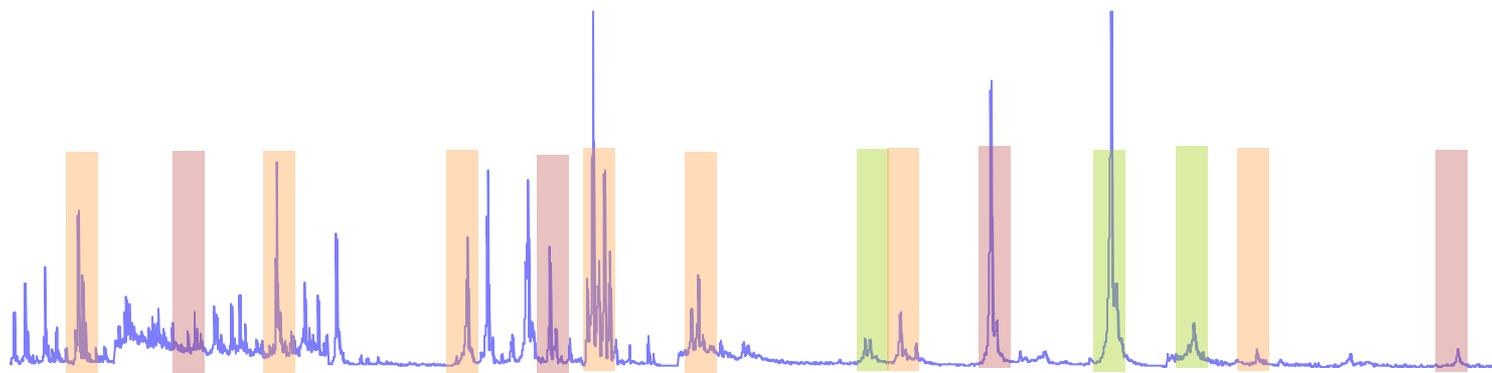
Поиск в библиотеке SARAMIS

Сравнение полученных спектров с эталонными спектрами (в библиотеке ~ 400 родов, 1400 видов)

семейств
о

род

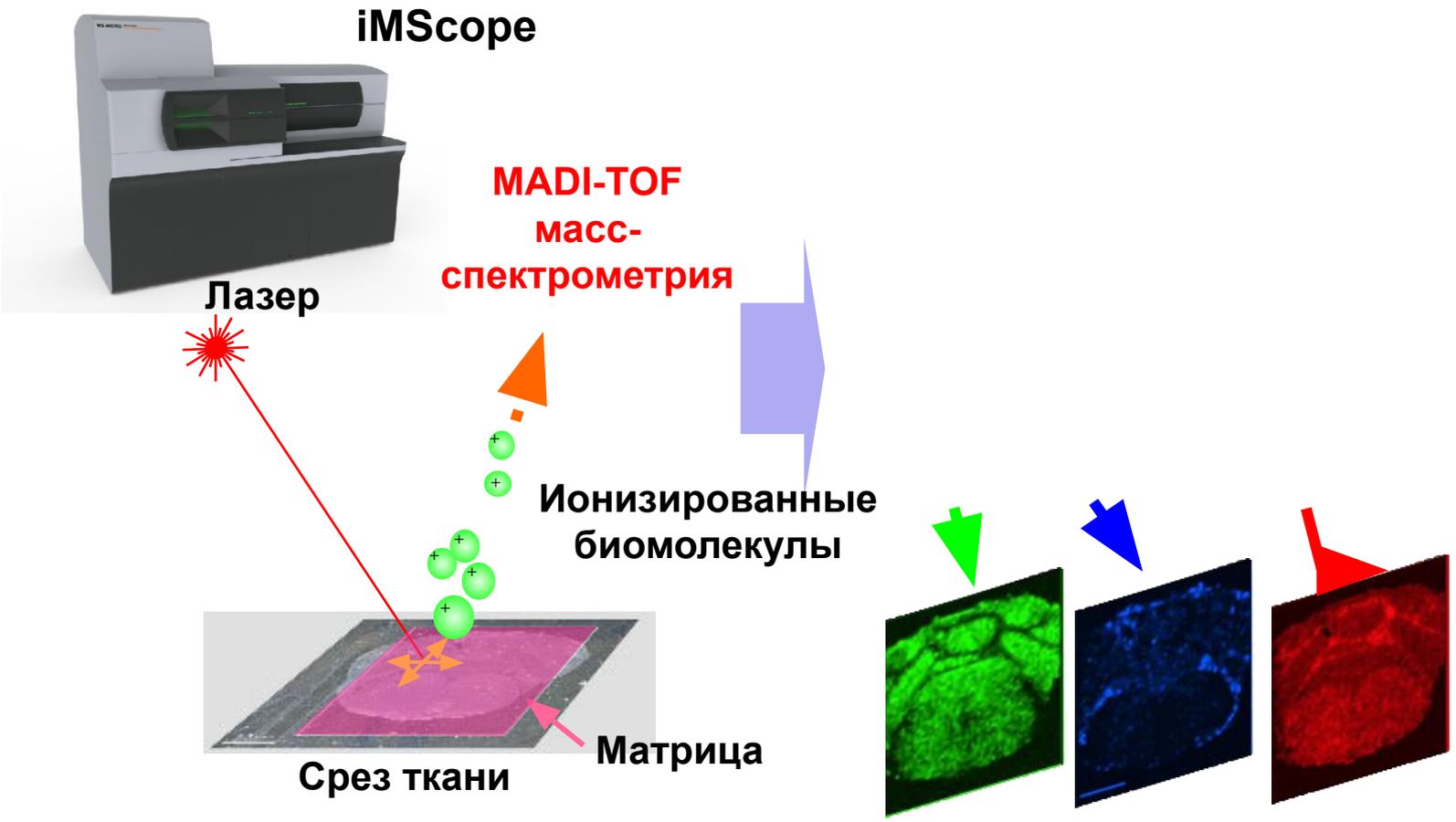
вид



Библиотека позволяет проводить последовательную идентификацию, основываясь на пиках характерных для семейства, рода и, наконец, вида

Технология молекулярной визуализации методом масс-спектрометрии MALDI

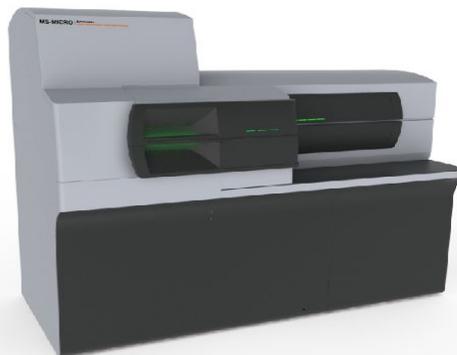
MALDI Imaging Mass Spectrometry позволяет визуализировать пространственное распределение молекул в биологических образцах, например, в гистологических срезах тканей



Визуализирующая масс-спектрометрия – мощная технология для молекулярной визуализации

- Визуализация распределения биомолекул в различных гистологических образцах
 - ✓ Свежевыделенные, замороженные, зафиксированные в формалине и залитые парафином (FFPE), клеточные культуры
- Идентификация широкого спектра высоко- и низкомолекулярных соединений
 - ✓ Липиды (фосфолипиды: PC, PE, SM, SE и др.), белки/пептиды, низкомолекулярные метаболиты (АТФ/АДФ/АМФ и др), лекарства и их метаболиты и т.д.
 - ✓ Высокоточная идентификация за счет MS/MS анализа
- Одновременная визуализация многих молекул
 - ✓ Нет необходимости в предварительном выборе соединения
 - ✓ Непрерывный анализ: скрининг и идентификация
- Детектирование без меток или мишеней
 - ✓ Не нужны изотопные или флуоресцентные метки (соответственно сигнал не «размывается» в пространстве)
 - ✓ Нет необходимости использовать антитела

Приборы для молекулярной визуализации



Инструмент	iMScore TRIO	MALDI-7090
Назначение	Молекулярная визуализация	Мол. визуализация и другие применения
Оптический микроскоп	Встроен	Нет
Ионизация	MALDI при атм. давлении	MALDI в вакууме
Разрешение пространств.	5 мкм	10 мкм
Частота лазера	~ 1000 Гц	~ 2000 Гц
<i>Диапазон масс, m/z</i>	50 ~ 3,000	~ 500,000
МС ⁿ	≤ 10	≤ 2

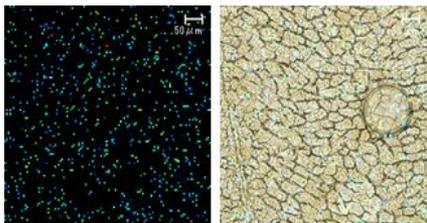
Концепция iMScore TRIO

Прямая идентификация молекул в тканях с помощью масс-спектрометрии после получения оптического изображения исследуемой ткани

Список пожеланий
(Hamamatsu Univ. and Keio Univ.)

1. Сравнение с микроскопом
2. Анализ биологических образцов
3. Высокое пространственное разрешение
4. Скоростной анализ
5. Возможность идентификации
6. Простота
7. Воспроизводимость

MS изображение Оптическое изображение



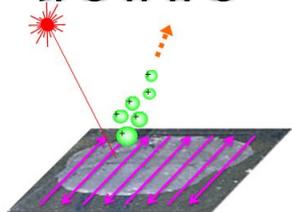
Распределение квертицина

Оптическое изображение

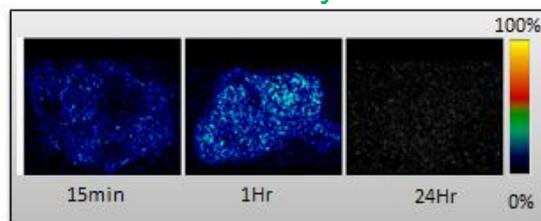


Fusion

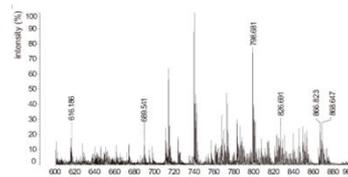
Молекулярное распределение



Как распределены молекулы ?



Идентификация молекул



Масс-спектр

Imaging Mass Spectrometry



Optical Microscope

Система молекулярной визуализации «iMScore TRIO»

014
А В
Г У
С 57



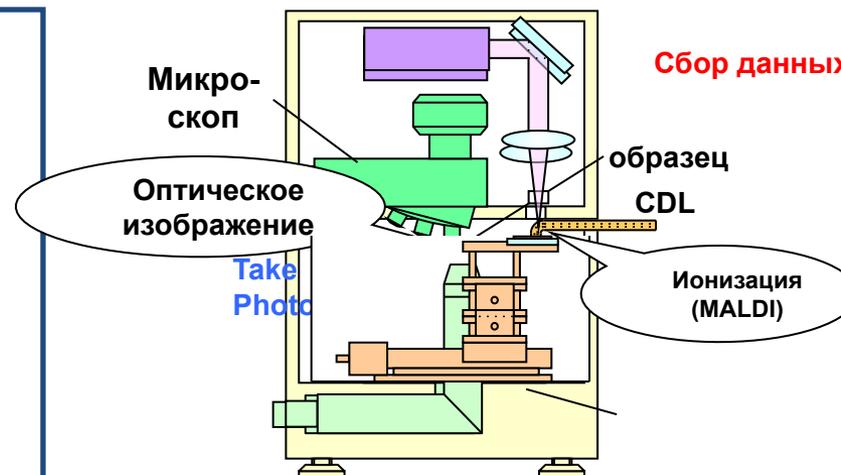
Блок МАЛДИ
микроскопа



Блок масс-спектрометра
(LCMS-IT-TOF)

Особенности

- ✓ МАЛДИ при атмосферном давлении
- ✓ Встроенная оптическая и масс- визуализация
- ✓ Высочайшее пространственное разрешение
- ✓ Структурный анализ в режиме MSⁿ
- ✓ Высокоскоростная обработка данных



iMLayer: Система осаждения матрицы из паровой фазы

Обеспечивает оптически прозрачный слой матрицы



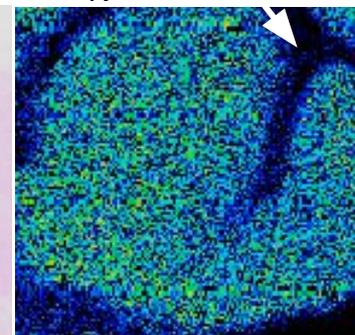
Характеристики:

- Мелкозернистая структура слоя матрицы
- Контроль толщины слоя матрицы улучшает воспроизводимость результатов
- Автоматизированная пробоподготовка

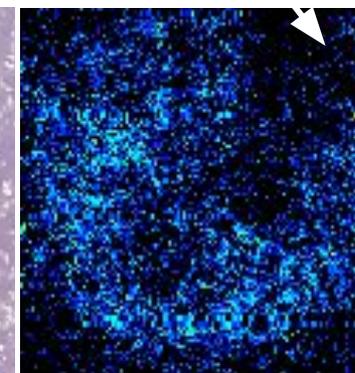
Оптическое изображение

m/z 772.52
PC (16.0/16.0) +
K

Вакуумное осаждение



Распыление

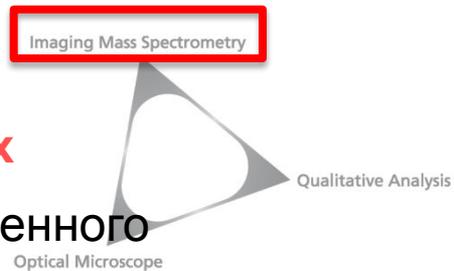


Осаждение из паровой фазы дает более четкие изображения, чем при распылении, и позволяет визуализировать пограничные области на срезах тканей. (См. место, отмеченное стрелками).

Интегрированная система молекулярной визуализации (программное обеспечение)

Специализированное программное обеспечение для iMScore «Imaging MS Solution» для сбора и анализа данных

Быстрый поиск целевых соединений и построение пространственного распределения



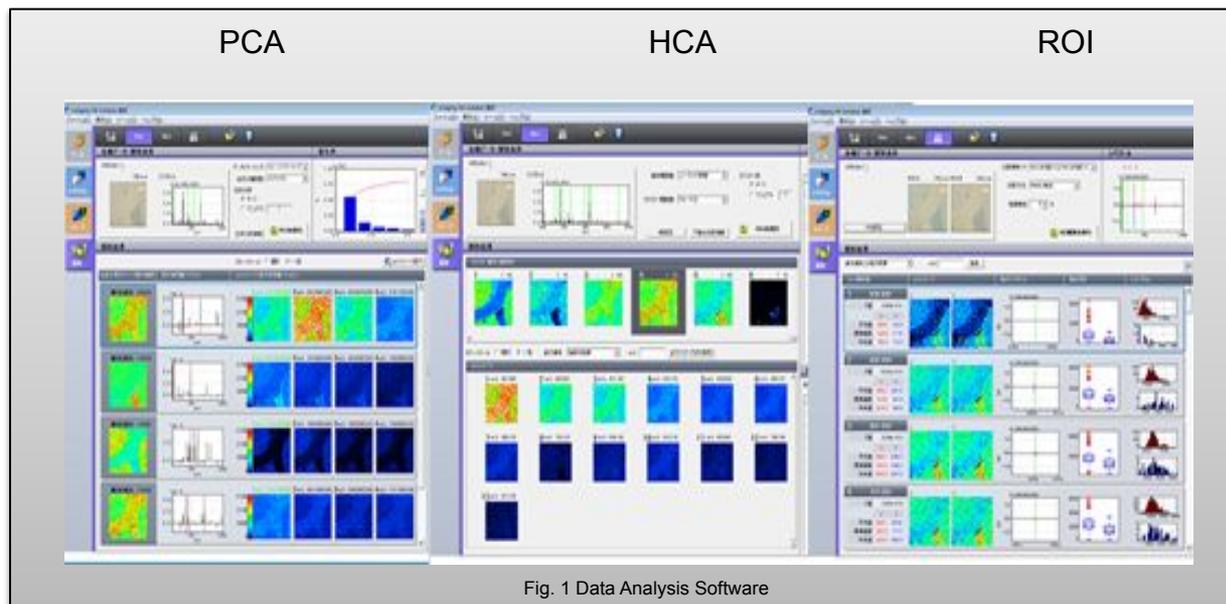
Регистрация пиков

Стат. анализ

Кластерный анализ (HCA)
Анализ основных компонентов (PCA)
Анализ интересующих зон (ROI)

**Построение
масс-спектра**

**Интуитивно понятное
программное обеспечение**



Автоматический анализ сокращает время поиска целевых компонентов

Инструменты статистического анализа

iMScope TRIO

Интегрированное оптическое изображение «Imaging MS Solution»

Обеспечивает расширенные возможности анализа изображений

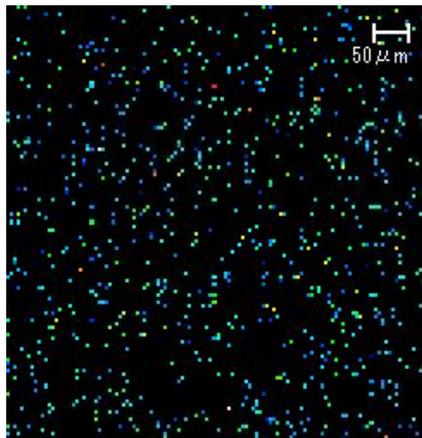
Imaging Mass Spectrometry

Qualitative Analysis

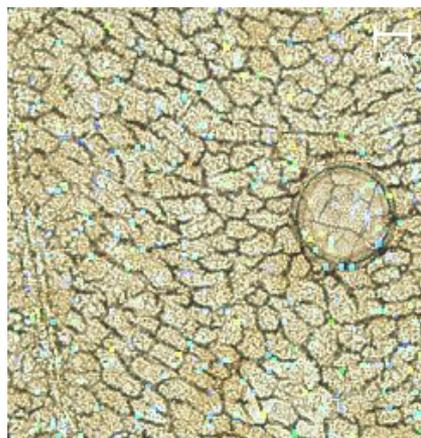
Optical Microscope

Функция совмещения оптического и MS- изображений

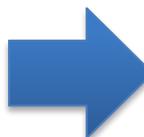
Совмещение оптического и MS- изображений
распределения кверцетина в печени мыши



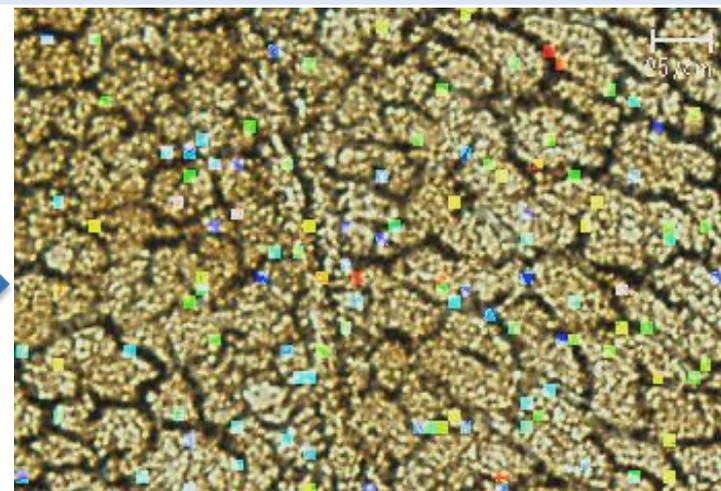
m/z 269,2→224,97
MS/MS изображение
(5 x 5 мкм)



Наложение m/z 269,2→224,97
MS/MS изображения
(50 x 50 мкм)



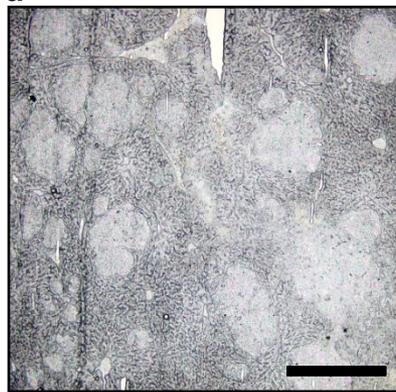
Молекулы лекарственного средства
были идентифицированы в
непосредственно в тканях



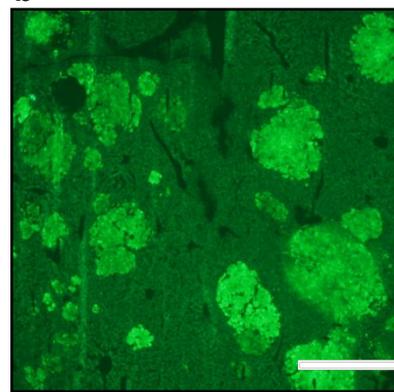
Увеличенное совмещенное изображение
 m/z 269.2→224.97 MS/MS изображение
(25 x 25 мкм)

Возможности визуализации с использованием флуоресцентной микроскопии

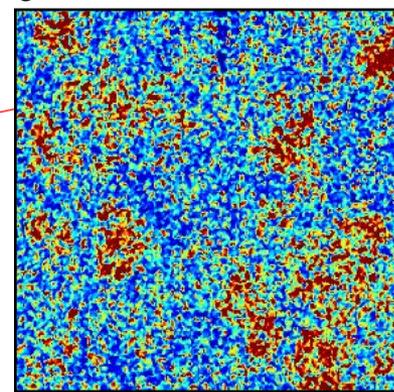
МС визуализация рака толстой кишки человека, пересаженного в печень мыши



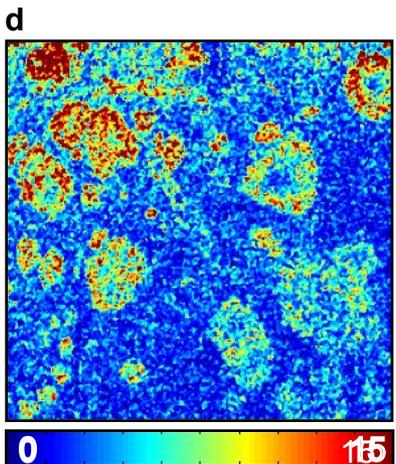
Изображение светового микроскопа



Изображение флуоресцентного микроскопа
Зеленое: Опухоль

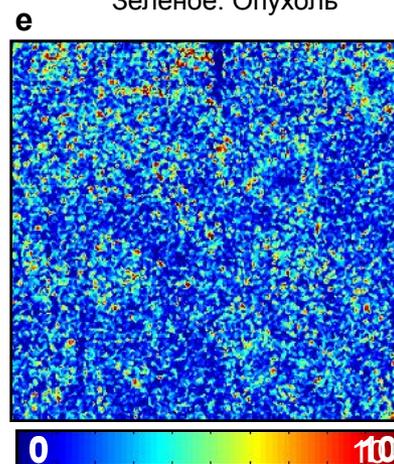


[UDP-HexNAc]_{app} μmol/ g tissue
с: UDP-GlcNAc накапливается в
f опухолевой ткани.



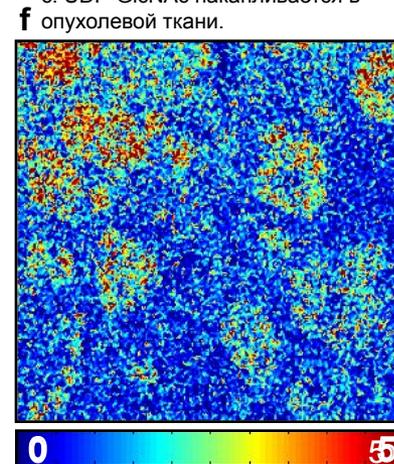
[GSH]_{app} μmol/ g tissue

d: Пониженное содержание глутатиона
Больше в области толстой кишки и меньше внутри опухоли.



[GSSG]_{app} μmol/ g tissue

e: Окисленный глутатион



[GSH]_{app}/[GSSG]_{app}

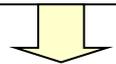
f: Мольное соотношение окисленной и восстановленной форм глутатиона. Отношение восстановленной формы глутатиона выше в опухолевой ткани.

Раковые ткани с флуоресцентными метками можно визуализировать с помощью **флуоресцентного микроскопа**.

а, б: Изображения со встроенного оптического микроскопа
Клеточные линии пересаженного рака толстой кишки имеют зеленую флуоресценцию.

Принцип:

Предыдущий метод:
Иммуноокрашивание не позволяет отличить восстановленную и окисленную форму глутатиона.



iMScope:
Распределение восстановленной и окисленной форм глутатиона можно визуализировать.

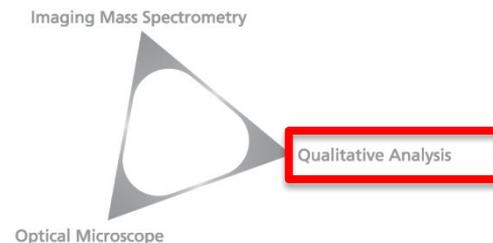
Пригоден для исследований рака (в том числе патологических) или при разработке и оценке противоопухолевых препаратов

iMScore TRIO

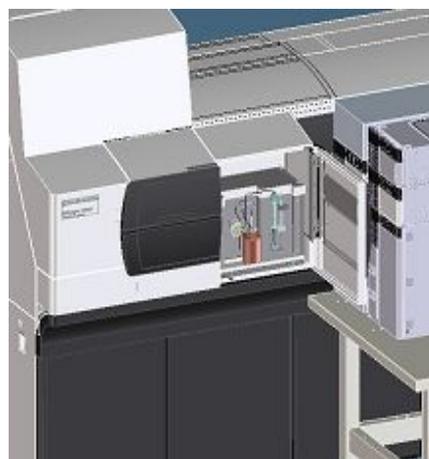
Качественный и количественный анализ

Новая функция iMScore TRIO:

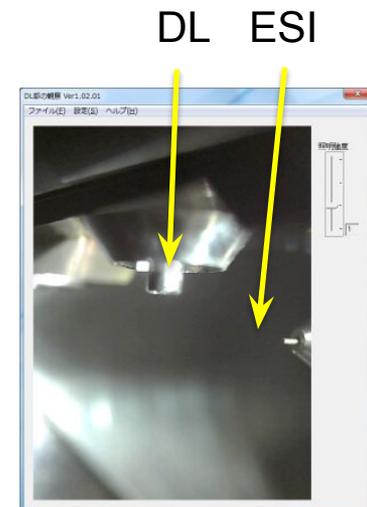
Возможность ионизации электроспреем (ESI) в режиме работы ВЭЖХ-МС



Подключение блока ESI



Working: Door close



Visualizing ESI condition on PC

■ Переключение между режимами ESI и MALDI

□ Увеличение чувствительности и точности структурного анализа за счет MC^n ($n \leq 10$) и предварительной сепарации при помощи ВЭЖХ

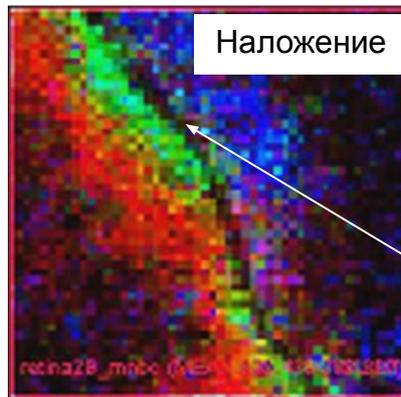
Приложение (Высокое пространственное разрешение) Моделирование пространственного разрешения, позволяющего визуализировать пигментный слой сетчатки

Для визуализации пигментного слоя сетчатки требуется пространственное разрешение в 10 мкм или лучше.



Эпителий пигментного слоя сетчатки (макс. ширина 10 мкм)

ОМ фотография сетчатки

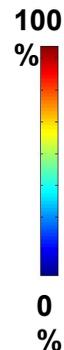
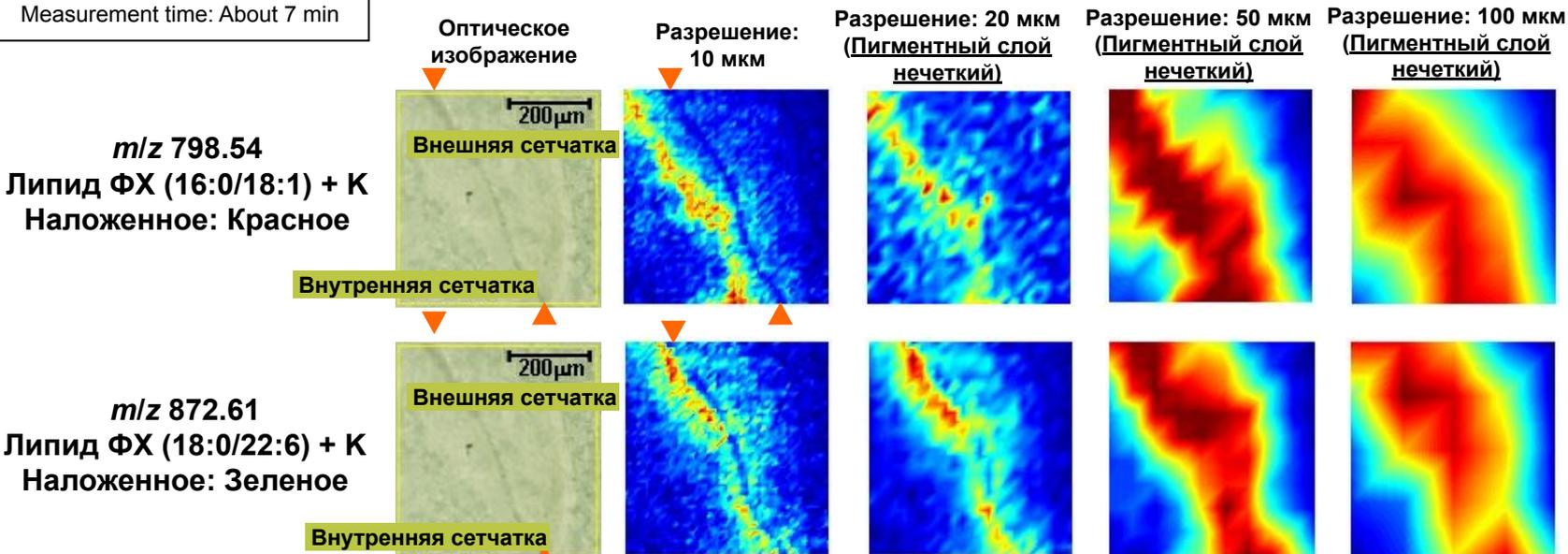


Используется для наблюдения за распределением лекарственных средств в микрообласти или локализованных скоплений метаболитов.

Принцип:
 В дополнение к трехслойному распределению ФХ отображается тонкий черный слой эпителия.

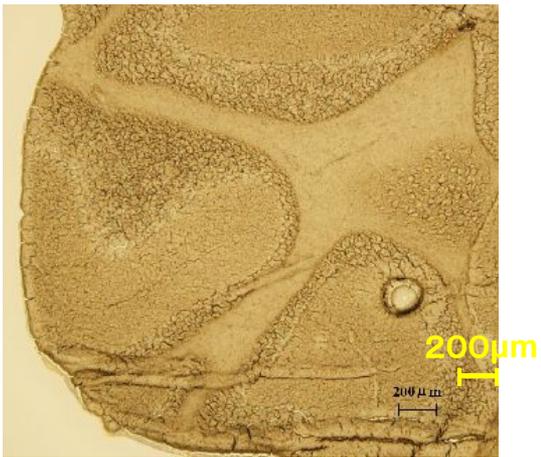
Черный: Эпителий пигментного слоя сетчатки
 Синий: ФХ (16:0/22:6)
 Зеленый: ФХ (18:0/22:6)
 Красный: ФХ (16:0/18:1)

Pixels: 50 × 50
 Spatial resolution: 10 μm
 Measurement time: About 7 min



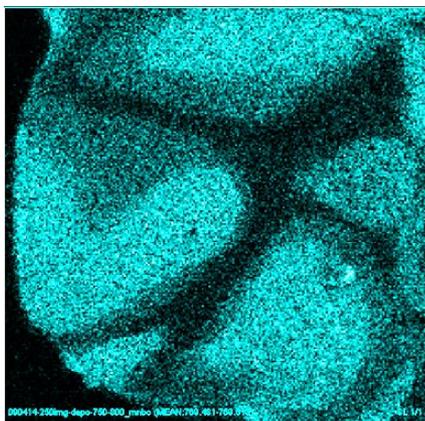
ФХ: фосфатидилхолин

Визуализация MALDI: анализ распределения фосфолипидов в сетчатке

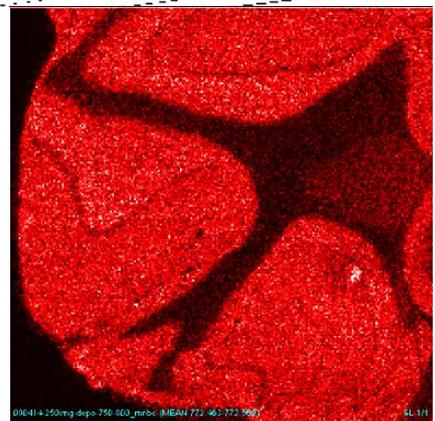


Оптическое изображение

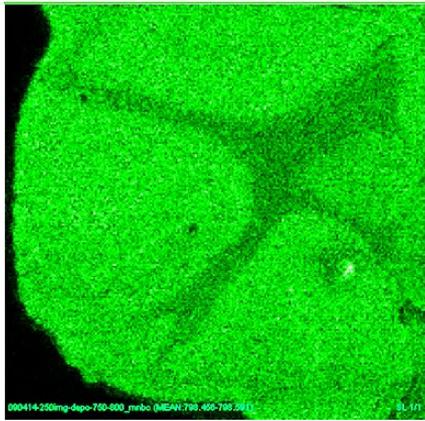
Образец: срез ткани мозга
Матрица: DHB (Sublimation)
Размер пикселя: 10 мкм
Размер: 250×250



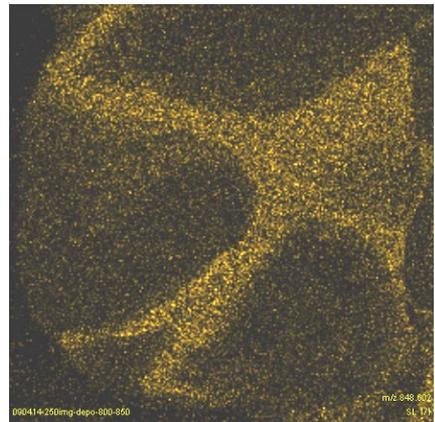
m/z 769.5
Сфингомиелин



m/z 772.5
Фосфатидилхолин



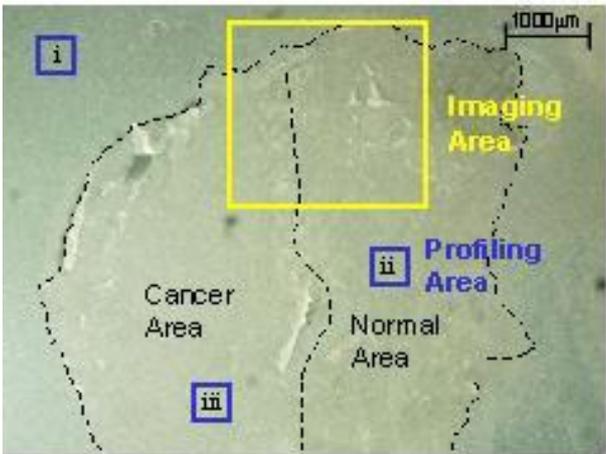
m/z 798.5
Фосфатидилхолин



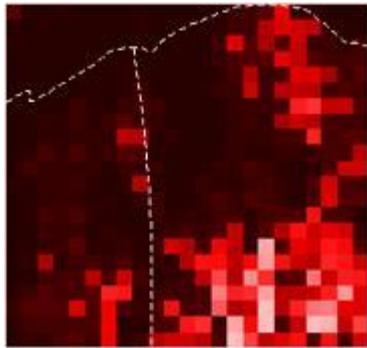
m/z 848.6
Галактозилцерамид

Визуализация MALDI: : применение в клинических исследованиях

Образец: срез ткани



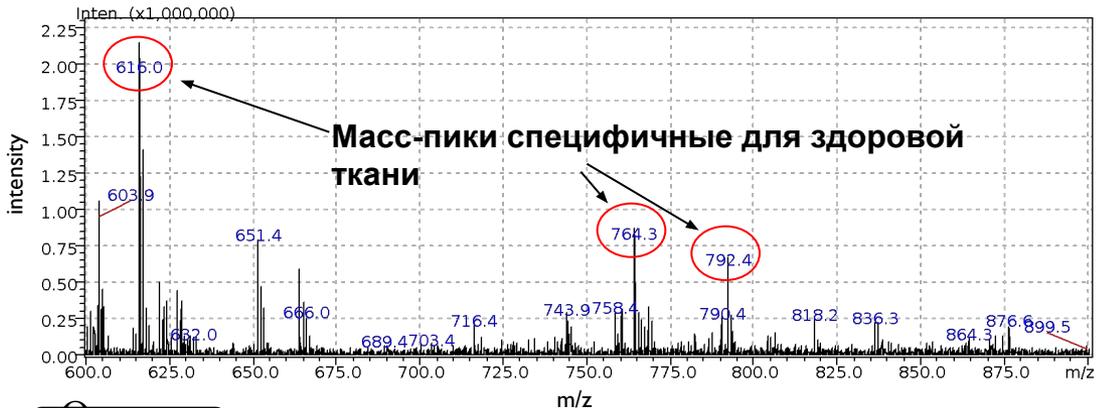
Оптическое изображение



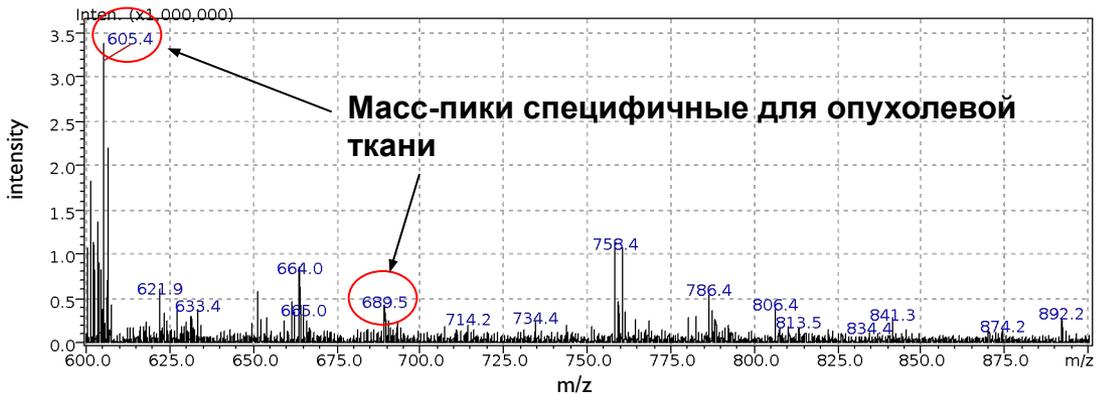
MS изображение, m/z 616

Здоровая
ткань

Матрица: CHCA



Опухоль

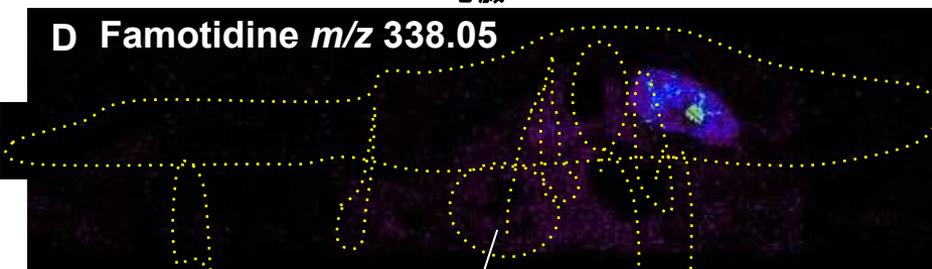
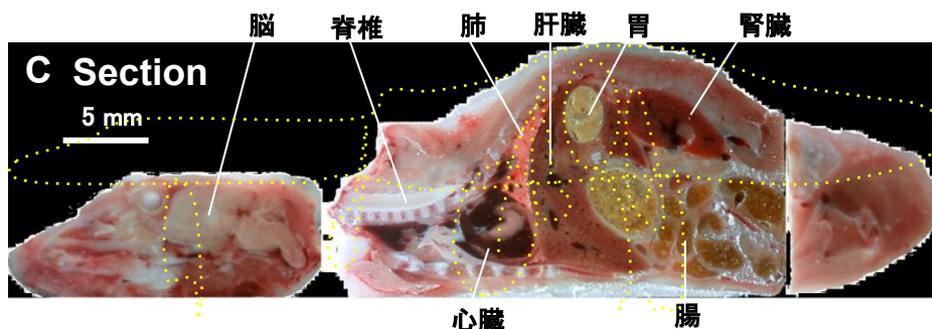


Масс-спектры каждой области

Визуализация MALDI: применение в фармацевтических исследованиях

Фармакокинетика фамотидина

Срез тушки мыши



Условия

Матрица: 50 мг/мл DHB (70% MeOH/0.1% TFA) 1 мл

Срез: 10 мкм

Шаг сканирования: 200 мкм

Прибор: Mass-microscope

Масс-изображение было получено после 30 минут с момента внутривенного введения фамотидина (m/z 338.05)



Было обнаружено специфическое накапливание фамотидина в почках

Большое спасибо!

