

Application News

No. B53

成像质量显微镜
Imaging Mass Microscope

通过 iMScope TRIO 进行高分辨率成像 - 大鼠视网膜中氯喹的分布测定 -

High Spatial Resolution Imaging by iMScope TRIO
- Imaging of Chloroquine Distribution in Rat Retina -

在药物研发中，候选化合物的体内药代动力学分析是非常关键的步骤。该分析不仅可以掌握其药效药理，还可以得到和毒性评价有关的信息。通常，使用放射自显影术 (Autoradiography: ARG) 和荧光色素标记细胞的方法进行分析。但是，使用 ARG 的方法成本高，而且一方面这些方法无法区别原药和代谢产物，另外一方面标记物质的行为可能与未标记物存在差异。因此，最近成像质量分析法，即不作标记便能测定候选化合物分布信息的方法备受瞩目。本方法除了能够在无标记的情况下对各种物质的分布进行分析，还能够根据一个切片分析原药和代谢物，有望今后在药物研发领域取得新的突破。

本文为您介绍使用成像质量显微镜 iMScope TRIO，对服用了氯喹的大鼠视网膜进行分析的示例。

■ 大鼠视网膜中氯喹的高分辨成像

High-Resolution Imaging of Chloroquine in Rat Retina

在本次分析中，对服用了抗疟药之一氯喹的大鼠视网膜进行了测定。图 1 为氯喹的结构式。使用氯喹标准样品进行分析，对基质及测定模式进行优化，表 1 为组织切片的分析条件。

使用成像质量显微镜 iMScope TRIO 进行高分辨成像后，可以发现约 10 μm 膜厚的视网膜色素上皮周围分布有氯喹 (图 2 和图 3)。

在测定氯喹时，如果使用成像质量分析法常用的 MS 模式，因为受到活体衍生杂质带来的离子抑制的影响，而无法得到清晰的 MS 图像 (此处省略数据)。在本次分析中，通过 iMScope TRIO 的 MS/MS 模式进行测定，提高了灵敏度，能够获得在 10 μm 的高空间分辨率下的 MS/MS 图像。

表 1 分析条件
Analytical Conditions

样品及预处理条件	
样品	: 服用氯喹 (20 mg/kg, po) 大鼠眼球切片 (OCT 包埋)
基质	: CHCA (蒸镀)
分析条件	
测定模式	: positive mode
前体离子	: m/z 320.190
激光径	: 10 μm
测定间距	: 10 μm

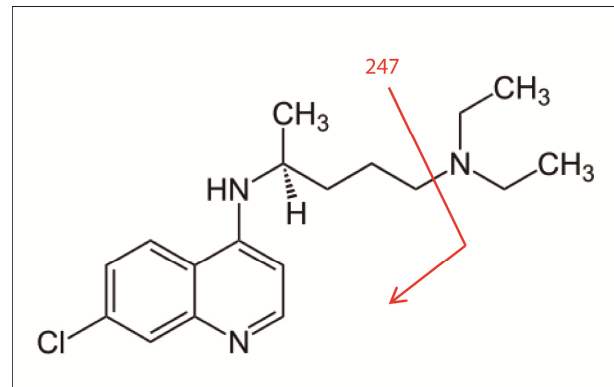


图 1 氯喹的结构式
Structure of Chloroquine
Red arrow indicates the site of MS/MS fragmentation

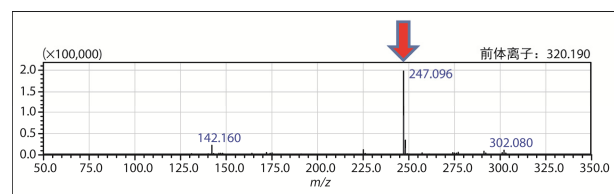
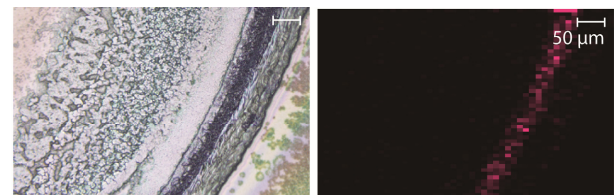


图 2 组织切片上的 MS/MS 谱图
MS/MS Product ion Spectrum of Chloroquine
Acquired Directly from Tissue Section



光学图像 MS/MS图像 (m/z 320.190 > 247.096)

图 3 光学图像和 MS/MS 图像
MS/MS Imaging of Rat Retina, Showing the Spatial Distribution
of Chloroquine (m/z 320.190 > 247.095)

■ 大鼠眼球中氯喹的高速成像

High-Speed Imaging of Chloroquine in Rat Eyeball

在药物研发的药代动力学研究领域，不仅需要药物高空间分辨率下的内脏局部分布解析，还需要测定中等分辨率下的内脏分布。为了测定眼球整体的氯喹分布状况，本次实验进行了中等分辨率（50 μm）下的成像（图4和图5）。

与10 μm的分辨率相比，50 μm的分辨率略为粗糙，在此条件下的测定虽然存在噪音高、离子抑制的问题，但是通过目标碎片峰仍能得到清晰的质谱图。

与显微镜进行的形态观察不同，在重复定点成像质量分析中，测定点数量会直接影响分析速度。iMScope TRIO能够分别设定激光径和测定间距，可简单根据目的设定合适的分辨率，从而提高了分析的效率。

表2 分析条件
Analytical Conditions

样品及预处理条件	
样品	: 服用氯喹 (6 mg/kg) 大鼠眼球切片 (OCT 包埋)
基质	: CHCA (蒸镀)
分析条件	
测定模式	: positive mode
前体离子	: m/z 320.190
激光径	: 50 μm
测定间距	: 50 μm

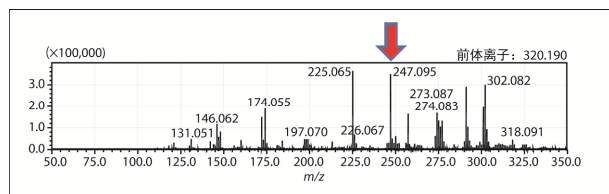
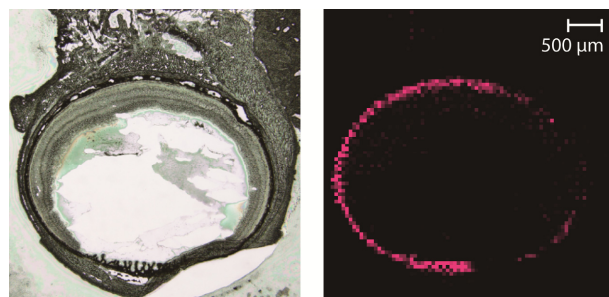


图4 组织切片上的MS/MS谱图

MS/MS product ion spectrum of chloroquine acquired directly from tissue section, using laser diameter of 50 μm.

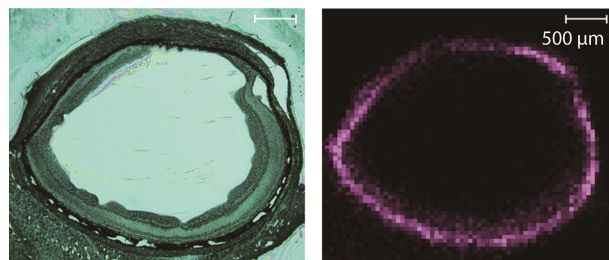


光学图像

MS/MS图像 (m/z 320.190 > 247.095)

图5 光学图像和MS/MS图像 (蒸镀法)

Image of Chloroquine Distribution Obtained by Sublimation Method.



光学图像

MS/MS图像 (m/z 320.190 > 247.095)

图7 光学图像和MS/MS图像 (喷雾法)

Image of Chloroquine Distribution Obtained by Spray Method.

iMScope 作为医疗器械并未经有关部门批准认可。因此无法用于治疗诊断。仅可用于临床研究。

■ 基质的不同涂布方法的比较

Comparison of Matrix Deposition Method

除了进行上述分析以外，我们还对基质的不同涂布方法得到的分析结果进行了比较。使用MALDI法的成像质量分析中，涂布方法有喷雾法和使用iMLayer的蒸镀法两种。图6为蒸镀法的原理图；图5为使用iMLayer的蒸镀法的分析结果；图7为喷雾法的分析结果。

通过比较可知，与蒸镀法（图5）相比，采用喷雾法（图7）经过预处理，氯喹衍生物存在弥散，使得图像不够清晰。由结果可知，在氯喹测定中比较适合使用蒸镀法，但是实际分析中，需要根据化合物不同，选择适合的涂布方法。近年来并用两种方法的分析也在不断地增加。

综上所述，在质量分析成像技术中，不仅需要提高切片制作技术，还需要选择合适的基质涂布方法。

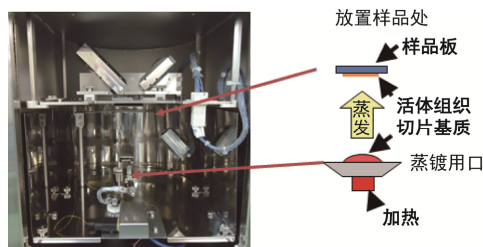


图6 iMLayer内部及蒸镀法的原理

A schematic of iMLayer and sublimation process

■ 对单切片进行多重分析

Combination of MS and MS/MS Imaging on a Single Tissue Section

具有高空间分辨率的质量分析成像系统能够从一个切片获得各种信息。如上所述，iMScope TRIO能够分别设定激光径和测定间距。例如，图8为激光径设定为5 μm、测定间距设定为10 μm时的测定点分布图。将测定点如图布局，再根据MS成像解析得到的结果，便能够从一个切片得到多个物质的高空间分辨率MS/MS成像。

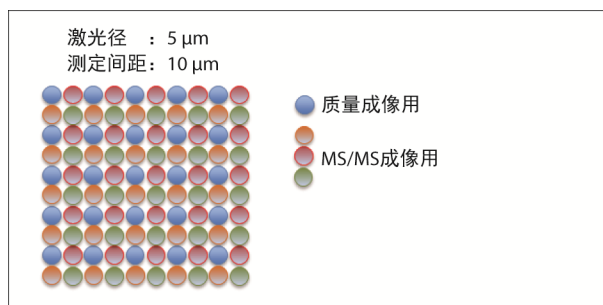


图8 用于多重分析的测定点分布图

An Example of Data Acquisition Point Arrangement for Performing a MS Survey Scan and Up to Three MS/MS Imaging on a Single Area of Interest.



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

http://www.shimadzu.com.cn

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2014年10月