

文章编号: 1004-2997(2022)02-0131-02

doi: 10.7538/zpxb.2022.2000

厦门大学杭纬课题组 ——单细胞质谱成像技术的新进展

再帕尔·阿不力孜

(中央民族大学, 北京 100081)



再帕尔·阿不力孜: 中央民族大学原副校长, 现任药学院院长、中央民族大学生物成像与系统生物学研究中心负责人、“质谱成像与代谢组学”国家民委重点实验室主任, 二级教授。中国医学科学院药物研究所研究员、博士生导师, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室副主任, 北京协和医学院药物分析学系主任。北京市政协常委, 国务院学位委员会第七届药理学学科评议组成员, 教育部科技委药学与中医药学部委员; 中国分析测试协会副理事长, 中国化学会质谱分析专业委员会副主任委员等。首批“新世纪百千万人才工程”国家级人选, 享受国务院

政府特殊津贴专家, 国家民委领军人才。APSB、RCM、JANPR 以及分析化学、药化学、化学进展、质谱学报、分析测试学报和分析仪器等国内外学术期刊编委。

随着 1997 年 R. Caprioli 教授等首次将 MALDI-TOF MS 技术用于生物组织中多肽和蛋白质成像分析后, 极大地推动了质谱成像技术(MSI)的发展。这 20 多年来, 因不同原理及多种类型 MSI 技术的发展及其应用领域的拓展, 使其成为质谱领域乃至分析化学、分子影像技术以及生物医药等领域的前沿与热点方向之一而备受关注。

此外, 单细胞水平的研究可以揭示生命活动规律、疾病发病机制、药物靶向治疗等重大科学问题, 是当前生命科学中最热点的研究领域之一。目前, 从分析化学与技术角度来看, 荧光显微镜技术在单细胞分析领域的应用最为普遍, 但该技术因需引入能发荧光的探针分子, 这为单细胞内源物质、小分子药物及其代谢物的发现与表征带来了严重的限制。与之相比, 质谱成像技术以其免标记、多元素/分子同时检测等优点, 为单细胞分析提供了新的研究手段。其中, SIMS 技术因具有高空间分辨率等优势发挥着重要作用; 而应用面更广的 MALDI-MSI 等激光解吸电离质谱技术常常受限于空间分辨率等关键问题, 遇到巨大挑战。

为解决激光解吸电离质谱单细胞成像技术面临的分辨率等瓶颈问题, 近年来, 厦门大学杭纬课题组相继研发出 3 个新技术, 并取得了一系列的创新成果。

1) 针尖增强解吸质谱仪的研制^[1]。创新性地将激光照射贵金属针尖所产生的等离子体共振增强效应作为解吸机制, 并采用自制的 TOF MS 质量分析器, 展现了纳米尺度弹坑, 具备采集相应质谱信号的能力和重现性, 实现了多种无机盐残留物的多元素分析, 获得了 50 nm 横向分辨率的钾盐残留物质谱成像。该方法为化学组成在纳米尺度的分析与成像提供了新的途径。

2) 近场解吸成像质谱仪的研制^[2]。采用有孔光纤传导激光、光纤尖端开孔仅 200 nm 以及尖端的瞬逝光进行解吸等手段, 通过原子力自动控制光纤尖端到样品表面的距离, 无需使用探针, 获

得空间分辨率为 250 nm 的多种药物在单细胞内的分布成像。该质谱仪将近场解吸的分子通过深紫外激光后电离,具有离子效率高、传输性好等特点,达到 amol 级绝对检出限;克服了样品表面起伏产生误信号的问题,精准实现形貌和化学成分清晰的共成像图。

3) 微透镜光纤激光解吸电离质谱仪的研制与单细胞质谱成像分析新进展^[3]。首先,该课题组研制了微透镜光纤激光解吸电离质谱仪(MLF-LDPI-TOF MS),即借助物理研磨手段,在单模光纤的一端加工得到曲率半径极小的微球面($R=4.5\ \mu\text{m}$),以此微球作为微型平凸透镜,将激光聚焦在样品表面,实现对样品的解吸与离子化,并通过自主研制的飞行时间质量分析器进行检测。因采用极短的焦距,在样品表面获得采样弹坑直径约为 350 nm。通过将抗癌药物柔红霉素(DRB)负载在叶酸修饰的 Fe_3O_4 颗粒表面并与癌细胞共同培养,对不同培养时间的癌细胞进行质谱成像分析,同时获得细胞内纳米颗粒、纳米颗粒表面的叶酸修饰基团和所负载药物在细胞器水平上的分布,直观地揭示出药物随着培养时间的增加,从纳米颗粒表面释放、进入细胞核,并最终诱导癌细胞凋亡这一动态过程。

该课题组进一步采用 MLF-LDPI-TOF MS 技术,成功实现单细胞 3D 成像分析,在纳米尺度实现了 2 种抗肿瘤药物在单个细胞内三维空间分布成像,获得 $500\ \text{nm}\times 500\ \text{nm}\times 500\ \text{nm}$ 的空间分辨率。通过采用微透镜光纤实现在细胞表面纳米尺度的采样,并引入 157 nm 后电离激光提高了离子化效率、检测灵敏度及电离源的信号稳定性。同时提出了一种基于嵌入式均匀圆形聚苯乙烯微球的三维定位方法,可用于准确重构还原药物在单细胞内的三维分布分析^[4]。

在此基础上,通过自主设计具有三通结构的样品剥蚀池,将微透镜光纤激光采样技术与 ICP-MS 相结合,构建微透镜光纤激光溅射-ICP-MS 的单细胞质谱成像技术平台,实现低至 400 nm 空间分辨率的生物组织和单细胞内多种化合物的质谱成像分析。该装置还可实现可调分辨率的成像模式,如对同一小鼠小肠剖面组织切片进行从 500 nm 至 $10\ \mu\text{m}$ 空间分辨率的药物成像分析,高分辨模式的成像能够更直观、更精准地描绘出小肠组织内微小细节和药物的分布,获得小肠对药物的吸收和作用机理相关的关键信息。此外,将 HeLa 细胞与金纳米棒、卡铂等药物同时培养后进行成像分析,结果发现金纳米棒主要位于细胞的溶酶体内;而卡铂药物被癌细胞摄取后主要分布在细胞核内,通过与核内 DNA 的相互作用诱导癌细胞的凋亡^[5]。

杭纬课题组长期致力于激光溅射/解吸质谱技术与装置的研制,其中在基于激光解吸电离的高空间分辨质谱成像技术中,微透镜光纤激光解吸电离质谱技术尤为出色。该技术首次提出了一种经济可靠、操作简单、普适性强、具有纳米空间分辨率的激光解吸电离质谱成像手段,其空间分辨率远超目前商品化的激光采样质谱技术,并成功实现了对细胞内多种元素和分子在细胞器水平上的可视化分析与定位,有望在生命科学、医学和药学等多个领域拓展应用。

参考文献:

- [1] LIANG Z S, ZHANG S D, LI X P, WANG T T, HUANG Y P, HANG W, YANG Z L, LI J F, TIAN Z Q. Tip-enhanced ablation and ionization mass spectrometry for nanoscale chemical analysis[J]. Science Advances, 2017, 3(12): eaaq1059.
- [2] YIN Z B, CHENG X L, LIU R, LI X P, HANG L, HANG W, XU J Y, YAN X M, LI J F, TIAN Z Q. Chemical and topographical single-cell imaging by near-field desorption mass spectrometry[J]. Angew Chem Int Ed, 2019, 58(14): 4 541-4 546.
- [3] MENG Y F, CHENG X L, WANG T T, HANG W, LI X P, NIE W, LIU R, LIN Z, HANG L, YIN Z B, ZHANG B L, YAN X M. Micro-lensed fiber laser desorption mass spectrometry imaging reveals subcellular distribution of drugs within single cells[J]. Angew Chem Int Ed, 2020, 59(41): 17 864-17 871.
- [4] LI X P, HANG L, WANG T T, LENG Y X, ZHANG H, MENG Y F, YIN Z B, HANG W. Nanoscale three-dimensional imaging of drug distributions in single cells via laser desorption post-ionization mass spectrometry[J]. J Am Chem Soc, 2021, 143: 21 648-21 656.
- [5] MENG Y F, GAO C H, LIU Q, MA S Y, HANG W. Single-cell mass spectrometry imaging of multiple drugs and nanomaterials at organelle level[J]. ACS Nano, 2021, 15(8): 13 220-13 229.