



MALDI-TIMS-MS

timsTOF *flex*

MALDI Guided SpatialOMx[®]

MALDI 2 TECHNOLOGY **micro GRID**

Innovation with Integrity

ブルカーを選ぶべき理由

timsTOF fleX – 最良の 4D x-オミクスとMALDIイメージングシステム

1992年にreflex MALDI-TOFシステムを導入してからブルカーは継続して技術の限界に挑み、広範囲にわたるアプリケーションを開発し、MALDIの市場で比類なきリーダーとなりました。MALDIイメージングでは空間的にスペクトルが収集され、2Dマップとして投影される全ての位置で質量スペクトルが作成されます。

単一のデータセットには数百から数千の固有のラベルフリーのイオンイメージングが含まれることもあり、分子マーカの発見や特定部位の分子含有量の調査に使用できます。

ブルカーは当社の特許取得済みSmartBeam 3D技術からSCiLS™ Lab解析ソフトウェアまで、継続的にMALDIイメージングを進歩させてきました。timsTOF fleXはこの伝統を継続しており、オプションのズームモードで業界標準である20 μ mの空間分解能を5 μ mまで下げて動作します。

MALDIの25年以上の歩み



専門家を信頼する

長年にわたりMALDIイメージングの最先端技術を提供することにより、ブルカーは、幅広い研究分野でのリファレンスリーダーが多く含まれている最大のイメージング顧客ベースを獲得しています。timsTOF fleXによってSpatialOMx®が、どのようにして分子イメージングに不可欠な技術革新になったかについて、彼らが言わずにはいられないことが何かを知ってください。



Prof. Richard R. Drake

**Director, Proteomics Center,
Medical University South Carolina, USA**

timsTOF fleXは革新的な装置であり、これによって複数の分析機能がシナジー化されて新しい種類のオミクスワークフローの開発が可能になります。イメージング MSの場合、特に組織メタボロミクスやグリコミクスアプリケーションで、潜在的に形質転換が可能です。



Dr. Kristina Schwamborn

**Senior Physician, Institute of Pathology,
Technical University Munich, Germany**

MALDIイメージング質量分析は顕微鏡法をはるかに超えており、ターゲット特有の試薬を必要とせずに、組織切片内の空間的分子配置で多数の分析対象物を並行して評価できます。サンプルは分析中無傷のままであるため、後で染色することや、DNA分析に使用することさえできます。分析は高速であり、再現性があり、免疫組織化学のような他の標準的な病理学的手法より高価ではなくなっていることが、実証されています。このため、病理学に革命を起こす可能性があります。



Dr. Marten Snel

**Head of SAHMRI Mass Spectrometry Core Facility,
Australia**

私の意見では、MALDI対応可能なtimsTOF fleXは、この分野での大きな前進です。timsTOF fleXイメージングが、SAHMRIでの生物医学研究および臨床研究、特に低分子、脂質、薬剤イメージングで、非常に良い影響を与えることを確信しています。



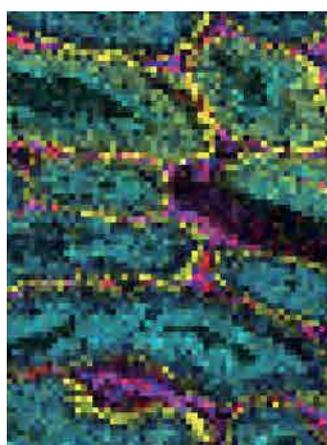
microGRID: 正確で堅牢な 高解像度イメージングをシンプルに

timsTOF fleXの新しい強力な MALDIステージ技術

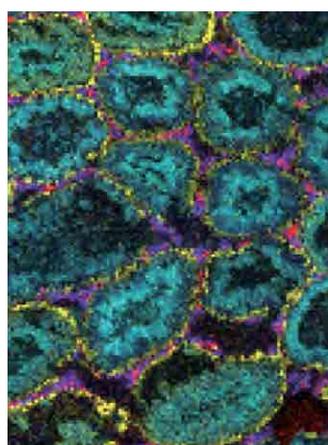
10 μ m以下の横方向空間分解能でのサンプリングにおける一貫性と堅牢性は、市販のMALDIイメージング装置では実現できませんでした。ブルカーは現在、データのトライピング、フェーzing、オーバーサンプリング効果を排除する独自のソリューションを提供しており、サブセルラーイメージングの可能性を手の届くところにまで高めています。

micro
GRID

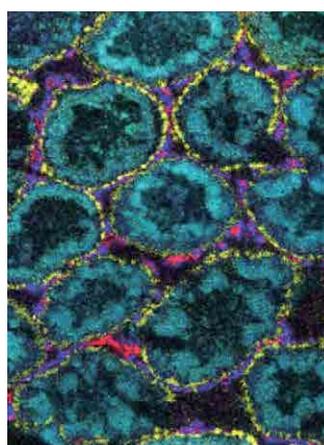
microGRIDオプションは、レーザー位置補正により高解像度測定を可能にし、機械的な限界を超えた進化を実現します。ブルカーのイノベーションへの取り組みは、日常の限界を押し広げ続けています。



20 μ m



10 μ m

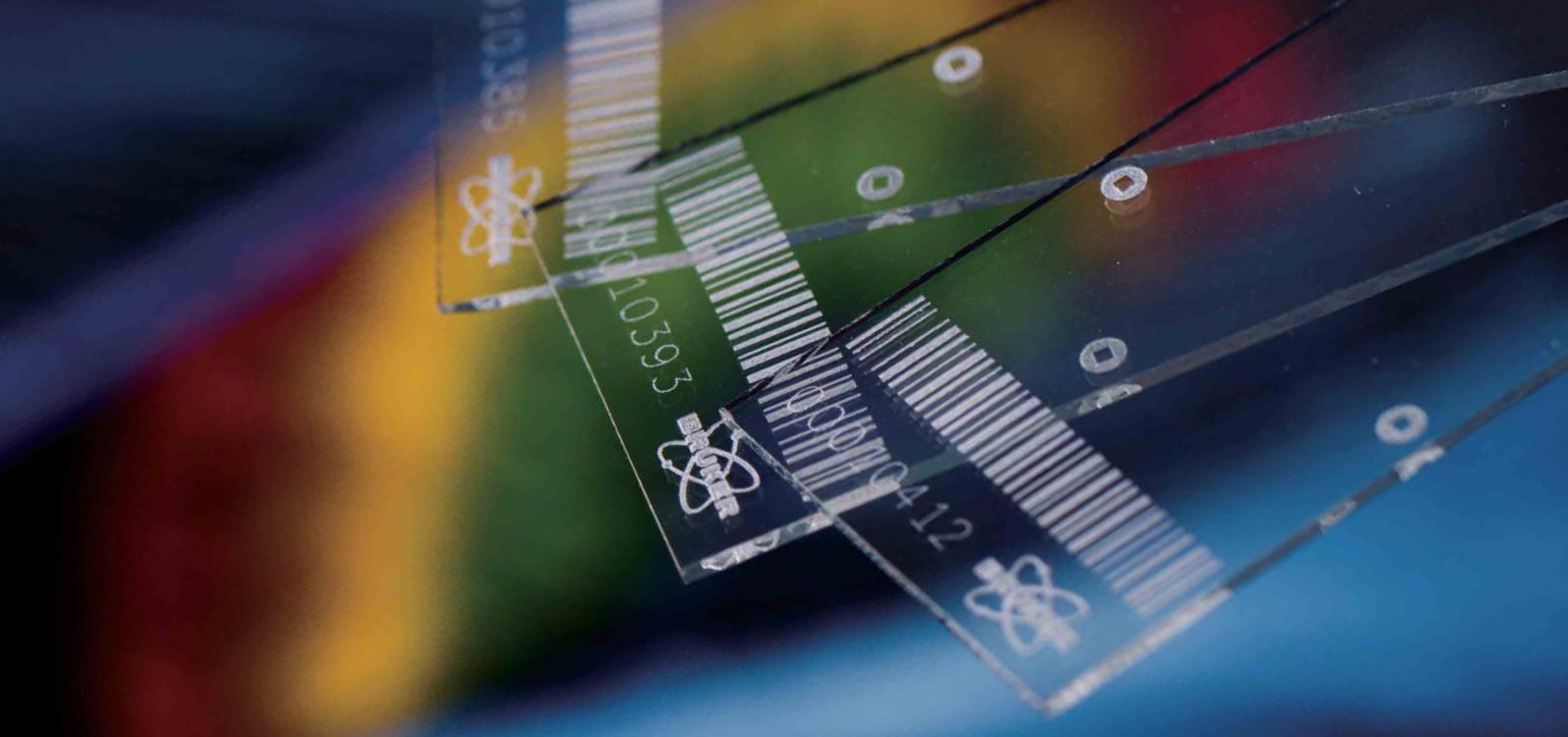


5 μ m

500 μ m



図1 microGRIDイメージングにより、ラット精巣の画像を20 μ mから5 μ mに分解能を向上させ、臓器の微細な組織構造にアクセスすることが可能になりました。

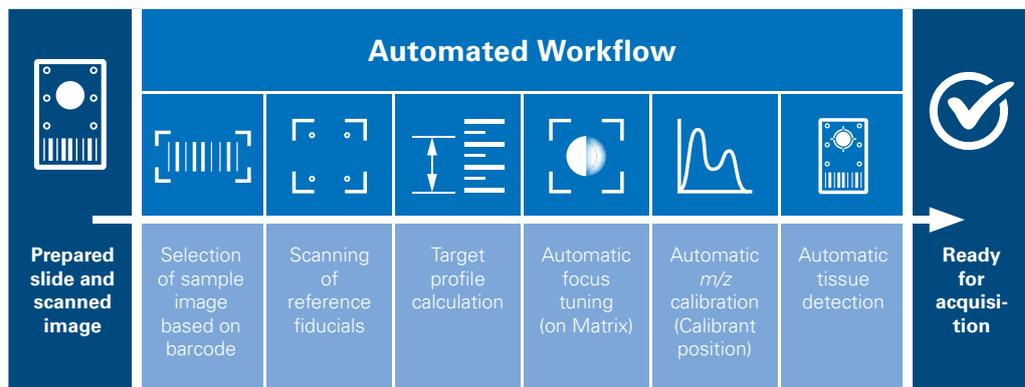


microGRIDを搭載した機器は、ハードウェアやソフトウェアの調整をすることなく、すぐに5 μ mのイメージングを実現することができます。TIMSと高空間分解能の組み合わせのユニークさをフルに活かしてください。



図 2

合理化されたソフトウェアワークフロー-SCiLS™オートパイロットは、MALDIイメージング測定のセットアップをシンプルに制御し、ユーザーの経験に関係なく、信頼性と堅牢性の高いデータ取得を可能にします。



microGRIDは、ブルカーのSCiLS™オートパイロットワークフローにシームレスに統合され、ルーチンアプリケーションにとって魅力的な技術となっています。SCiLS™ Labによってブルカー

はパッケージを完成させ、高分解能イメージングデータを分析するための高性能ソフトウェアを提供します。

信頼性の高いtimsTOFの全機能を備えた、堅牢で再現性の高いデータ

- 従来のMALDIイメージングワークフローとのシームレスな統合が可能。
- 使いやすく、標準アプリケーションメソッドが利用可能。
- MALDI-2の利点は、microGRIDテクノロジーによってすぐに明らかになります。

深度と感度の強化

SpatialOMx®によりtimsTOF fleXは、日常的なオミクスや製薬の研究に生物学的背景を追加するためのまったく独自のソリューションになりました。

多くの研究者がspatialOMx®を「そのまますぐに」活用できている一方で、非常に困難なワークフローに対処するカスタマーはそれ以上を求めます。低分子や脂質を中心に展開す

る研究では、通常MALDIの感度や分子の対象範囲の限界をテストします。

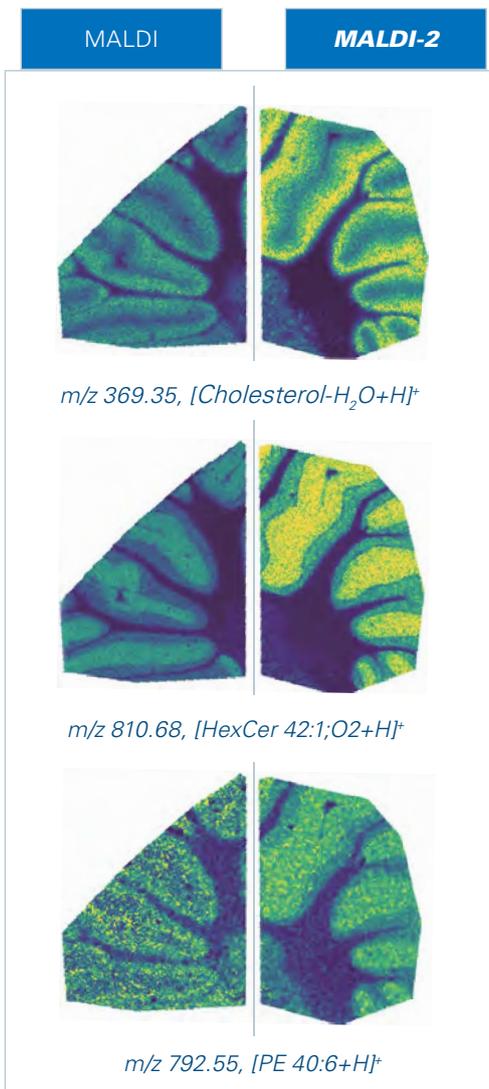
この答えがMALDI-2です

Prof. Dr. Klaus Dreisewerd

Leader Section Biomedical Mass Spectrometry, University of Muenster, Germany



これまで35年間、MALDIは多種多様なアプリケーション用の、比類のない迅速な分析ツールになってきました。当社ではMALDI-2を開発して、低分子や従来イオン化しなかった化学物質群も含めて、これらに対するはるかに高い感度を提供することによって、この技法を大幅に拡張しました。広範囲な比類のない機能により、MALDI-2を搭載したtimsTOF fleXはMALDIを、これまで利用できなかった未開拓分野へ導きました。



MALDI 2 TECHNOLOGY

- ✔ MALDI-2により、通常はMALDIでイオン抑制されやすい化学物質群の分析が、可能になります
- ✔ サンプル、マトリックス、分析対象物によって異なりますが、MALDIと比較して感度が最大2~3桁上昇します
- ✔ 物理的ハードウェアの交換は不要であり、ソフトウェアで1クリックしてMALDIとMALDI-2を切り替えるだけです
- ✔ ユーザーに優しいソフトウェアソリューションであり、装置のキャリブレーションが簡単で、科学者によってテスト済みのメソッドによって測定が即座に開始されます



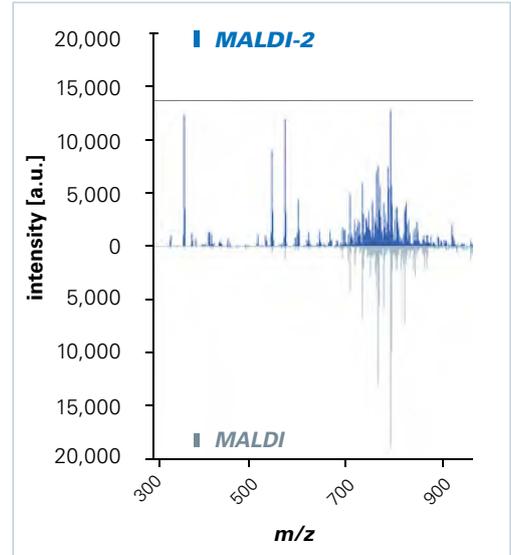
製薬 - これまで到達できなかった感度での細胞組織からの画像の作成機能により、毒物学を超えてPK/PDへ、さらにその先へ進みます。



代謝物 - これまでMALDI単独では検出できなかった代謝物群およびパスウェイが、画像化されます。

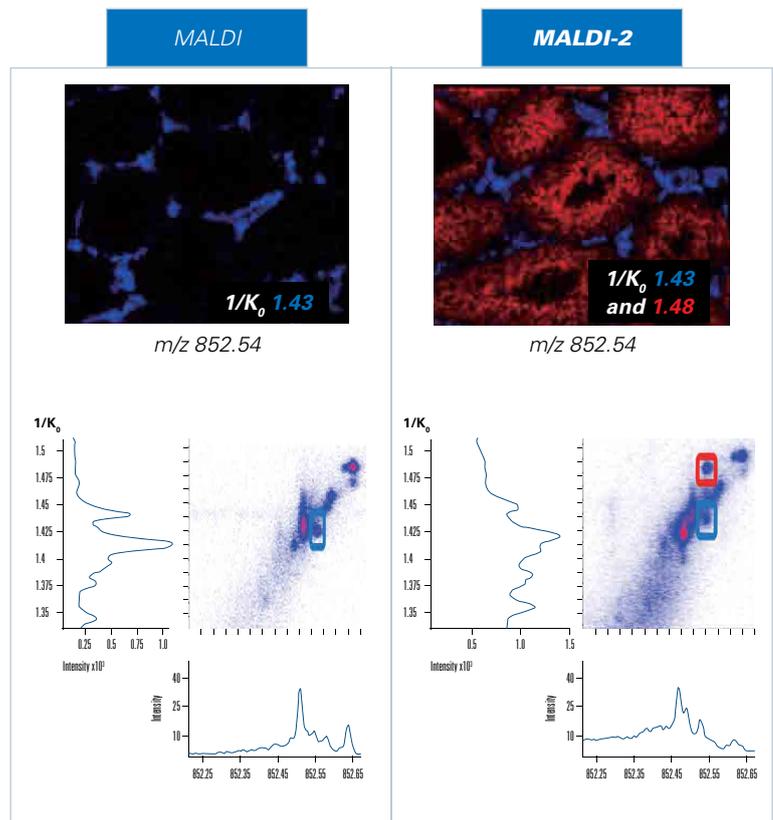
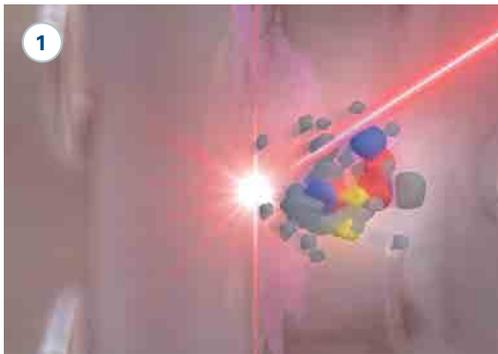
最初はミュンスター大学Klaus Dreisewerdグループで開発された、MALDI-2はレーザーのポストイオン化を使用してMALDI実験を強化および補強して、これまでどのプラットフォームでも見られなかった感度により、MALDI では通常曖昧な化学物質群に、手が届くようになりました*。

ポストイオン化によりイオンの収率が大幅に増加し、イオンの抑制効果が低減されたため、スペクトルは一段と複雑になります。これに関連して、TIMSモビログラムの再構築機能割り当ては、ますます有用になっています。数多くの機能の発見に続いて、これらは1つではなく2つの独立した測定によっても説明されており、信頼できる同定が可能になっています。



ステップ1

レーザーがサンプル表面に当たり物質が脱離します。イオンおよび中性分子が生成されます。



ステップ2

第二のレーザーが照射されるプラームと交差し、中性分子がポストイオン化されてイオンの収率が増加します。

* 1. Soltwisch, J. et al. Mass spectrometry imaging with laser-induced postionization, Science, 2015, 348, 211-215.
 2. Barré, F. P. Y. et al. Enhanced Sensitivity Using MALDI Imaging Coupled with Laser Postionization (MALDI-2) for Pharmaceutical Research, Anal. Chem., 2019, 91, 10840-10848.

MALDI-2とmicroGRID

サブセルラーイメージングの可能性を広げる強力な組み合わせ

高解像度イメージングでは、ピクセルサイズが小さいほどアブレーションされる物質が少なくなるため、感度が難しくなります。

MALDI-2は2-3桁まで感度が向上し、MALDIでは検出できない分析物へのアクセスを提供します。したがって、MALDI-2とmicroGRIDイメージングの組み合わせは、最高の解像度で最高の情報深度を提供します。

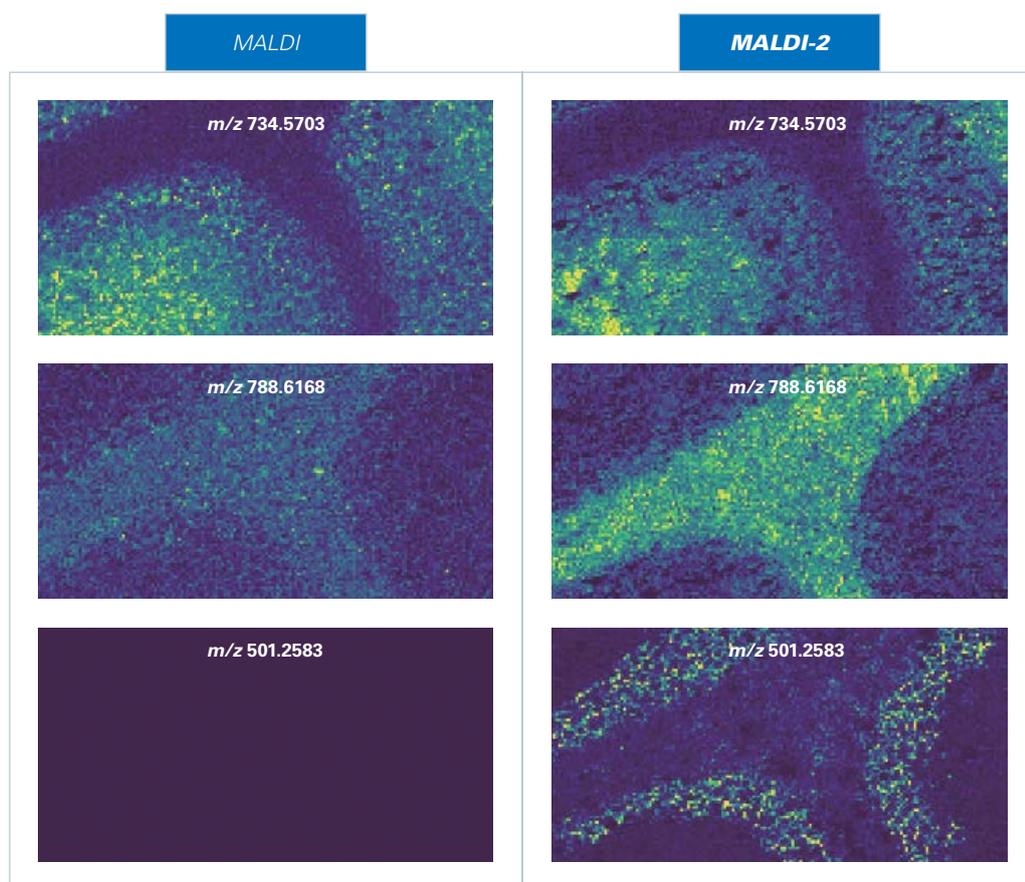


図1 microGRIDイメージングにMALDI-2ポストイオン化を組み合わせることにより感度が向上し、より多くの物質を検出できるようになりました。

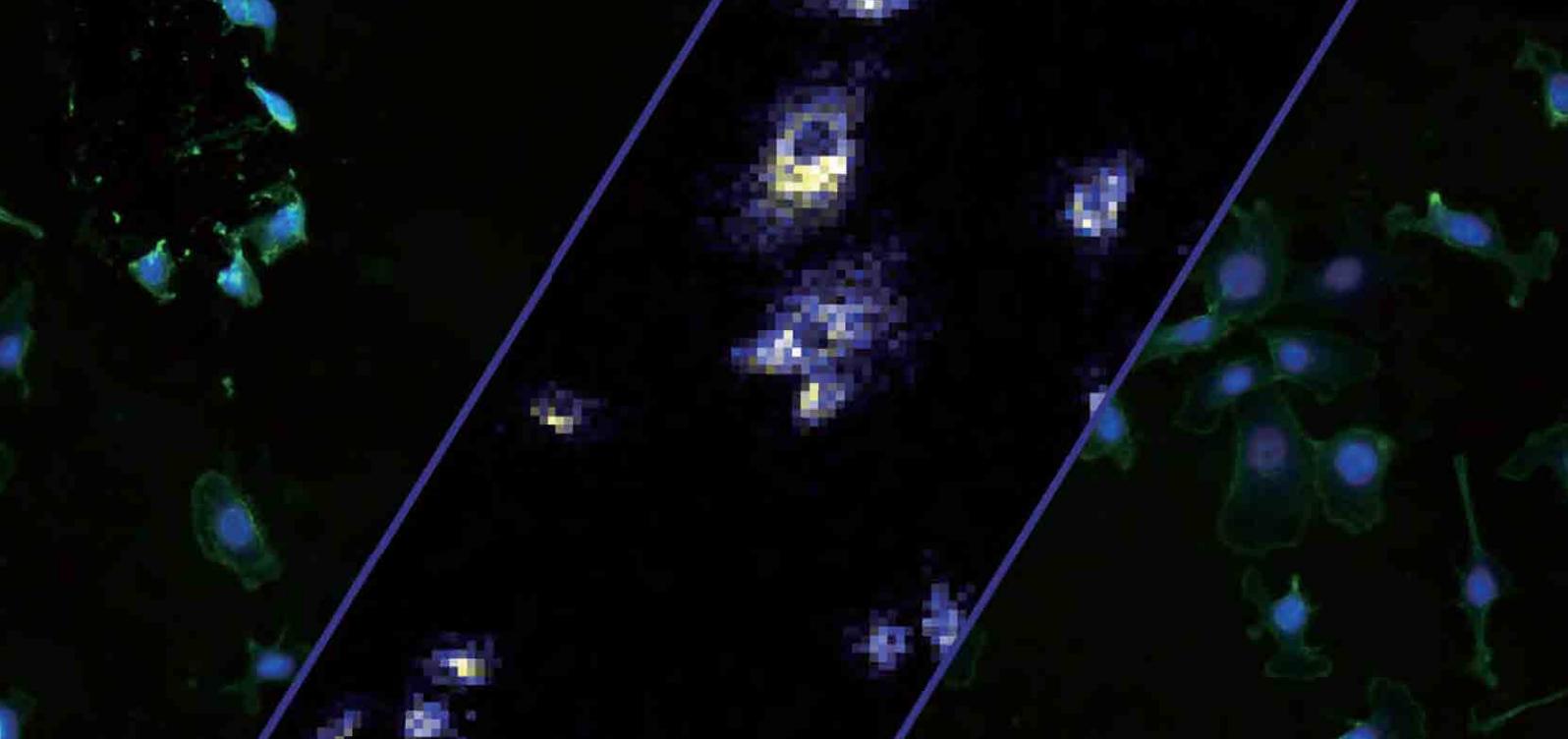


Prof. Dr. Ron Heeren

M4I Maastricht MultiModal Molecular Imaging Institute

私たちは病理医や顕微鏡を覗くことに慣れている人々と密接に仕事をしているので、画像にアーティファクトなデータを入れることは許されませんが、広い視野をカバーすることも必要なのです。ブルカアのmicroGRIDは、病気や恒常性の病理学のマルチオミクスおよびマルチモーダルイメージを作成するために処理できるスライドの領域を制限することなく、その両方を難なく達成するのに役立ちます。





microGRIDとMALDI-2を組み合わせることで、微細な組織構造に対する分子的な洞察を得ることができます。さらに、高い空間分解能と感度により、シングルセルレベルのイメージングが可能です。

MALDI-2では、Caki-2細胞の細長い構造を、MSのサイズを犠牲にすることなく、鮮明に示すことができます。

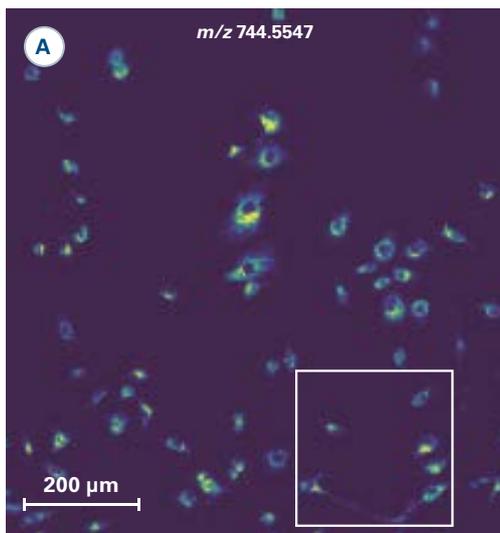


図 2A
microGRIDイメージングで可能になった5μmの空間分解能でのCaki-2細胞培養のMALDI-2イオン画像。Caki-2細胞の局在を示す m/z 744.5547のPE 36:2のイオン分布、輪郭部分を拡大したもの (図 2B)。

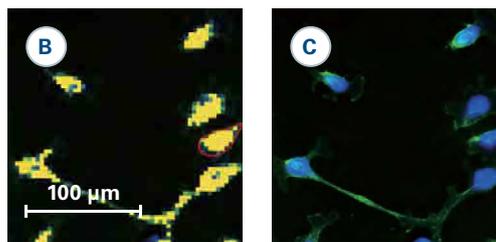
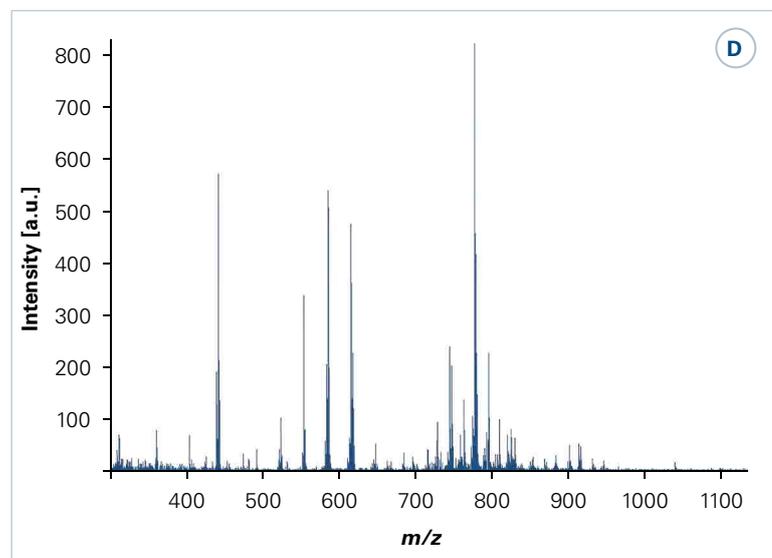


図 2B/C
拡大した部分の m/z 画像 (図 2B) とそれぞれの蛍光画像 (図 2C) を比較すると、非常に微細な構造の相関があることがわかります。

図 2D
シングルセルの m/z スペクトル、ハイライトされています (図 2A)。



MALDI Guided SpatialOMx



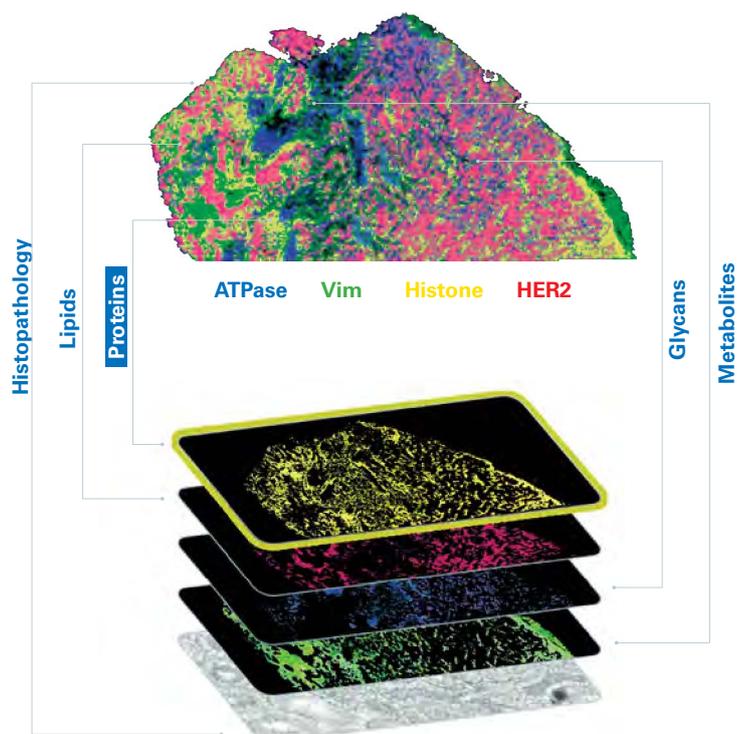
MALDI-Guided SpatialOMx®は、薬剤耐性のメカニズムの解明や組織診断の精度向上のために広く採用されています。

MALDIイメージングは、他のイメージング技術よりも多くの分子クラスをモニターする、真のマルチオミクス技術です。

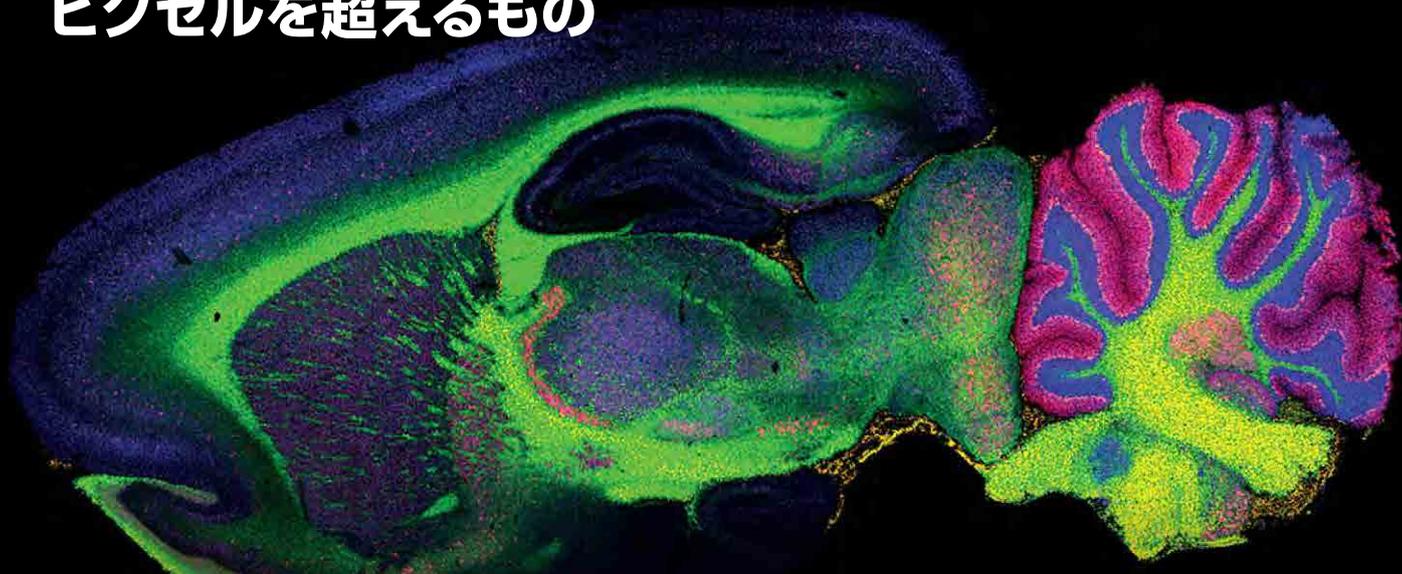
脂質、糖鎖、代謝物、ペプチドなど、さまざまな生体分子を空間的にマッピングすることで、バイオマーカー探索やタンパク質活性の解明が加速されます。SpatialOMx®を用いた指向性マルチオミクスアプローチの適用により、腫瘍の異種細胞生態系内の特定部位におけるシグナル伝達ネットワークを解読し、MALDI HiPLEX-IHCによるタンパク質発現プロファイリングを統合して、主要な生物学的プロセスのバイアスのない概観を提供することができます。

timsTOF fleX and MALDI HiPLEX-IHCは、腫瘍の微小環境とその先にあるものをより深く掘り下げることを可能にします。

timsTOF fleXは、イメージング用に設計されたMALDIソースと、最高のマルチオミクス・プラットフォームを兼ね備えています。MALDIイメージングから得られるインテリジェンスは、特定の細胞構造のオミクス解析を導き、LC-MSアプローチの細胞特異性を高め、将来の病理学のための新しいSpatialOMx®ベンチマークを確立することができます。組織上の生物学的関心領域の探索と、そのオミクスメイクの深い定量解析を同一プラットフォーム上で行うことができます。



ピクセルを超えるもの



ピクセルあたりのインテリジェンスを最大化

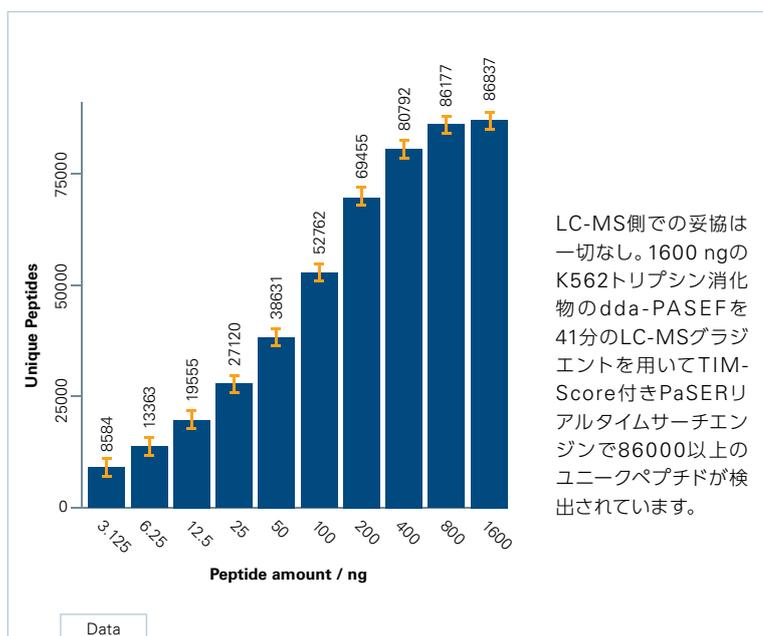
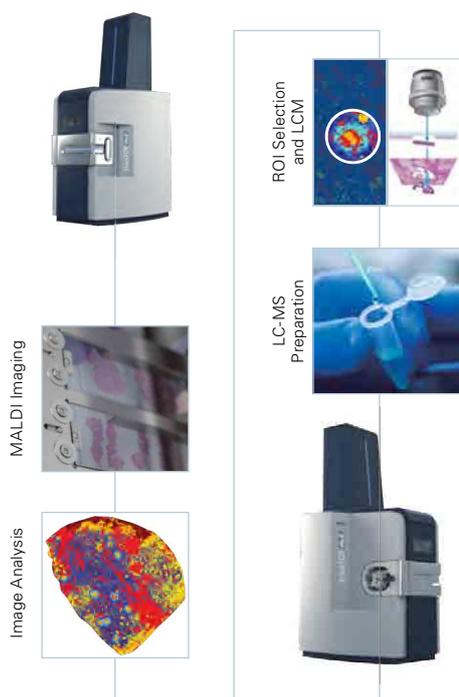
例えば、MALDIガイドのレーザーキャプチャーマイクロダイセクション (LCM) を用いると、50 μ mのLCM組織切片には約25個の細胞が含まれ、timsTOF fleXでのボトムアッププロテオミクス解析には十分な量です。1台で高空間分解能、高速MALDIと高感度ESI分析の両方ができる装置です。

ソフトウェアボタンをクリックするだけで、究極の柔軟性と特異性が得られるtimsTOF fleXは、もはや標準となっています。

SpatialOMx[®] ワークフロー

SpatialOMx[®]は、MALDIイメージングとESIエンハンスメントをCCS対応の4D-Omicsに使用し、ターゲット化合物の分布を5次元で表示するものです。

典型的なMALDIイメージング実験とデータ解析が完了した後、関心のある細胞集団を選択して、希望のオミクスメソッドのフルLC-MS分析を行うことで、さらに深い情報を得ることができます。



LC-MS側での妥協は一切なし。1600 ngのK562トリプシン消化物のdda-PASEFを41分のLC-MSグラジエントを用いてTIM-Score付きPaSERリアルタイムサーチエンジンで86000以上のユニークペプチドが検出されています。

4D X-オミクスと病理学の間の際間を埋める

組織内

厳密に組織特有なタンパク質の発現はあまり見られないが、一部の種類のタンパク質が優勢です（筋肉内の高分子量のモータータンパク質、脳内の小さなニューロペプチド、消化管内の消化酵素、腎臓内の輸送タンパク質、皮膚内のバリア機能に関するタンパク質）。各組織または臓器のプロテオームは、その主要な機能を示します。

タンパク質の発現と細胞プロセスの調節

いかなる細胞内でも、生活、成長、機能的変化、そして死を調節するプロセスはペプチドとタンパク質によって導かれます。転写因子（一般的に50 - 100kDaの間）は遺伝子のテンプレート由来のタンパク質発現を起こしたり停止したりします。これらの発現は一般的な健康な細胞周期機能においても、ストレスがかかった時の反応においても、細胞の増殖、分化、またはアポトーシスに不可欠なプロテオミクスの方法を作ります。同様に、翻訳後修飾（例えばリン酸化、グリコシル化、メチル化）を生成する酵素は、タンパク質の位置決定、機能の活性および安定性を調節します。

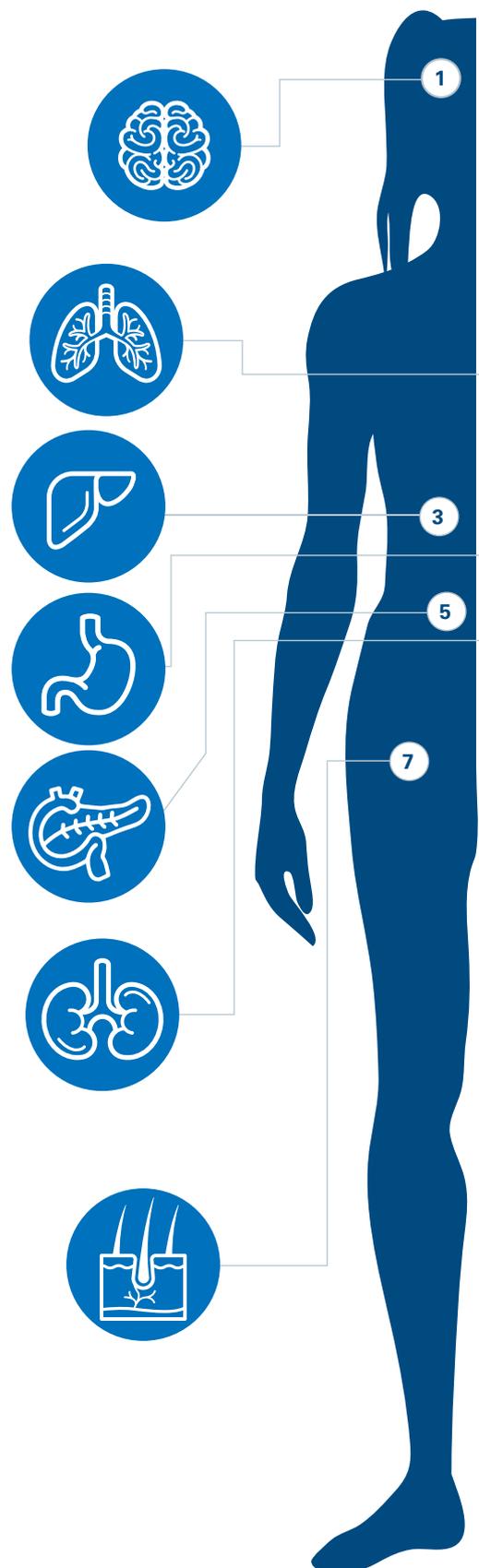
ハウスキーピングプロセスについて

ハウスキーピングタンパク質は体全体の同等なレベルにおいて発現します。

「発電所」細胞小器官タンパク質、例えば細胞に必要なATPに食物エネルギーを転換するミトコンドリアや、チューブリンとアクチンなどの高分子量の足場タンパク質は、細胞構造と規則的な細胞機能の両方の維持に必要です。

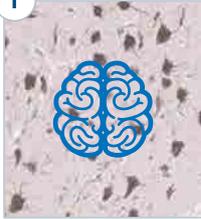
そして、新薬の開発につながるようなプロテオミクス

製薬会社は様々なタイプのタンパク質を標的にします。タンパク質の局在、形態そして機能についてより深い知識があることがドラッグ設計と効能を改善します。代替的な、高親和性結合パートナーが酵素活性をさらに効果的に調節する可能性もあります。例として、シクロオキシゲナーゼ (COX) によるプロスタグランジンの生成を低減させることで痛みや炎症を減少させるNSAIDsや、HMG-CoA還元酵素と競合的に結合してコレステロールを減少させるスタチンがあります。mAbsなどの市販のバイオ医薬品は、多くの場合、高分子量で構造的に複雑であり、標的特異性の細胞表面タンパク質です。





1



脳 非常に複雑でエネルギー集約的な臓器であり、運動、知覚、認識などの連携した高機能は、脳内で受信、処理、実行されます。神経タンパク質は、細胞と構造の間、ならびに軸索、樹状突起、シナプスなどの細胞内構造の間で特異的な発現パターンを示します。

2

肺 肺は主に呼吸に関与しています。空気と血液の間の O_2 と CO_2 の気体交換は、約3億個の肺胞内で起こります。肺細胞、気管支上皮、および内皮細胞は O_2/CO_2 交換を促進し、肺胞マクロファージは吸入された微生物からの潜在的な感染に対して保護します。



3



肝臓 実質細胞（肝細胞および胆管細胞）および非実質細胞（類洞内皮細胞、クッパー細胞、および肝星細胞）で構成される肝臓は最大の内臓です。肝臓特異的タンパク質には、血漿タンパク質と胆汁タンパク質、そして代謝プロセス、グリコーゲン貯蔵、解毒に関連するタンパク質が含まれています。

4

消化管組織 胃腸管 (GIT) (食道、胃、小腸と大腸、直腸) は栄養分と水分を吸収し、有益な微生物のバランスを保ち、病原体から保護します。GITタンパク質は主に栄養素の分解、輸送と代謝、免疫反応、そして組織形態の維持に関与しています。



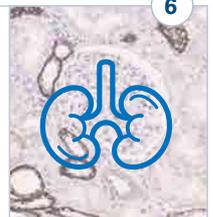
5



膵臓 膵臓は、外分泌と内分泌機能を両方持っています。外分泌コンパートメントの腺細胞は消化管に消化酵素を分泌し、ランゲルハンス島はインスリンや他のホルモンを分泌する膵臓機能を遂行します。多くの膵臓 mRNA は特殊な分泌タンパク質をコードします。

6

腎臓 腎臓の主な機能には、血液組成を調節して老廃物を排除することにより体の恒常性を維持することが含まれます。様々な細胞のタイプが、別個の機能の解剖学的副構造に組織されており、必須タンパク質が高濃度であることを示しており、例えば血液濾過に必要なタンパク質は糸球体で高い濃度です。



7



皮膚 皮膚 (表皮、真皮、皮下層) は感覚器官であり防護壁です。表皮の大部分は、物理的、化学的、生物学的な損傷から保護するセラチノサイトです。ほとんどのタンパク質機能は、うろこ状の細胞分化と角質化、色素沈着、発毛に関連します。

4D X-オミクスワークフロー クリックするだけで十分

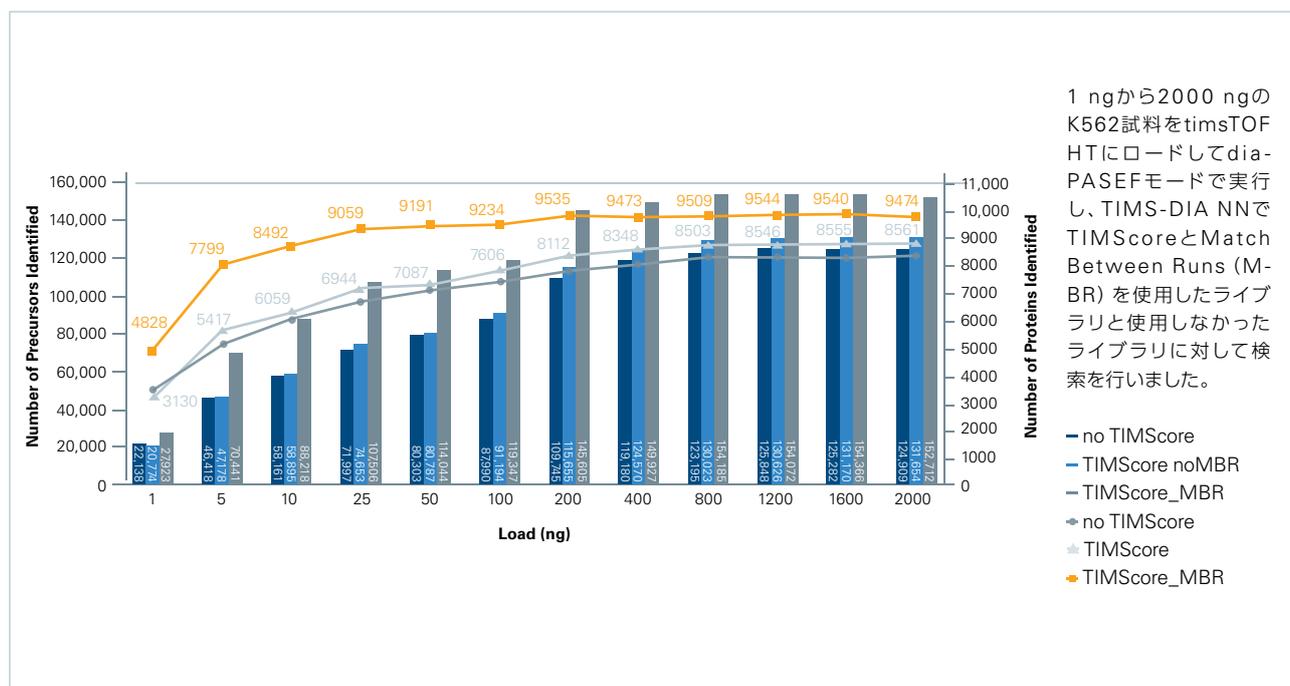
timsTOF fleXで実現する 4D-プロテオミクス

timsTOF fleXは、すべてのCCS対応4D-プロテオミクスワークフローに対応し、PASEF、dia-PASEF、prm-PASEFによるハイスループット解析で包括的な結果を提供します。ハードとソフトのユニークな相乗効果により、感度と取得速度を両立し、定量プロテオミクスにおいて前例のないプロテオームカバレッジの深さと比類ないデータの完全性を実現します。

timsTOF fleXのリアルタイムでの検索結果は、PaSER 2022によって提供されます。GPU駆動のParallel Search Engine in Realtimelは、データディペンデントおよびデータインディペンデントの両方の測定戦略について、測定後すぐに結果を提供します。PaSER 2022の機械学習によるCCS予測モデルTIMScoreを適用し、FDR計算をモビリティ次元に拡張することで、プロテオームと配列のカバー率を最大化しました。

dia-PASEFのワークフローは、Lilley, Rasler, DemichevラボのDIA-NNソフトウェアのカスタマイズ版で処理されます。TIMS DIA-NNは厳密な統計制御、パラメータの自動最適化を行い、TIMScoreを用いたDDA検索結果からスペクトルライブラリを容易に構築することができます。

timsTOFプラットフォームのプロテオミクス能力は、1200 ngのK562ライセートを60分グラジエントで処理し、TIMScoreで作成したライブラリに対してMatch Between Runs (MBR) なしでTIMS DIA-NNで処理することで実証されています。8000以上のタンパク質群を検出することができ、プレカーサーの数は12万を超えました。サンプル量を10 ngに減らしても、約4,000のタンパク質グループと約60,000のプリカーサを検出でき、低サンプル量に対するdia-PASEFとTIMS DIA-NNの強さを示しています。



1 ngから2000 ngのK562試料をtimsTOF HTにロードしてdia-PASEFモードで実行し、TIMS-DIA NNでTIMScoreとMatch Between Runs (MBR) を使用したライブラリと使用しなかったライブラリに対して検索を行いました。

- no TIMScore
- TIMScore noMBR
- TIMScore_MBR
- no TIMScore
- ▲ TIMScore
- TIMScore_MBR

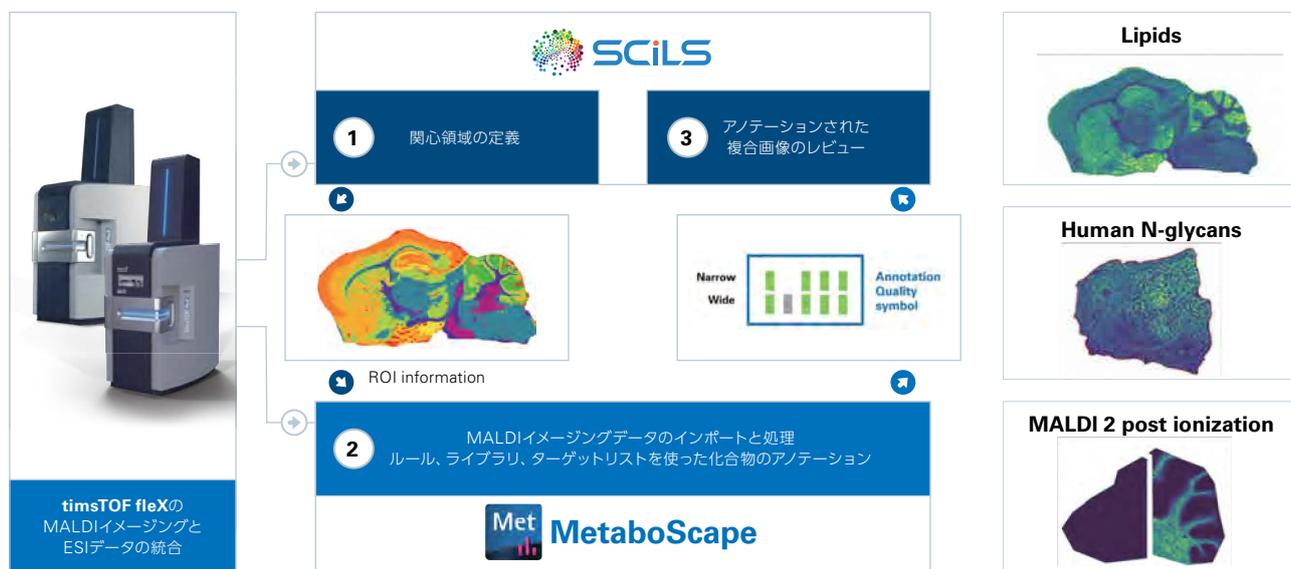
SpatialOMx 自動化された分子 アノテーションのワークフロー

SCiLS Lab - 業界をリードするイメージングソフトウェア

SpatialOMx®では、自動代謝物アノテーションによる新しい質量分析イメージングワークフローが、SCiLS™ LabおよびMetaboScapeによってサポートされます：関心部位がSCiLS™ LabからMetaboScapeに転送され、アノテーション付きピークリストがSCiLS™ Labに読み込まれて化合物の空間分布が可視化されます。

- ベンダー中立な分析と可視化
- 組織から直接標的分子を定量
- 代謝物の自動アノテーションを行う新しい SpatialOMx® ワークフロー

SpatialOMx®-SCiLS™とMetaboScape®を組み合わせた自動アノテーションワークフロー



ブルカールの MALDI イメージングソリューション

確立されたサンプル調製プロトコルによって構成されており、分析ワークフローまでのハードウェアとソフトウェアが完全に統合されたコントロールをカバーします。

- ✔ 部位特有の分子マーカーと生化学的変化を発見
- ✔ プロテオミクス、リポミクス、グライコミクス、無機化合物、臨床研究などの幅広い用途
- ✔ 創薬のための局在解析および定量
- ✔ 代謝経路を視覚的に調べることができます
- ✔ 分子変化を疾患に関連付けます

timsTOF **flex**

MALDI Guided SpatialOMx®



microGRIDによる サブセルラー空間分解能の実現

timsTOF flexXに搭載されたmicroGRIDとMALDI-2テクノロジーのペアリングにより、今までにないサブセルラーイメージング機能を実現しました。

timsTOF flexXは、SpatialOMx®を 独自に実現します

PASEFを用いたLC-MS/MS同定と空間的局在性のマッチングにより、ラベルのない組織におけるマルチレベルのマルチオミクス発現を確認し、その位置を特定することができます。

timsTOF flexXは妥協のない結果を 提供します

PASEFの実績あるワークフローから得られる4Dオミクスのパワーと、ソフトウェア制御によるMALDIへの迅速な切り替えで、分子イメージングを実現します。

本製品は研究用です。臨床診断目的には使用できません。

Bruker Daltonics is continually improving its products and reserves the right to change specifications without notice. © BDAL_05-2022, 1897686, Rev. 01

ブルカー・ジャパン株式会社 ダルトニクス事業部

横浜営業所

〒221-0022

神奈川県横浜市神奈川区守屋町3-9

TEL: 045-440-0471

FAX: 045-453-1827

大阪営業所

〒532-0004

大阪府大阪市淀川区西宮原1-8-29

テラサキ第2ビル2F

TEL: 06-6396-8211

FAX: 06-6396-1118

オンライン情報

bruker.com/timstof



JP_LS 01_09-2022

www.bruker.com