

Определение полезного пространственного разрешения при химическом картировании ооцитов млекопитающих методом TOF-SIMS

А.Е. Солодина¹, А.А. Гулин^{1,3}, А.И. Панаит⁴, В.А. Надточенко^{1,2,3}, А.Г. Погорелов⁴

¹Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН

²Московский физико-технический институт (государственный университет)

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет

⁴Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

Времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов (time-of-flight secondary ion mass spectrometry, TOF-SIMS) широко применяется для исследования состава и химического картирования биологических образцов [1]. Основной принцип работы TOF-SIMS состоит в следующем: ионный пучок фокусируется на образец, выбивает вторичные ионы, которые затем направляются во времяпролетный масс-анализатор и разделяются в соответствии с соотношением массы к заряду m/z . Исследуемая поверхность разделяется на зоны – пиксели. С каждого пикселя размером, соответствующим размеру фокуса ионного пучка, записывается свой масс-спектр, что позволяет получить пространственное распределение химических веществ.

Для анализа ионных изображений важным параметром является полезное пространственное разрешение, т.е. минимальный размер объекта, который может быть разрешен. Очевидно, что полезное пространственное разрешение ограничено предельным размером фокуса первичного ионного пучка. Однако, из-за статистического характера данных полезное разрешение дополнительно ограничивается интенсивностью сигнала вторичных ионов. В работе было использовано два метода оценки полезного пространственного разрешения. Первый метод основан на расчете эффективности ионизации и определяет полезное пространственное разрешение как длину стороны наименьшего квадрата, такого, что с площади квадрата данного размера можно детектировать четыре иона с рассматриваемой массой [2]. Второй метод основывается на анализе уже полученного ионного изображения, если оно содержит области с четкими границами, например, контур клеточной мембраны. Толщина клеточной мембраны составляет 7-8 нм, что много меньше, чем размер пикселя, поэтому характерный размер перехода и будет оценкой полезного пространственного разрешения (рис. 1).

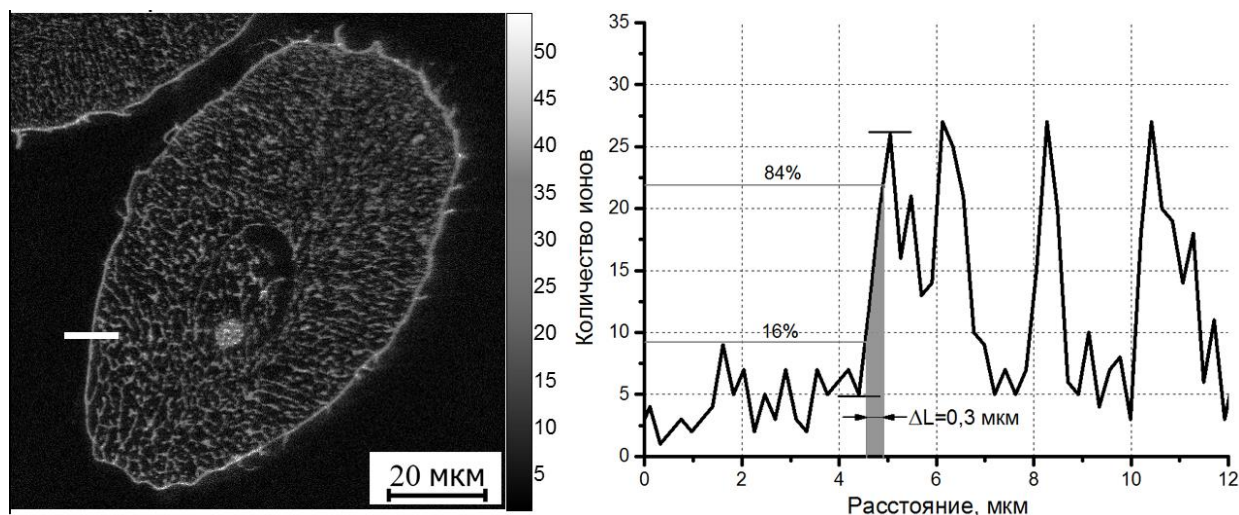


Рис. 1. Метод определения полезного пространственного разрешения по ионному изображению.

В качестве объекта в данной работе использовались срезы ооцитов C57Bl/6 мыши толщиной 2 мкм, залитые в эпоксидную смолу Епон. Для различных биологических ионов определено полезное пространственное разрешение при ионизации первичными ионами Bi_3^+ и Bi_3^{++} (таблица 1). Размер пикселя для данных ионов составлял 0.2 и 0.13 мкм соответственно.

Полезное пространственное разрешение для органических ионов, приведенных в таблице 1 и являющихся фрагментами аминокислот, липидов, АТФ и других биологических молекул, при ионизации Vi_3^+ составило 1-2 мкм, а при ионизации Vi_3^{++} - 0.2-1.5 мкм соответственно.

Таблица 1. Полезное пространственное разрешение.

Масса	Ион	Vi_3^+		Vi_3^{++}	
		Метод 1, мкм	Метод 2, мкм	Метод 1, мкм	Метод 2, мкм
23	Na^+	0.2*	-	0.13*	0.5
30	CH_4N^+	1.6	2.2	0.2	0.7
39	K^+	0.2*	0.5	0.13*	0.5
70	$\text{C}_4\text{H}_8\text{N}^+/\text{C}_3\text{H}_4\text{NO}^+$	1.5	1.6	0.2	0.8
86	$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}^+$	1.2	1.6	0.2	1.1
184	$\text{C}_5\text{H}_{15}\text{NPO}_4^+$	2.2	2.1	0.5	1.6
26	CN^-	0.2*	0.3	0.2	0.7
79	PO_3^-	0.4	0.9	0.3	0.7

*- пространственное разрешение ограничено размером пикселя.

Работа была выполнена в рамках проекта ПНИ Министерства Образования РФ Соглашение No. 14.604.21.0058 (уникальный идентификатор RFMEFI60414X0058).

Литература

1. *Fletcher J.S. and Vickerman J.C.* Secondary Ion Mass Spectrometry: Characterizing Complex Samples in Two and Three Dimensions. // *Analytical Chemistry*. 2013. V. 85. N. 2. P. 610.
2. *Brunelle A., Touboul D., and Laprevote O.* Biological tissue imaging with time-of-flight secondary ion mass spectrometry and cluster ion sources. // *Journal of Mass Spectrometry*. 2005. V. 40. N. 8. P. 985.