

在SCiLS Lab软件平台中为沃特世质谱成像数据提供本机数据支持，帮助探索多样品成像实验

Emrys Jones

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

仅供研究使用，不适用于诊断。

摘要

随着质谱成像(MSI)的应用范围不断扩大，人们在采用该技术的研究中也增加了更充分的设计考量。同时考察多个重复样品、时间点和对照品的情况非常常见，由此带来的挑战是，需要在同一分析环境中处理多个MSI数据集。

我们对小鼠携带的HCT116细胞系异种移植瘤进行了电喷雾解吸电离(DESI)质谱成像实验，旨在研究结直肠癌治疗中因缺氧引起的放疗抵抗。实验以组织的脂质组学特征对治疗的反应比较了不同辐照方案的差异。

为有效检视本研究中的数据，我们在SCiLS™ Lab软件中使用对沃特世数据全新部署的本机数据支持直接加载数据。在该平台内开展多变量分析，以鉴定不同分子，区分治疗后和未治疗的异种移植瘤。

优势

- 针对沃特世*.raw数据提供本机数据支持，意味着无需提前转换为*.imzML文件格式即可将数据加载到SCiLS Lab，优化了工作流程

- SCiLS Lab软件与Waters High Definition™软件(1.6)相辅相成，能够构建和保存多个数据集的项目，并且内置有各种统计工具
- SCiLS Lab软件是目前唯一支持MSI数据三维重建的商业软件（本文未显示数据）

简介

了解肿瘤异质性对治疗抵抗的作用是改善患者预后的关键所在。癌症中的低耗氧量（缺氧）是引起放疗抵抗的主要原因之一¹，不同肿瘤区域的氧气供应取决于一系列因素，即使是主要靠近血管的肿瘤，仍然可能存在一定体积具有较高的抵抗风险。

为此，针对这些组织的代谢组学和脂质组学研究必须考虑异质性，最合适的方法是开展MSI实验，绘制这些分子的分布图，然后用苏木精和伊红(H&E)对样品进行染色并获得光学显微镜图像，将化学图像与随后得出的组织学信息配准。在这些研究常用工具的完整工作流程中加入MSI后，它可以与免疫组织化学和原位杂交方法形成有力补充，从而全面理解整套系统。

采集不同治疗条件的肿瘤组织，速冻，然后在冷冻切片机上切片。使用Q-ToF质谱仪进行DESI MS成像分析，获得组织的非靶向分子图。然后使用Waters High Definition Imaging™ (HDI™)等软件来配准质谱图和光学图像，并检视不同分子在样品中的不同分布。绘制目标区域，并将数据导出至外部统计软件包中进行分析。

但是，当MS成像实验不止一个样品时，如何有效地比较这些数据成为一道难题。如果软件使用峰提取向用户呈现轻量级表示的数据，则必须如上所述，以可导入至合适统计软件包的格式导出数据。在大规模研究中，每个样品都必须以这种方式处理，确保所有数据在导出之前已经过同等处理。

本研究表明，SCiLS Lab软件解决方案能够将多个数据集合并到一个MS成像项目（包含通用、连续的 m/z 阵列）中，因此无需事先了解数据。该软件内置的统计分析可以从研究样品中得出生物学结论，本研究所的一系列磷脂因治疗类型而异。

结果与讨论

DESI条件

DESI溶剂:	95%甲醇:5%水
DESI溶剂流速:	2 μ L/min
DESI雾化器气压:	4 bar
DESI喷雾电压:	2.5 kV
成像像素大小:	70 μ m
工作台速度:	350 μ m/s

质谱条件

质谱系统:	Xevo™ G2-XS QToF四极杆飞行时间质谱仪
电离模式:	DESI负离子模式
采集模式:	Tof MS
采集范围:	50–1200 Da
MS扫描速率:	5 Hz
锥孔电压:	40 V

数据管理

质谱软件:	MassLynx™ v4.2
-------	----------------

成像和信息学软件：	Waters High Definition Imaging v1.6、SCiLS Lab 2021c (v9.02)
处理PC规格：	处理器：Intel™ Xeon CPU E5-2690 v4 安装的RAM：128 GB 操作系统：Windows™ 10 Pro GPU：NVIDIA Quadro™ K620
数据大小：	共18 GB原始数据
导入时间：	1小时18分钟

样品信息

本研究使用HCT-116细胞系移植后生长的结直肠癌肿瘤模型研究了三种治疗条件，分别是未治疗样品、第8天进行2x 2Gy辐照并采集的治疗中样品，以及在最终治疗后5天进行2 xGy辐照并采集的治疗后样品。

速冻异种移植样品并用冷冻切片机切片，用于i) DESI MS成像和ii)用哌莫硝唑对缺氧部位进行免疫荧光染色；两个切片的厚度均为12 μm。在DESI MS分析之后，将切片用苏木精和伊红染色，并用3D HISTECH PANNORAMIC™-250显微镜玻片扫描仪采集图像。

为了解不同治疗条件对异种移植植物生化特性的影响，将三个样品的DESI MS、光学和免疫荧光数据全部合并到单个SCiLS Lab项目中进行分析。

创建SCiLS Lab项目

将三个MS成像文件共18 GB数据导入SCiLS Lab软件，按照图1所述的工作流程进行操作。首先选择New（新建）选项（图1A），然后从支持的文件类型菜单中选择Waters MSI Instruments（Waters MSI仪器）（图1B）。在下一个界面上选择一个或多个原始数据文件（图1C-左侧）并排列在显示窗口中（图1C-右侧）。选中所有文件并正确排列后，在导入数据之前提供可选的处理步骤、*m/z*阵列重采样（默认选择）和基线扣除（无）。导入后，将显示报告界面（图1D）。本研究三个样品的总导入时间为1小时18分钟，如图所示。

SCiLS平台的一项特殊优势在于，对数据集所做的所有处理、配准和分析都存储在项目中，即使切换项目也不会丢

失已做的相关操作。

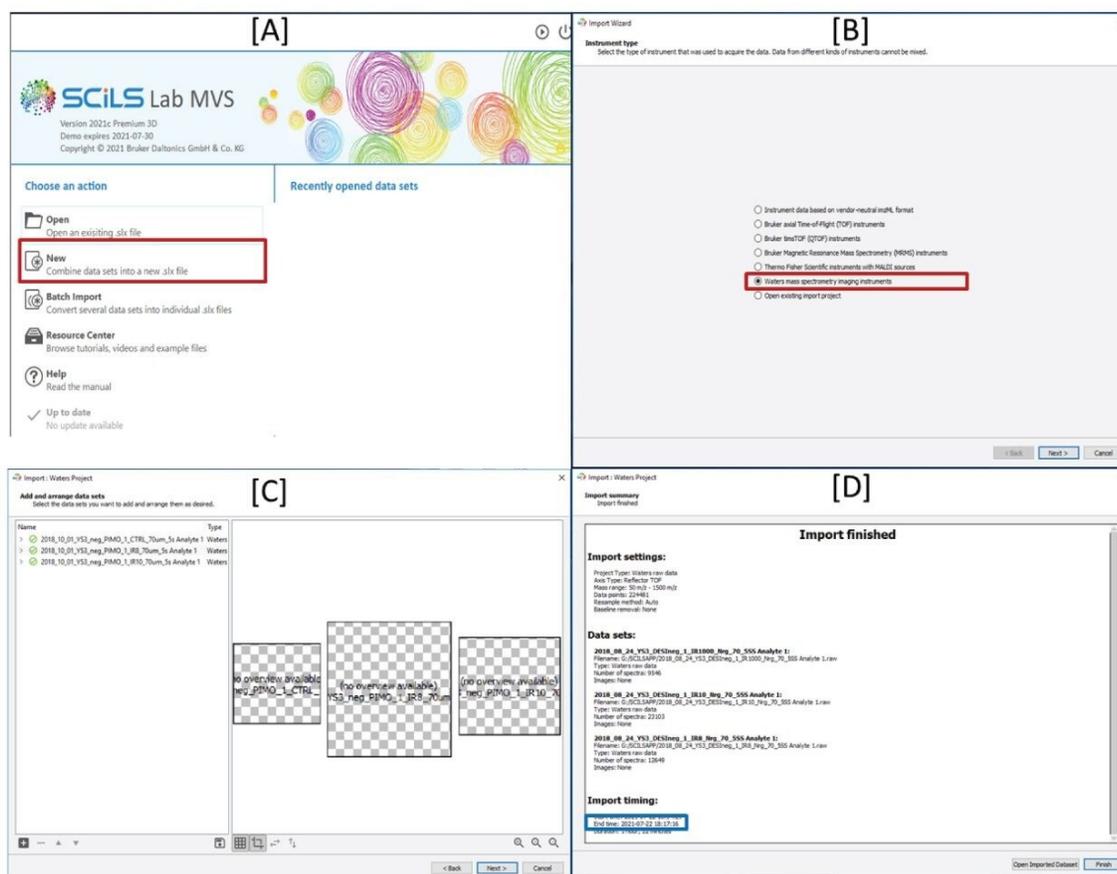


图1.从沃特世原始数据创建SCiLS Lab项目的工作流程。A)选择New（新建），将数据合并到新文件中；B)选择Waters mass spectrometry imaging instruments（沃特世质谱成像仪器）；C)浏览并选择所需的原始数据文件夹，排列并单击Next（下一步）；D)处理完成后，显示导入报告。

配准H&E和MS图像

为叠加MS和光学图像，逐个样品完成以下操作：File>Import>Optical Image（文件>导入>光学图像）。

选中光学图像后，打开对齐窗口，如图2所示。从下拉列表中选择正确的MS数据，通过确定MS图像（左上图）和光学图像（右上图）上相同的点来实施两点对齐法。在左下方窗格中评估所得的配准结果，并将其视为最佳清晰度的三个选项之一[乘、差、叠加]。

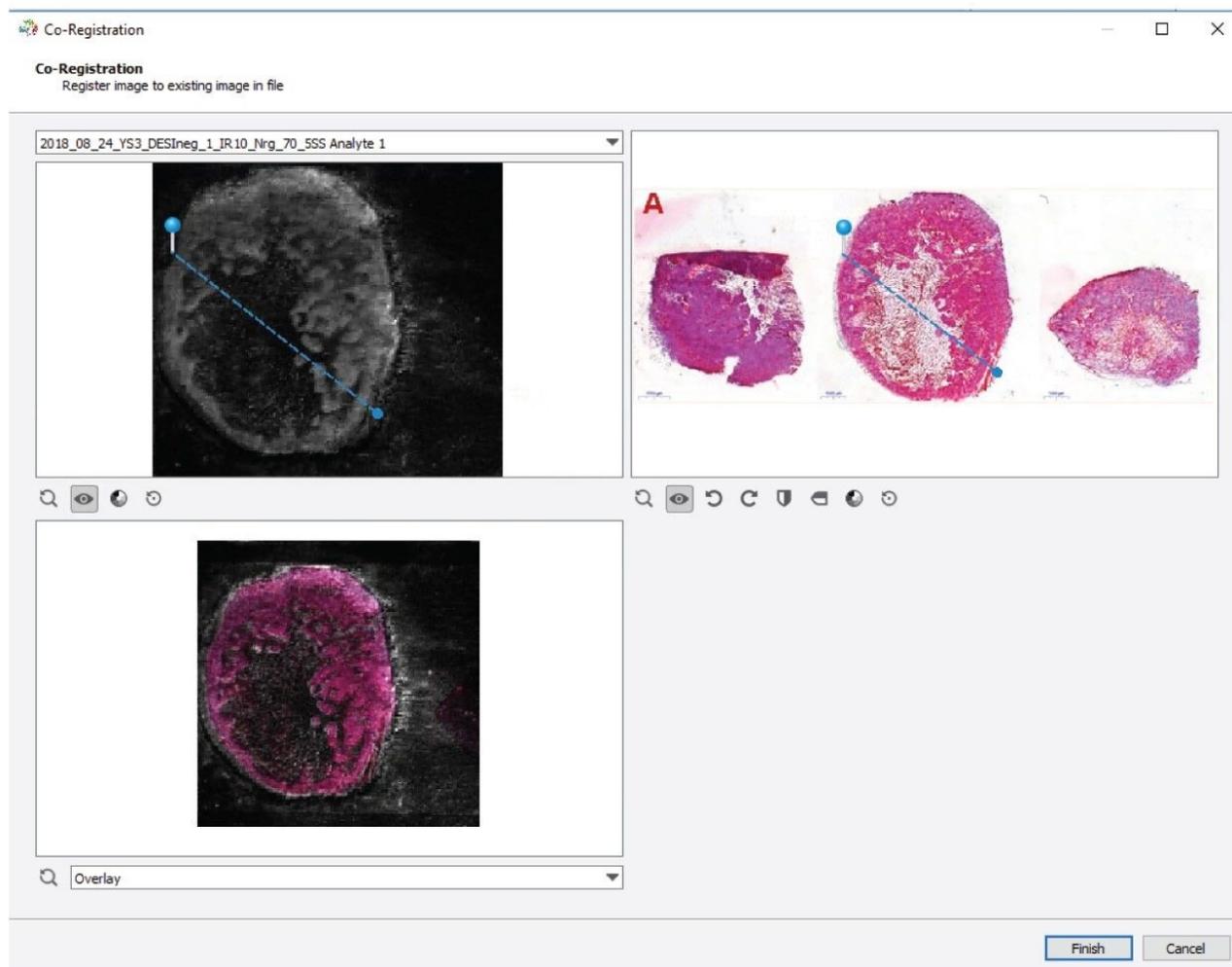


图2.在SCiLS Lab软件内叠加光学和MS数据的方法

比较离子分布

配准数据和光学图像后，从谱图中选择离子，将其可视化叠加到光学图像上。图3先显示了光学图像，然后在本例中选择一个峰(m/z 700.5)，将该离子图投射到光学图像上。根据该离子的分布可以看出，它与免疫荧光染色的结果具有良好的一致性，表明这种磷脂在肿瘤的缺氧区域内丰度更高。

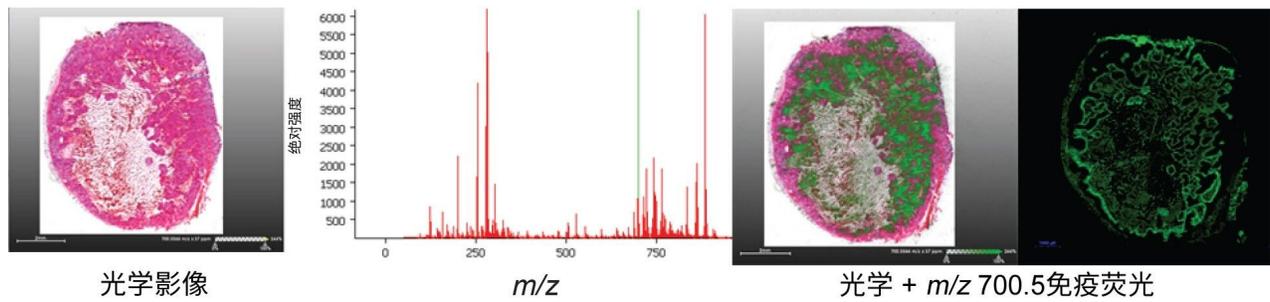


图3.将单个离子(m/z 700.5)叠加到H&E图像上

由于SCiLS Lab软件会将来自多重分析的所有数据导入单个项目，因此可以对一种离子实施相同的离子图选择方法，并在项目中检视所有样品。图4显示了三种脂质 (m/z 分别为885.6、700.5和687.6) 的红-绿-蓝叠加图，图中使用相同的离子描述了不同异种移植切片内相同类型的组织。



图4.同一项目中多个样品的多个离子分布图，以RGB叠加图显示： m/z 885.6（红色）、700.5（绿色）和687.6（蓝色）。

执行多变量分析

我们注意到，图4中选择的离子可映射到三个样品的常见组织类型（存活 - 红色、缺氧 - 绿色、坏死 - 蓝色），但本研究的目的是找出不同治疗方案之间的差异。为此，目标组织为存活区域，因此需要由用户进行选择。在图5中，我们看到三个目标区域被绘制到不同样品的存活肿瘤区域上，然后在右侧的Region（区域）选项卡中标记这些区域对应的治疗条件。

下一步是为分析创建峰列表，以缩短处理时间。

确定区域、创建峰列表并完成数据处理设置（图像去噪[此处选择不去噪]和归一化[此处选择TIC]）后，即可进行数据分析。SCiLS提供了一系列用于分割和统计分析的工具。在本研究中，我们将使用主成分分析(PCA)来确定负离子DESI数据能否区分这三种治疗类型。

从图6可以看出，三个异种移植类别明显区分，主成分1 (PC1)区分治疗后样品与未治疗样品，PC2区分治疗中和治疗后样品。从本研究所得分图附带的载荷图(Loadings Plot)中，可以选择最能说明数据变化的 m/z ，也可以从SCiLS Lab软件中创建强度箱线图以展示这些不同样品类型之间的分子种类差异。

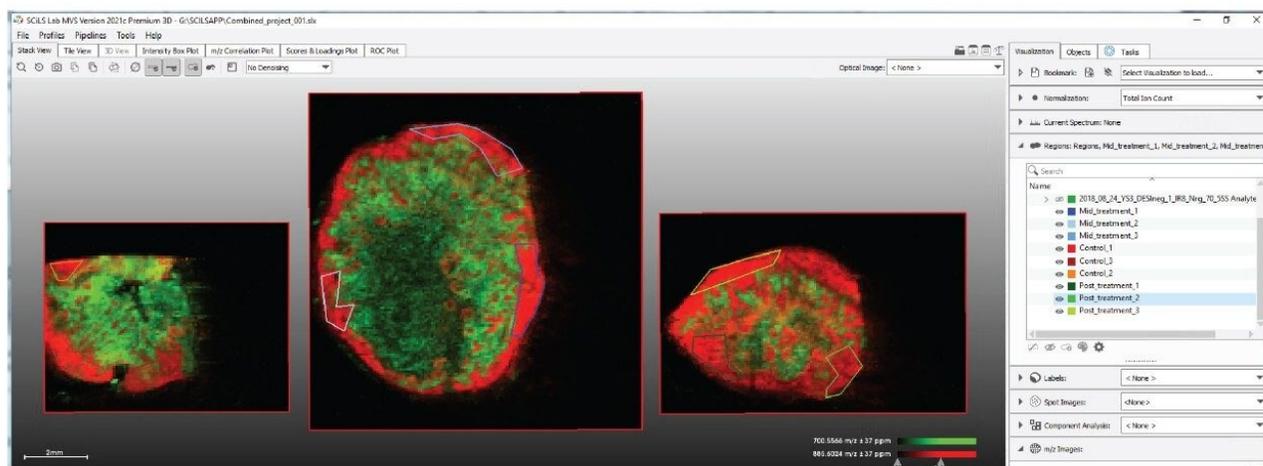


图5.绘制数据的目标区域（光学或MS定向）

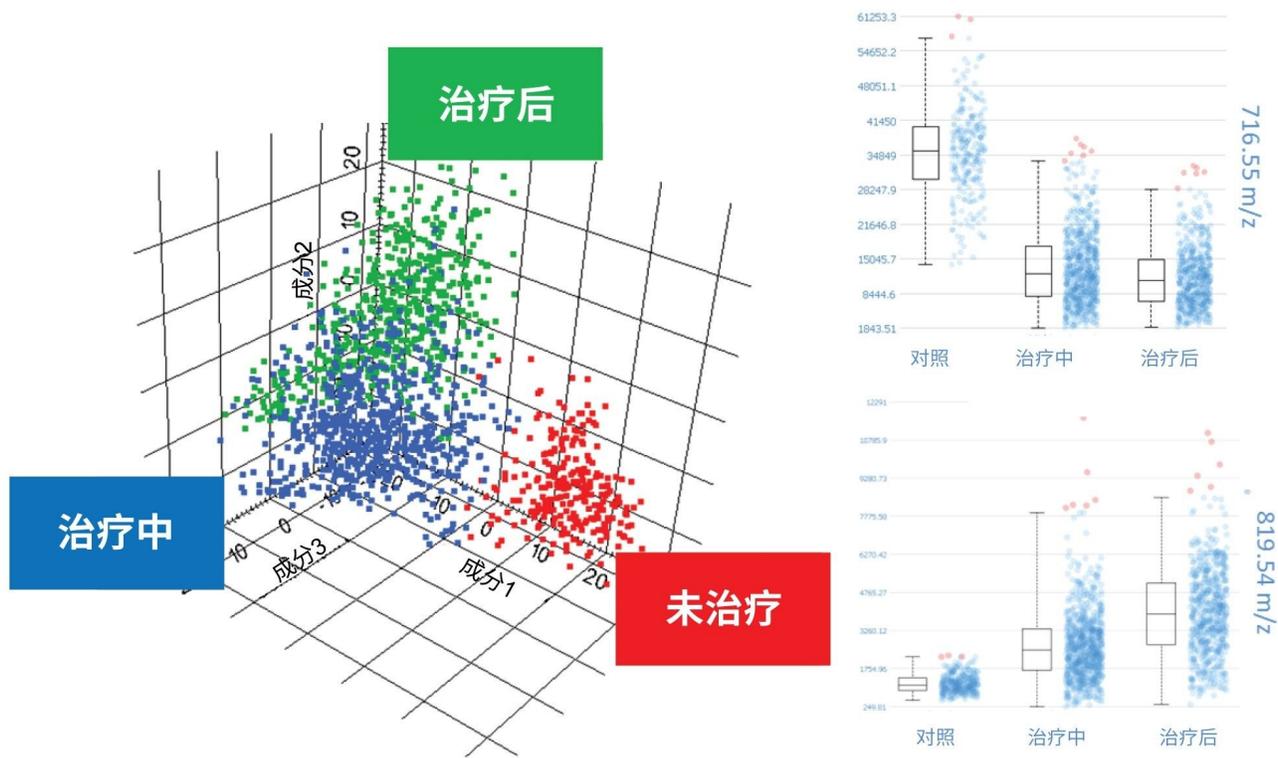


图6.区分出三种治疗类别的主成分分析(PCA)结果 (左) ; PCA载荷图中两种选定的重要离子的强度箱线图 (右)

结论

SCiLS™ Lab能够直接读取本机沃特世数据格式并创建项目 (将多个原始数据集合并到一起) , 是一种探索沃特世MS成像数据的有力工具。该软件可快速显示项目内所有样品中选定的离子。多变量分析的开展非常方便, 所有操作均在同一界面完成, 有助于更深入地理解数据。应用的所有数据处理操作均已存储到项目中, 方便日后回顾数据分析, 确保不会丢失已做的相关操作。

致谢

Waters、High Definition、High Definition Imaging、HDI、Xevo和MassLynx是沃特世科技公司的商标。

SCiLS™ Lab是Bruker Daltonics GmbH & Co.KG的商标。

Intel是Intel Corporation或其子公司的商标。

Windows是Microsoft Corporation或其子公司的商标。

NVIDIA Quadro是Nvidia Corporation的商标。

PANNORAMIC是3DHISTECH的商标。

特色产品

[Xevo G2-XS QToF四极杆飞行时间质谱仪 <https://www.waters.com/134798222>](https://www.waters.com/134798222)

[DESI XS <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135047466>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135047466)

[MassLynx MS软件 <https://www.waters.com/513662>](https://www.waters.com/513662)

SCiLS Lab软件

[<https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/mass-spectrometry/ms-software/scils-lab.html>](https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/mass-spectrometry/ms-software/scils-lab.html)

720007400ZH, 2021年10月

© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)