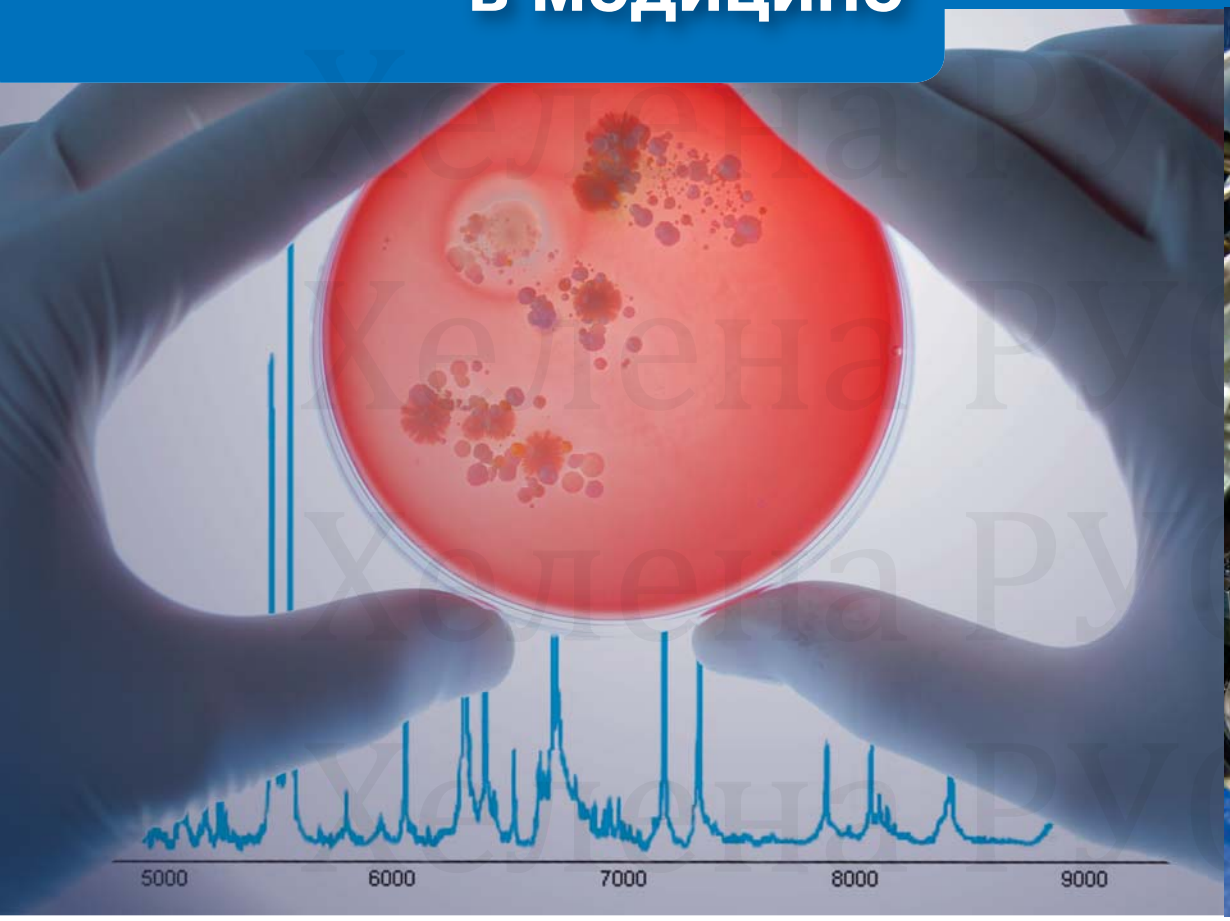
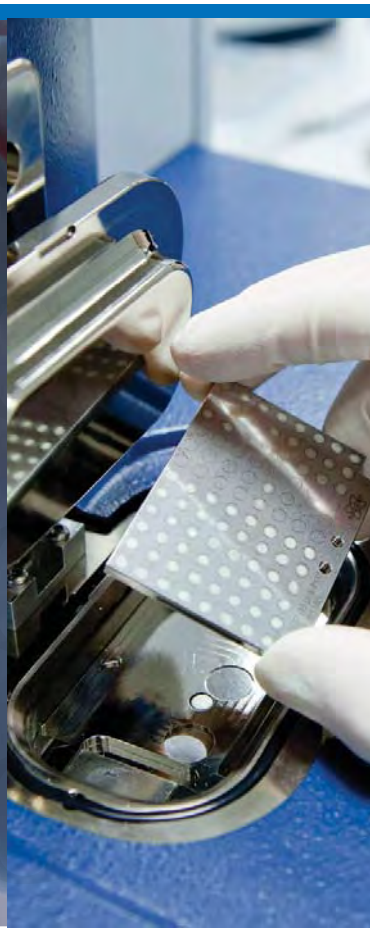
BRUKER

helena
Biosciences Europe

Масс-спектрометрия в медицине





MALDI-TOF
масс-спектрометрия

- **MALDI Biotyper** – экспресс идентификация микроорганизмов
- **GENOLINK** – генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов и оценка качества олигонуклеотидов
- **CLINPROT** – поиск пептидных маркеров заболеваний
- **ImagePrep** – непредвзятый поиск молекулярных маркеров на гистологических срезах
- **ProteinScape** – научные исследования в области протеомики

Хелена РУС

В микробиологии каждая минута на счету

Система MALDI Biotyper:

высокая точность

для широкого спектра микроорганизмов

значительно быстрее традиционных методов

высокая рентабельность

надёжна и проста в использовании

Мощная технология для лучших результатов

Для решения ключевых проблем клинической микробиологии, компания Bruker использовала свой многолетний опыт, и создала по-настоящему новаторскую систему **MALDI Biotyper**, сочетающую высокую производительность, что изменило способ идентификации в лабораториях во всем мире.

Идентификация микроорганизмов по молекулярному «отпечатку пальца»

MALDI Biotyper идентифицирует микроорганизмы с использованием времяпролетной МАЛДИ масс-спектрометрии (**MALDI-TOF MS**). Метод выявляет уникальный набор белков – своеобразный «отпечаток пальца» МО. Идентификация происходит в основном по рибосомальным белкам, которые встречаются во всех микроорганизмах.
Биоинформационная модель основанная на анализе этих белков позволяет надёжно и точно проводить идентификацию конкретного микроорганизма до вида путём сопоставления получаемых масс-спектров белков с обширной базой данных.

Простая процедура для сложной платформы

Инновационная разработка. Эффективные и производительные анализы.

Система MALDI Biotyper была адаптирована для максимального облегчения работы при сохранении высокой надёжности получаемых результатов. Вы легко получите и обработаете результаты, даже не имея опыта масс-спектрометрии. Для анализа необходимо выполнить лишь несколько простых шагов по получению качественных масс-спектров. Программное обеспечение автоматизирует процесс накопления и анализа данных. В итоге система генерирует подробный отчет с результатами идентификации.

Для анализа требуется единичная колония или небольшая аликвота жидкой среды. Вся процедура требует всего несколько минут. При необходимости можно провести дополнительные процедуры экстракции белков, позволяющие анализировать позитивные гемокультуры, а также традиционно сложные для обычного бактериологического анализа микобактерии и грибы.

Хелена РУС

Идентификация? Легко!

Эффективный протокол для микробиологических лабораторий

Гибкий выбор формата исследования

Компания Bruker предлагает различные форматы мишеней для идентификации: стандартные и штрих-кодированные; одноразовые и многоразовые; на 24, 48 или 96 образцов. Вы сможете выбрать формат наиболее удобный для вашего стиля работы. Все мишени могут быть одновременно использованы вами, что обеспечивает максимальную гибкость работы с масс-спектрометром.

Нужен срочный анализ?

Не проблема. Достаточно приостановить исполняемый проект, заменить мишень и получить необходимые результаты в считанные минуты. Открытый дизайн системы позволяет работать «на подхвате» и легко проводить срочные анализы.

Бар-кодирование

Модификация MALDI Biotyper оснащённая бар-кодированием предотвратит случайные ошибки. Вы никогда не перепутаете мишень, проект или образцы.

Быстрая, простая и эффективная идентификация бактерий из положительной гемокультуры

Набор MALDI Sepsityper™ Kit

Применение набора MALDI Sepsityper в сочетании с MALDI Biotyper, позволяет идентифицировать 70-90% микроорганизмов в положительных образцах гемокультур.

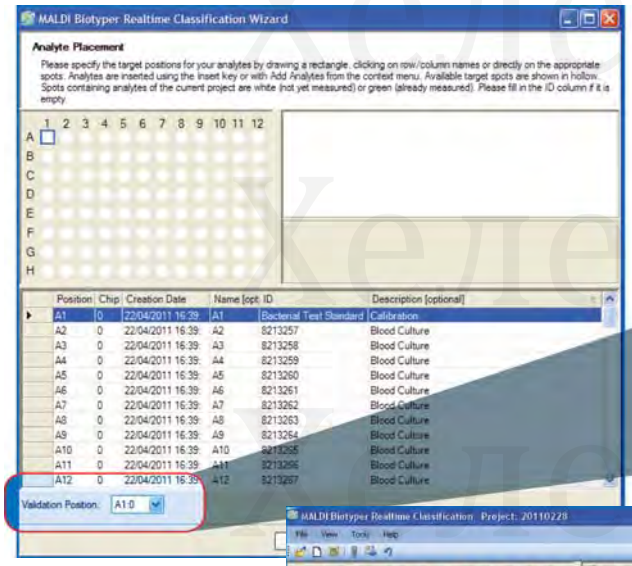
С MALDI Sepsityper Вы быстро получите достоверный результат. При анализе инфекций крови, идентификация будет проведена на день раньше по сравнению с «классическими» методами.

Протокол пробоподготовки

1. Отберите 1 мл гемокультуры в реакционную
2. Добавьте Lysis Buffer, перемешайте и отцентрифугируйте
3. Добавьте Washing Buffer перемешайте и отцентрифугируйте
4. Растворите осадок в воде
5. Проведите экстракцию белков по стандартному протоколу Bruker для идентификации микроорганизмов
6. Нанесите 1мкл экстракта на мишень и после высыхание покройте сверху HCCA-матрицей
7. Зарегистрируйте масс-спектры
8. Получите Результат

Хелена РУС

Интуитивно-понятное ПО
Специально для микробиологии

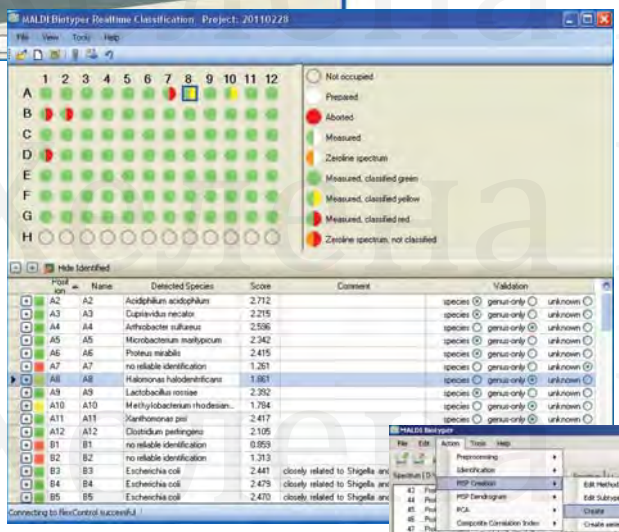


Программное обеспечение **Biotyper** является важным компонентом, обеспечивающим быструю и уверенную идентификацию микроорганизмов.

Запуск прибора занимает всего несколько минут. Пользователь последовательно заполняет всю регистрационную информацию необходимую для проведения анализа и правильного сохранения данных, следуя подсказкам системы.

Пользователь может любую позицию для нанесения образца для калибровки.

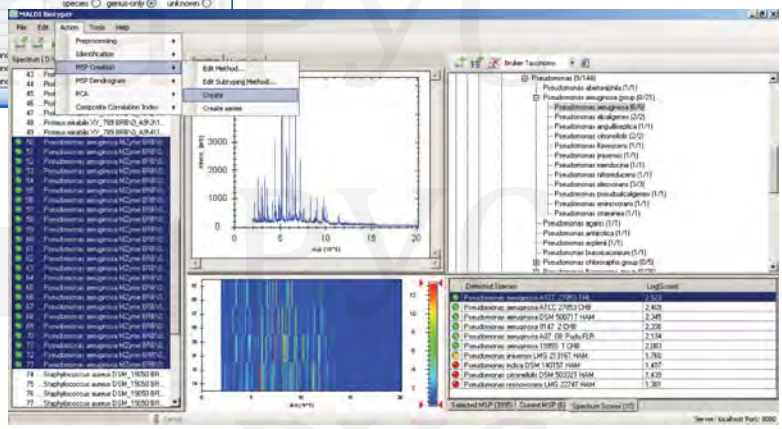
На чипе для анализа пользователь может разместить образцы из разных источников (колония, геммокультура) в любой удобной последовательности, что обеспечивает удобство нанесения и анализа результатов.

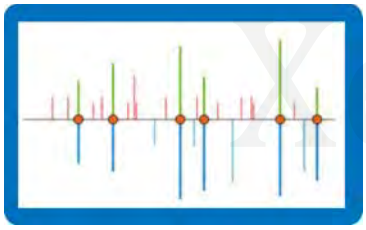


Новое поколение ПО **Biotyper 3.0** значительно упростило работу неподготовленного пользователя с масс-спектрометром. Пользовательская настройка масс-спектрометра, процесс получения масс-спектров, загрузка их в базу данных и многие другие рутинные операции **полностью автоматизированы**. После получения масс-спектра, программа начинает анализировать полученный результат, **одновременно** происходит получение данных уже следующего образца.

По результатам сверки с базой данных, в которой имеется информация более чем для **более чем 4600 штаммов** микроорганизмов, система выдает результат идентификации с учетом точности точности произведенной оценки.

Общий результат представляется в простой для восприятия цветовой шкале. Для опытных пользователей, имеется возможность экспертной оценки результатов, позволяющей оценить качество полученных масс-спектров и провести дополнительные сравнения с референсными значениями.





Принцип анализа **Biotyper** основан на сопоставлении полученных масс-спектров рибосомальных белков (зеленые пики) с базой данных содержащие аналогичные эталонные спектры для большинства микроорганизмов (синие пики). После нахождения уникального набора масс-пиков, программа выдает наиболее вероятный результат. При этом указывается условное значение Score, характеризующее качество и точность анализа.

Диапазон значений Score колеблется от **0 до 3**. Успешной считается интерпретация со Score от 2 до 3. Результат с оценкой более чем 2.3 считается высокодостоверным.

В случае если пользователь получает неудовлетворительные значения Score, необходимо повторно нанести исходную колонию на мишень и провести повторный анализ. **Простота процедуры** и **гибкость** системы Biotyper позволяет провести повторный анализ в течение получаса.

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+++)	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 THL	2.407	287
2 (+++)	Pseudomonas aeruginosa 8147_2 CHB	2.11	287
3 (++)	Pseudomonas aeruginosa DSM 50071T HAM	2.37	287
4 (++)	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 CHB	2.224	287
5 (++)	Pseudomonas aeruginosa 19955_1 CHB	2.183	287
6 (++)	Pseudomonas aeruginosa A07_08_Pseda FLR	2.017	287
7 (+)	Pseudomonas japonica LMG 21316T HAM	1.751	196616
	[illegible] DSM 50332T HAM	[illegible]	53408
	[illegible] DSM 14015T HAM	[illegible]	137658
	[illegible] LMG 22747T HAM	[illegible]	53412

Range	Description	Symbols	Color
2.300 .. 3.000	highly probable species identification	(+++)	green
2.000 .. 2.299	secure genus identification, probable species identification	(++)	green
1.700 .. 1.999	probable genus identification	(+)	yellow
0.000 .. 1.699	not reliable identification	(-)	red

Генетические исследования

Генотипирование **однонуклеотидных полиморфизмов** (англ. Single nucleotide polymorphism, SNP) является одной из самых распространённых задач современной молекулярной генетики, и связанной с ней КДЛ диагностикой.
Для современных КДЛ генотипирование SNP позволяет предоставлять пациенту информацию о предрасположенности к наиболее распространённым заболеваниям:

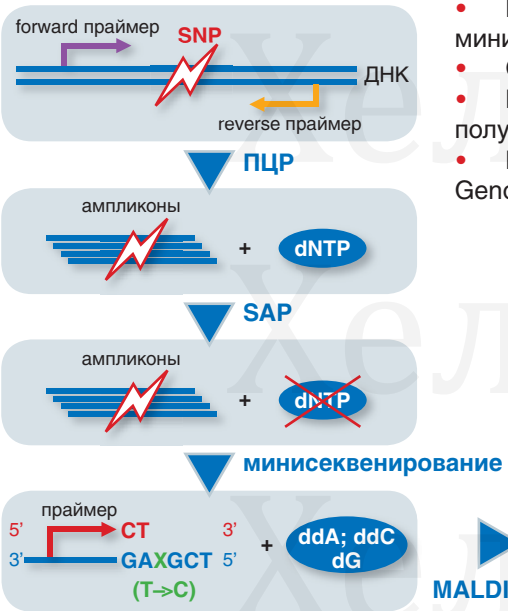
- Патологии свертываемости крови (тромбозы)
- Невынашивание беременности и патология плода (например, SNP ферментов метаболизма фолатов)
- Онкологические заболевания (рак груди, простаты, яичников, толстой кишки, легких)
- Индивидуальная реакция к некоторым лекарственным препаратам (варфарин, препараты химиотерапии)
- Болезни обмена
- Нарушение липидного обмена
- Диабет и ожирение
- Алкоголизм

Генотипирование SNP

Генотипирование с помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии – эффективная и высокопроизводительная технология, позволяющая быстро и относительно недорого идентифицировать **единичные нуклеотидные полиморфизмы (SNP).** Метод представляет собой сочетание реакции минисеквенирования ДНК и масс-спектрометрического анализа продуктов этой реакции. Такой подход позволяет достигнуть высокой **точности анализа** в сочетании с **высокой производительностью** и низкой себестоимостью расходных материалов. Принципиальным преимуществом способа является высокая чувствительность определения генотипов даже при использовании малых количеств ДНК и ее деградации.
Специально для задач генотипирования Bruker разработала программу Genotools. ПО быстро и эффективно интерпритирует данные генотипирования, в т.ч. мультиплексного.

Описание технологии MALDI-TOF минисеквенирования

Технология MALDI-TOF минисеквенирования может быть развернута на любом из приборов серии Flex компании Bruker (MicroFlex, AutoFlex, ultrafleXtreme).
Метод генотипирования с помощью MALDI-ToF минисеквенирования предполагает следующие этапы:



- Последовательное проведение реакций ПЦР, дефосфорилирования и минисеквенирования.
- Очистка продуктов на катион-обменной смоле.
- Проведение анализа очищенных продуктов реакции на масс-спектрометре с получением соответствующих масс-спектров.
- Компьютерный анализ полученных масс-спектров с помошью программы Genotools и выдача результата генотипирования.

Хелена РУС

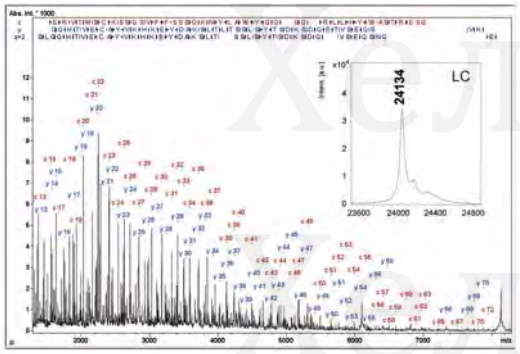
Протеомные исследования

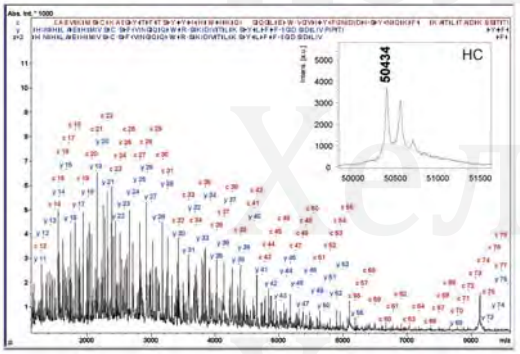
Основным предметом протеомных исследований является идентификация и выявление различных модификаций пептидов и белков. Отвечая лучшим стандартам при анализе белковых последовательностей, масс-спектрометры **autoFlex** и **Ultraflextreme** обеспечивают широкий диапазон возможностей протеомных исследований, которые с легкостью отвечают любым потребностям исследователей от новичков и до опытных пользователей.
Масс-спектрометры Bruker позволяют проводить самые разнообразные исследования, предоставляя широкие возможности в протеомике.

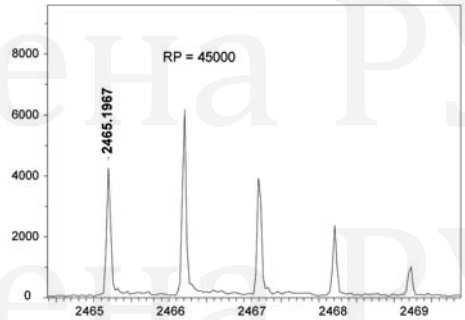
Идентификация Белков

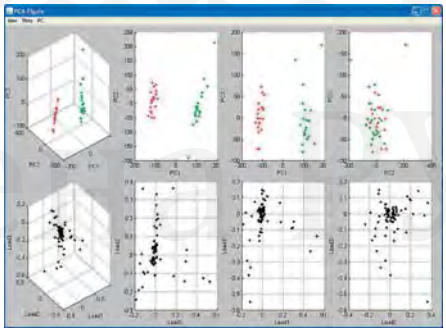
Bottom-up анализ позволяет идентифицировать исходный белок за счет анализа отдельных пептидов этих белков.

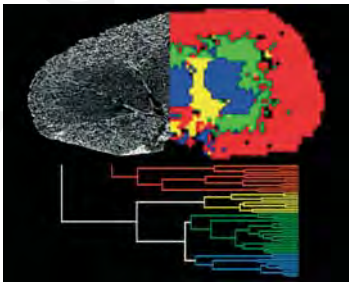
Top-down анализ или **Top-Down секвенирование (TDS)** позволяет идентифицировать белок путем изучения пептидов полученных в ходе его ферментативного гидролиза (чаще всего трипсинолиза).





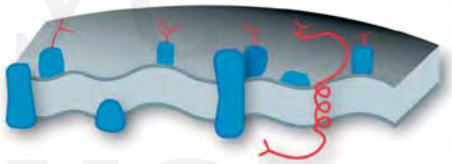






Анализ пост-трансляционных модификаций (PTM анализ)

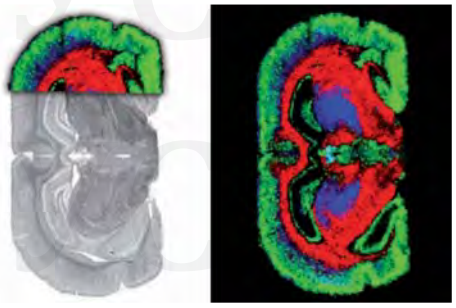
Постранслляционные модификации белков приводят к изменению их свойств, конформации, стабильности и активности. Такие модификации, как гликозилирование, фосфорилирование, присоединение остатков жирных кислот являются наиболее изучаемыми.



Молекулярная гистология

Компания Bruker представляет уникальную методику выявление белковых маркеров путем MALDI анализа биологических тканей. Наличие лазера с частотой 1 кГц и сфокусированного пятна диаметром 10 мкм позволяют поклеточно получать масс-спектры микротомных срезов.

Система позволяет произвести картирование гистологически охарактеризованных срезов на молекулярном уровне.



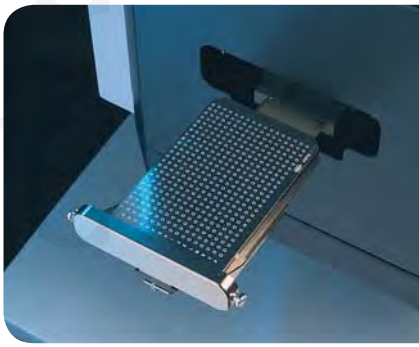
Хелена РУС

autoflex™

autoflex™ speed – высочайшая эффективность в MALDI TOF анализе

Масс-спектрометры серии **autoflex speed** разработаны с целью увеличения производительности в широком диапазоне приложений. Высокая скорость и производительность обеспечивается благодаря запатентованной лазерной технологии **smartbeam™-II**, базирующейся на твердотельном лазере с частотой генерации импульса **1000 Гц** и новейшей электронике. Чипы формата 384 с дополнительными 96 точками позволяют производить значительный объем анализов за один запуск прибора.

Серия масс-спектрометров autoflex speed включает в себя ряд технологических преимуществ, и запатентованных решений: **PAN™** (высокое разрешение и точность широком диапазоне масс), **FleshDetection™** (увеличение разрешения и чувствительности при анализе комплексных смесей), **Perpetual™** (возможность минимального технического обслуживание источника ионов путем быстрой посредством ИК излучения)
Базовая модель **autoflex speed L** может быть усовершенствована дополнительным отражательным модулем (модификация **LRF**), или дополнительной времяпролетной трубой для проведения тандемной масс-спектрометрии (модификация **TOF/TOF**)
Ключевой особенностью серии autoflex speed является простота в использовании как в традиционных МАЛДИ приложениях (анализ белков, пептидов, полимеров), так и в передовых областях (исследование распределения молекул в тканях, анализ гликанов). Сочетание надежности и универсальности делает серию autoflex speed идеальным выбором для широкого спектра приложений, таких как: протеомика, исследования биомаркеров, генотипирование SNP, молекулярная гистология/MALDI Imaging, анализ гликанов и гликопротеинов, идентификация микроорганизмов.



microflex™

Microflex LT – настольный MALDI-TOF MS для рутинных анализов

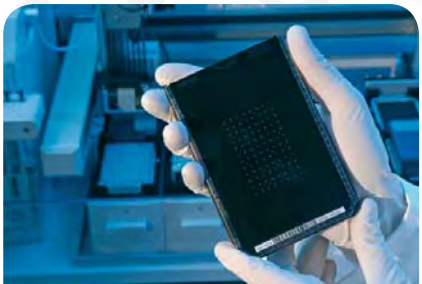
Компактная настольная MALDI-TOF система, работающая в линейном режиме, создана для простого использования, но обладающая высокой производительностью для решения основных задач. Этот доступный многоцелевой настольный MALDI-TOF масс-спектрометр разработан для целого ряда рутинных приложений, **для анализа протеинов и малых молекул**, в том числе и в клинической среде. Прибор управляется интегрированным комплексом программного обеспечения **Compass™**, которое интуитивно понятно даже непрофессиональным пользователям. **Microflex LT** надежен и удобен в использовании для многих клинических и химико-биологических лабораторий.

ultrafleXtreme™

ultrafleXtreme тандемный MALDI-TOF/TOF масс-спектрометр для высококлассного протеомного анализа

Масс-спектрометры серии ultrafleXtreme предназначены для проведения высокоточных анализов в области протеомики, таких как: определение **биомаркеров тканей** с помощью **MALDI Imaging, Top-Down секвенирование белков, LC-MALDI** анализ и многое другое.

Комбинация MALDI-TOF и TOF/TOF анализов в одном приборе позволяет добиться непревзойдённой разрешающей способности и производительности, что крайне важно при сринингoвых анализов в протеомике. ultrafleXtreme вместе с программным обеспечением **ProteinScape** способен проанализировать 7000 пептидов методом тандемной масс-спектрометрии менее чем за 8 часов.



Хелена РУС

Глоссарий

Масс-спектрометрия (MS) – **физический метод измерения отношения массы заряженных частиц материи (ионов) к их заряду.** Наибольшая эффективность и клиническая значимость применения масс-спектрометрии достигается при анализе нуклеиновых кислот (ДНК/РНК) и пептидов (белков). Масс-спектрометрический анализ биологических макромолекул позволяет решать широкий круг диагностических задач практической медицины.

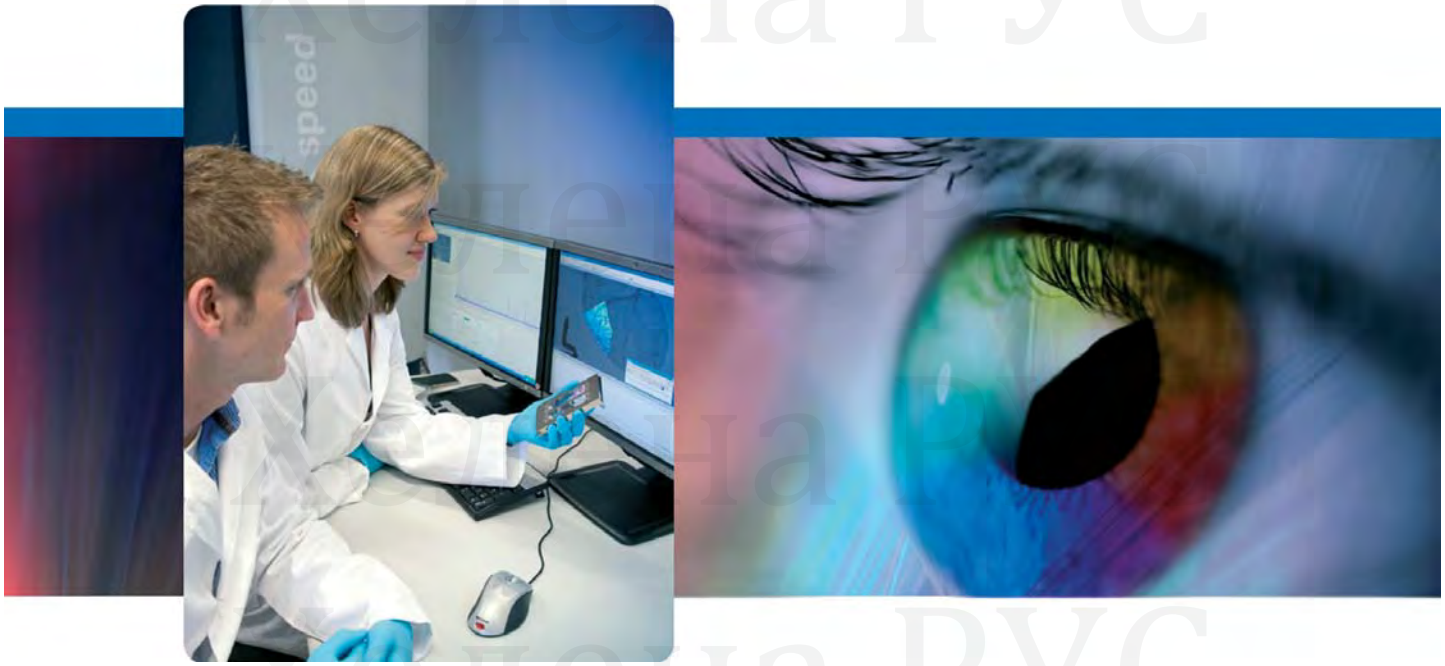
MALDI или МАЛДИ – **Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization** (Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация) десорбционный метод «мягкой» ионизации, обусловленной воздействием импульсами лазерного излучения на матрицу со-кристаллизованную с анализируемым веществом.

МАТРИЦА – **специальное вещество, ионизирующееся под воздействием лазерного излучения и вызывающее вторичную ионизацию** нейтральных молекул анализируемого вещества путем переноса протона (H+) или заряженной частицы в виде электрона (e-). Матрица позволяет получить ионы больших полимерных молекул, таких как олигонуклеотиды или пептиды без их разрушения, что позволяет проводить их масс-спектрометрический анализ.

ToF – **Time of Flight или времяпролетный метод разделения ионов**. После ионизации, молекулы поступают в систему разделения ионов. Для биологических макромолекул наиболее применим принцип разделения во времяпролетной трубе. Время, за которое молекула пролетает расстояние от источника ионов до детектора прямо пропорционально их массе (m) и обратно пропорционально заряду (z). Таким образом, после попадания на детектор и оцифровки результата, строится масс-спектр – график, по оси абсцисс которого находится соотношение m/z, а оси ординат количество ионов зарегистрированных детектором в конкретный момент времени.

Белковое профилирование – **метод прямого масс-спектрометрического анализа белковой фракции**, позволяющий получать уникальные для изучаемого объекта масс-спектры. Большое количество результирующих пиков на масс-спектре является репрезентативной фенотипической характеристикой при изучении микроорганизмов, белков плазмы крови, тканей сравнимой с отпечатком пальца.

Минисеквенирование – **метод генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) с детектированием продуктов реакции на MALDI-TOF масс-спектрометре**. Метод близок секвенированию по Сэнгеру. Продуктами реакции являются олигонуклеотиды отличающиеся по молекулярной массе в зависимости от аллеля SNP.



Компания Хелена-РУС является официальным дилером MALDI-ToF масс-спектрометров производства Bruker Daltonics в России. Наши специалисты обладают многолетним опытом масс-спектрометрического анализа. Мы всегда готовы оказать нашим клиентам своевременную консультацию и квалифицированную поддержку.

helena Biosciences Europe

ООО «Хелена РУС»
111116, г. Москва, ул. Красноказарменная, 19
Тел./Факс: (499) 947-02-67
www.helenabio.ru
e-mail: kostin@helenabio.ru

BRUKER

Хелена РУС