

Imageries par spectrométrie de masse ToF-SIMS et MALDI-ToF de souris entières pour suivre l'analyse de la distribution de lipides et de protéines dans différents organes

Alain Brunelle¹, Delphine Debois¹, Sheerin Khatib-Shahidi², Pierre Chaurand², Richard M. Caprioli², Olivier Laprèvote¹

¹ Laboratoire de Spectrométrie de Masse, ICSN / CNRS, 1 avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex
² Mass Spectrometry Research Center, Vanderbilt University, Nashville, TN, USA

Résumé

L'imagerie par spectrométrie de masse TOF-SIMS est devenue depuis quelques années un puissant outil d'analyse d'échantillons biologiques.¹ Encore récemment, seulement des petites parties d'animaux, comme le cerveau, pouvaient être analysées. Cependant, l'analyse d'un animal entier est d'un grand intérêt pour suivre le métabolisme de médicaments et l'expression de protéines. De tels travaux ont déjà été rapportés par Caprioli & al en imagerie par spectrométrie de masse MALDI-TOF.² Nous présentons ici pour la première fois une investigation en parallèle de coupes sériées de souris entière en utilisant les imageries TOF-SIMS-Agrégats et MALDI-TOF.

¹ A. Brunelle, D. Touboul and O. Laprèvote, J. Mass. Spectrom. 40, 985 (2005)

² S. Khatib-Shahidi, J. Herrema, E. Wickremasihne, T. A. Gillespie, R. M. Caprioli, Proc. of the 53rd ASMS, San Antonio, TX, (2005)

Moelle osseuse Muscle Intestin Rein Foie Cavité thoracique Cerveau



Utilisation de wafers de silicium

Les wafers de silicium (4 pouces) utilisés comme support offrent les avantages suivants:

- Surface parfaitement plane,
- Surface dépourvue de contaminants pour le SIMS (pas d'alcalins en ions positifs, ni d'oxydes métalliques en ions négatifs),
- Surface conductrice, ce qui dispense d'utiliser le canon à électrons de neutralisation habituellement nécessaire pour l'analyse de tissus.



Materiel et Méthodes

Une souris de contrôle a été sacrifiée et congelée. Des sections de 20 µm d'épaisseur du corps entier de l'animal ont été réalisées et transférées soit sur des wafers de silicium (SIMS) soit sur des plaques inox (MALDI MS).

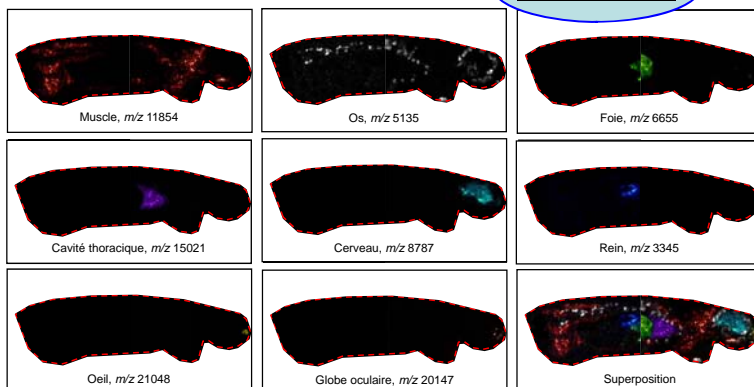
Sur la première section, les images sont acquises avec un spectromètre ToF-SIMS IV (Ion ToF GmbH) équipé d'une source d'agrégats de bismuth. L'énergie cinétique de ces ions est 25 keV, avec un angle d'incidence de 45°. La densité de dose d'ions primaires est 6.10⁸ ions.cm⁻². L'image de la souris entière est enregistrée en 3 parts, la tête, le corps et l'arrière. Chaque image a une surface de 28x28 mm², 256x256 pixels (65 536 pixels), taille de pixel 109 µm. Les images résultantes qui sont montrées ont donc une surface de 28x84 mm², i.e. 768x256 pixels (196 608 pixels). Aucun traitement informatique n'est appliqué aux données (compression, normalisation). Les images sont enregistrées en utilisant le logiciel IonImage (ION-TOF GmbH). Le temps d'acquisition de chaque image est ~4h (total 12h par polarité).

Sur la seconde section, les images sont enregistrées avec un spectromètre MALDI TOF MS Bruker Autoflex (Bruker Daltonics, Billerica, MA) équipé de la technologie Smartbeam™ à 20 kV de potentiel d'accélération en mode linéaire, après dépôt de la matrice (acide sinapinique) par spray atmosphérique. La souris entière est analysée en deux parties, l'avant puis l'arrière. Les spectres sont enregistrés avec une résolution latérale de 300 µm, pour un total de 18311 pixels. Les images sont obtenues en utilisant le logiciel Biompa (Novartis, Bâle, Suisse). La durée d'acquisition de chaque image est 7h (total 14h).

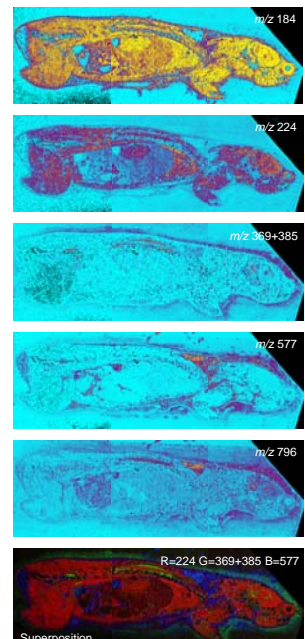
³ D. Touboul, F. Kollmer, E. Niehuis, A. Brunelle, O. Laprèvote, J. Am. Soc. Mass. Spectrom. 16, 1608 (2005).

Images MALDI –ToF Ions Positifs

MALDI-TOF

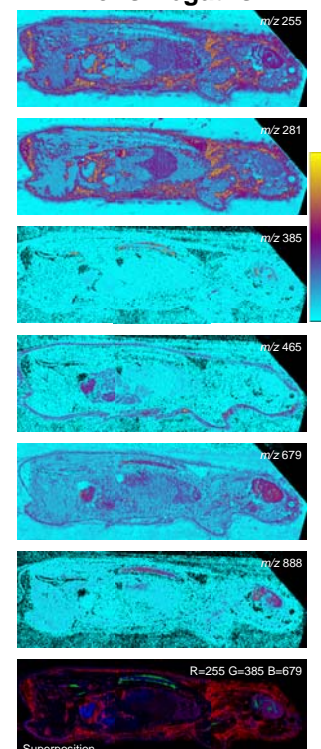


Images ToF-SIMS Ions Positifs



ToF-SIMS

Images ToF-SIMS Ions Négatifs



Ions dans les images ToF-SIMS

m/z	Ions Positifs
184	Phosphocholine
224	Fragment de Phosphoinositol
369+385	Fragment de Cholestérol + Cholestérol
577	Diglycérade
796	Somme des Phospholipides

m/z	Ions négatifs
255	Carboxylate d'acide gras C16
281	Carboxylate d'acide gras C18
385	Cholestérol
465	Sulfate de Cholestéryle
679	Acide Phosphatidique
888	Sulfatide

Conclusions

En imagerie TOF-SIMS, les images de signaux des ions à m/z 281, 283, 888 montrent bien certains organes comme le cerveau, le foie et les poumons. De nombreux autres pics sont très localisés et spécifiques à certains organes. Des résultats similaires ont été obtenus en imagerie MALDI pour des protéines de différents poids moléculaires. Par exemple, les protéines à m/z 5784 et 11855 sont spécifiques respectivement des os et des muscles. Enfin un ensemble de données seront acquises avec des souris traitées et sacrifiées à des temps différents après l'administration du produit, ce qui permettra de suivre la cinétique du métabolisme d'un médicament dans différents organes et de corréler ces informations avec des variations d'abondances de lipides et des changements dans l'expression de protéines.