

Caractérisation d'un micro-spotteur destiné à déposer des gouttelettes de matrice à la surface d'une coupe de tissu pour le profilage et l'imagerie MALDI

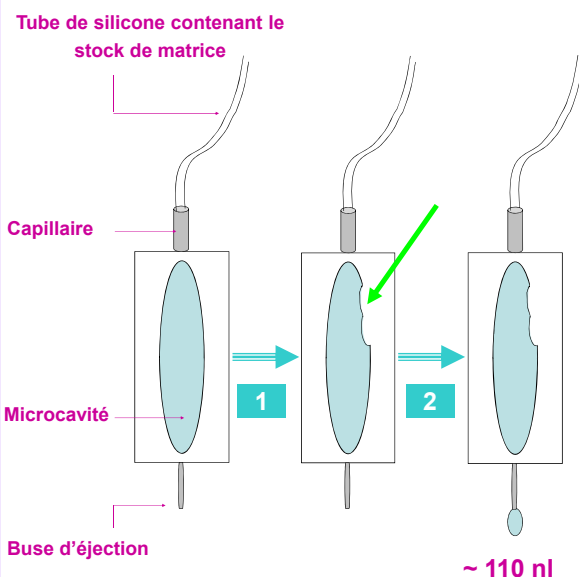
Farida MESSOUAF¹, Alain BRUNELLE¹, Jean-Pierre LE CAËR¹, Patrice CANAC², Olivier LAPRÉVOTE¹
¹Laboratoire de Spectrométrie de Masse, ICSN-CNRS, 1 Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette
²Siliflow SAS, 26 rue de Barthélémy de Laffenas, 26000 Valence

INTRODUCTION

Avec le développement de la spectrométrie de masse appliquée aux biomolécules (analyse de coupes de tissus...), de nouvelles méthodes de déposition des solutions de matrice sont devenues nécessaires^{1,2,3} afin de rendre plus précis, sensible et reproductible le profilage direct sur des coupes de tissu. Le prototype de robot spotteur développé par l'entreprise Siliflow fait partie de ces nouvelles méthodes.

PRINCIPE

Ce système est basé sur une microcavité contenant la solution de matrice et qui possède une paroi déformable. Une impulsion piézoélectrique effectuée par un quartz permet la dispense de gouttelettes de matrice. La buse d'éjection par laquelle la solution de matrice est rejetée permet d'obtenir des dépôts de matrice de l'ordre de 600 μm de diamètre (~ 110 nl).



CONCLUSION

Ce système permet :

- le dépôt de gouttelettes de matrice de l'ordre de 110 nl (soit un diamètre du dépôt de 600 μm) sur des coupes de tissu
- une meilleure précision des dépôts (zones spécifiques)
- une grande reproductibilité
- des dépôts homogènes
- une meilleure précision des mesures de masse

Le système d'éjection de gouttes du groupe Siliflow est en phase de développement (motorisation totale, informatisation des paramètres et mise en place de caméras de contrôle). Son automatisation est prévue prochainement.

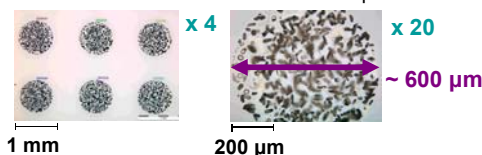
L'imagerie de tissus biologiques fait également partie des perspectives d'utilisations de ce système de dépôt.

RÉFÉRENCES

1. Aerni, H.-R.; Cornett, D. S.; Caprioli, R. M. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 827-834
2. Turcu F.; Tratsk-Nitz K.; Thanos S.; Schuhmann W.; Heiduschka P. *Journal of Neuroscience Methods* **2003**, *131*, 141-148
3. Bogan M. J.; Agnes G. R. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2004**, *15*, 486-495

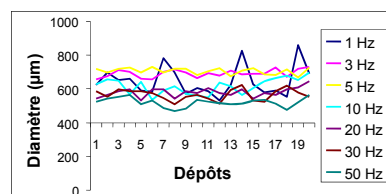
RÉSULTATS

1) Optimisation de la préparation de la solution de matrice. Une concentration de matrice à 20 mg/ml est la plus adaptée à ce système. Des conditions spécifiques de préparation sont nécessaires : sonication et centrifugation afin d'éviter les particules en suspension. Un solvant composé de 60% CH₃CN/40% H₂O TFA(0.1%) est le plus efficace. La taille minimale des dépôts possible est de 250 μm mais afin d'obtenir une bonne cristallisation une taille de ~ 600 μm est nécessaire.



Dépôts de gouttelettes de matrice (20 mg/ml) sur plaque MALDI en verre

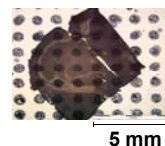
2) Optimisation des paramètres. Comme le montre le graphique suivant, la fréquence permettant des dépôts de gouttelettes de matrice de manière régulière avec un faible diamètre est de 50 Hz.



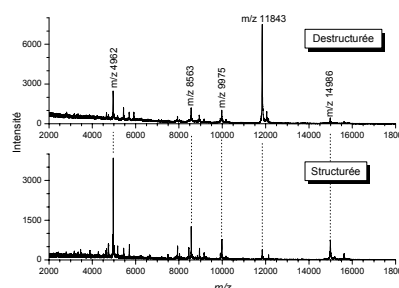
Influence de la fréquence (Hz) sur l'éjection des gouttelettes de matrice

Les autres paramètres importants sont la durée de l'impulsion (Pulse) et le voltage. Le pulse est fonction de la viscosité de la solution.

3) Optimisation des dépôts. La distance entre les dépôts peut varier afin de s'adapter à chaque utilisation. Ainsi, des dépôts ont été réalisés pour étudier la dystrophie musculaire de Duchenne sur des coupes de pattes de souris. Cette maladie conduit à la déstructuration des fibres musculaires. Des dépôts de gouttes à confluence seront prochainement utilisés pour l'acquisition d'images par spectrométrie de masse.



Dépôts de gouttelettes de matrice SA (20 mg/ml) sur une coupe de cerveau de souris



Spectres MALDI d'une zone déstructurée et d'une structurée sur une patte de souris dystrophique âgée de 3 semaines