

3D slikovna masna spektrometrija

Pri 3D slikovni masni spektrometriji se generira tri-dimenzionalna slika, ki nam pokaže molekularno razporeditev v celem organu ali živali. To naredi skozi registracijo in kopičenje delov tkiv. To naredimo tako, da uporabimo tanke dele tkiva, ki so na tarčnem mestu. Nato uporabimo laserski ali ionski žarek za desorpcijo tega tkiva. To povzroči nastanek masnih spektrov na diskretnih koordinatnih lokacijah. Osredotočili se bomo na SIMS in MALDI 3D IMS. Pri 3D SIMS slikovni obdelavi uporabljamo dva različna pristopa. Ena možnost je, da se zberejo individualne 2D slike nekega območja tkiva. Te slike se potem rekonstruira v 3D sliko. Pri drugem pristopu pa je posamičen biološki vzorec erodiran in slikovno obdelan. Slikovno obdelan je tako, da se generira več plasti masno spektralnih podatkov, s pomočjo »z-stackinga«. »Z-stacking« je tehnika, ki kombinira slike, posnete pri različni goriščni razdalji. Tako dobimo sliko z boljšo globino vidnega polja.

Razvoj 3D MALDI IMS je potekal skozi 4 pomembnejše eksperimente. Prvi (Cercelius et.al., 2005) je prinesel prvo 3D MALDI IMS rekonstrukcijo, in sicer lokalizacije mielina v mišjih možganih. Mišje možgane so narezali na tanke rezine, posneli optične slike in vsaki točki na sliki pripisali informacije, dobljene s slikovno MS, o količini analitov na tej točki. Serijo takih slik so z ustreznimi programi sestavili v 3D rekonstrukcijo. Druga raziskava (Anderson et.al., 2008) je prinesla možnost hkratnega analiziranja peptidov in proteinov z združevanjem dveh »z-stack«-ov v eno 3D sliko. Hkrati je tudi intenziteta barve na 3D sliki ustrezala relativni intenziteti vrha v masnem spektru. Tako je bilo mogoče poleg lokalizacije proteina opazovati tudi njegovo relativno količino. Leta 2008 je Sinha s sodelavci združil optično slikanje, slikovno MS in magnetno resonančno slikanje v en 3D prostor. Pri študiji miši s tumorjem na možganih so žive miši slikali z magnetno resonanco, nato pa jih žrtvovali in rezine možganov slikali optično ter z MALDI IMS. S primerjavo 3D IMS slike dveh proteinov z MR sliko so potrdili njuno domnevno povezavo s tumorjem, saj sta se nahajala točno na mestu tumorja. Chen in sodelavci so leta 2009 prvi mapirali peptide in lipide v možganih raka. Našli so izjeme v hipotezi o podobni distribuciji podobnih neuropeptidov in potrdili so logično lokalizacijo fosfoholinov ter sfingomielinov v možganih.

Vse zgoraj omenjene študije so bile izpeljane na možganih ali na glavi, kar je zaradi trdne lobanje omogočilo lažjo registracijo in rekonstrukcijo. Dandanes pa se raziskuje tudi druge dele telesa, kar predstavlja nove izzive za 3D rekonstrukcijo in koregistracijo, saj obstaja večje tveganje, da bi se žival premaknila med samo upodobitvijo. Zato so uvedli dodatne preparacijske tehnike. Vse zahteve za izvedbo preparacije vzorca za 2D IMS, se pojavijo tudi pri 3D IMS. Poleg tega, pa se pride še do dodatnih zahtev.

Zato da zagotovimo ponovljivost med rezinami, je pomembno, da uporabimo iste protokole za analizo vseh rezin ali delov. Na primer isto koncentracijo matriksa, isto sestavo topila za preparacijo vzorca. Priporočljivo je, da uporabimo robotni spotter ali razpršilec za vnos matriksa (za MALDI IMS), saj s tem zmanjšamo variabilnost teh korakov. Podatki iz masnega spektrometra bi morali biti pridobljeni iz iste naprave, ki uporablja iste parametre in metode. Še več, podatki morajo biti zbrani v tako kratkem času, da čim bolj zmanjšamo variacije v učinku in izvršitvi naprave.