

## **MALDI – IMS: trenutni posnetek molekul bioloških sistemov**

Z metodo MALDI-IMS preiskujemo porazdelitev molekul znotraj bioloških sistemov, preko direktne analize tankih predelov tkiv, kjer v eni sami meritvi določimo porazdelitev na stotine različnih delcev. Za razumevanje kompleksnih bioloških procesov, ki potekajo znotraj živih organizmov, ne zadostuje le poznavanje molekul, ki so v njih prisotne, temveč je potrebno poznati tudi molekule, ki sodelujejo v teh organizmih v vsakem trenutku njihovega razvoja. S takšno analizo molekul pridobimo kar največ informacij o preiskovanem vzorcu, katere nam povejo identiteto in porazdelitev vseh prisotnih molekul.

IMS je tehnologija, ki združuje merjenje  $m/z$  z masno spektrometrijo in proces zbiranja vzorcev s površin. Tako je omogočeno hitro lociranje in raziskovanje proteinov in manjših molekul, ki se nahajajo v preiskovanem tkivu. Vsakemu ionu je določena specifična lokacija v vzorcu, ki olajša prikazovanje informacij v obliki porazdelitvenih map, za vse ione izmerjene z masno spektrometrijo.

Z MALDI-IMS lahko analiziramo molekule različnih velikosti (od majhnih molekul do večjih proteinov). Metoda se je uporabljala za študij intaktnih celic, tako so nastali karakteristični molekulski fingerprinti. Sčasoma se je pokazalo, da lahko prostorsko sliko molekul pridobimo tudi iz dvo-dimenzionalnih porazdelitev v MALDI masnem spektrometru, katero dobimo direktno iz tankih predelov tkiv. To vidimo kot izris intenzitete ionov na koordinatnih oseh  $x$  in  $y$ . Glavna prednost metode je, da ne potrebuje molekulsko specifičnih oznak za lajšanje detekcije in predznanja o proteomu tkiva. Omogočeno je iskanje informacij o proteinih, ki so v celici visoko izraženi in prav tako molekul, ki so izražene le za kratek čas v stopnji razvoja. Zaradi naštetih lastnosti in prednosti se uporablja za raziskave na področju bolezni in za uporabo farmacevtskih sredstev.

### **Metode:**

Vzorci tkiva so tipično 5-20  $\mu\text{m}$  tanke sekcije, prekrte z MALDI matriksom. Ko vzorec vstavimo v masni spektrometer, so spektri pridobljeni v različnih lokacijah površine vzorca, glede na že vnaprej določeno  $x, y$ , mrežo. Kot rezultat dobimo vrsto spektra v katerem je prikazan neodvisen molekulski profil v nekem določenem območju, ki ga obsevamo z laserjem. Posamezno celico v mreži, lahko smatramo kot »piksel«, ki je sestavljen iz spektra tisočih signalov izmerjene mase in intenzitete. Intenziteta dobljenega signala oz. kombinacija signalov je nato izrisana v originalni koordinatni sistem in s tem ustvari sliko signala, ki je prešel površino vzorca. Možnost nastanka molekulske degradacije, ki se pojavi v času med zbiranjem vzorca in analizo, lahko močno vpliva na rezultate. Ko vzorce zberemo jih takoj zamrznemo, vse dokler jih ne razrežemo na kriomikrotomu in uporabimo za analizo. Ko se izbrane sekcije razrežejo, se prenesejo in pritrdijo na MALDI ploščo.

Za uspešno pridobitev rezultatov je zelo pomembno pravilno nanašanje MALDI matrice na stekelce s preparatom. Najpogosteje se uporabljajo aerosolni spreji, vendar moramo biti pri nanašanju matrice zelo previdni. Če nanesemo preveč matrice, s tem povečamo možnost migriranja analita stran od lokacije izvora, ob premajhni količini nanešene matrice pa ne moremo analizirati vseh analitov, prisotnih v vzorcu. Avtomatični spreji minimalizirajo možnosti nepravilnega nanosa. Alternativa aerosolnim sprejem je nanos matrične raztopine v vzorec v obliki majhnih kapljic s preciznim injektorjem.

Obeti za MALDI-IMS so pozitivni in z veliko možnostmi za nadaljnjo rast in razvoj. Ko postanejo instrumenti bolj dostopni in se učinkovitost izboljša oz. nadgradi, takrat bo več preiskovalcev preučevalo to tehnologijo in jo uporabljalo za nove aplikacije.

Janja Juvančič  
Kaja Rupar  
November, 2012