

Optimización de un método de deposición de matriz mediante evaporación en capa fina para el análisis de tejidos biológicos con Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization–Time of Flight Imaging

Máster en técnicas cromatográficas aplicadas

Autora: Cristina Gómez Serna

Supervisor académico: Francesc Borrull Ballarín

Supervisora profesional: María García-Altarex Pérez

Introducción

La espectrometría de masas en imágenes (MSI) es una tecnología capaz de visualizar la distribución espacial de las moléculas en tejidos biológicos. La técnica de ionización Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI) es una de las más utilizadas para analizar muestras biológicas por MSI, puesto que es una técnica de ionización suave que permite obtener la molécula completa sin fragmentarla. Habitualmente MALDI, se utiliza en combinación con el tiempo de vuelo (TOF) como analizador de espectrometría de masas.

La fuente de ionización MALDI requiere una “matriz” (una molécula orgánica pequeña que absorbe la radiación del láser) que cubra la muestra a analizar para poder ionizarla. Para cubrir la muestra con matriz existen diferentes técnicas. En el presente estudio se pretende optimizar un método de deposición de matriz con un evaporador en capa fina de baja temperatura usando como matriz el compuesto 2,5- ácido dihidroxibenzoico (2,5-DHB).

Objetivos

Los objetivos del estudio han sido: 1) Validar la precisión del evaporador a la hora de evaporar una capa fina de compuesto, tanto la repetibilidad como la reproducibilidad. 2) Optimizar el grosor de capa de matriz adecuado para el análisis de tejido biológico en MSI. 3) Valorar la necesidad de introducir una etapa de rehidratación para mejorar la interacción matriz-analito y así mejorar la calidad de las imágenes y espectros obtenidos con MALDI-TOF.

Metodología

En primer lugar, para validar la precisión del evaporador para depositar matrices orgánicas se estudiaron los siguientes parámetros: la cantidad de matriz, el grosor de la capa creada y la homogeneidad de la misma.

En segundo lugar, para optimizar el grosor adecuado para el análisis de tejido biológico en MALDI se estudiaron diferentes grosores de capa, se analizó la homogeneidad de la capa, y las muestras de hígado se analizaron por MALDI-TOF.

Por último, para el estudio de la recristalización se compararon dos muestras de cerebro de ratón, una de ellas sin recristalizar y la otra recristalizada y fueron analizadas en MALDI-TOF.

Resultados y discusión

Como resultados se obtuvo en cuanto a la precisión del evaporador, un grosor de capa de $699,4 \pm 102,85$ nm, una cantidad de matriz depositada reproducible y una capa homogénea. El tiempo de deposición adecuado para proporcionar un grosor óptimo de matriz orgánica en la muestra es de 30 minutos. Puesto que, al disminuir el tiempo de deposición se obtiene una capa de matriz insuficiente para el análisis en MALDI-TOF, dando una señal de pico poco intensa, y al aumentar, se forman cristales de tamaños diferentes que producen una disminución de la resolución espacial.

El paso de rehidratación que se estudió en este proyecto no fue efectivo, creando cristales de gran tamaño en la muestra y dejando zonas sin matriz. Lo cual redujo la intensidad de señal en MALDI-TOF.

Conclusiones

El evaporador *nanoPVD-T15A* es reproducible en cuanto a la cantidad de 2,5-DHB depositado a 80°C, entre diferentes deposiciones del mismo día y diferentes días. El tiempo de deposición adecuado para obtener una capa óptima para el análisis en MALDI-TOF es de 30 minutos que equivale a un grosor de capa de $1,714 \pm 0,097$ µm para la matriz seleccionada. Y, por último, el paso de rehidratación no parece mejorar la intensidad general del espectro de masas se requieren más estudios para poder confirmar o refutar la afirmación.