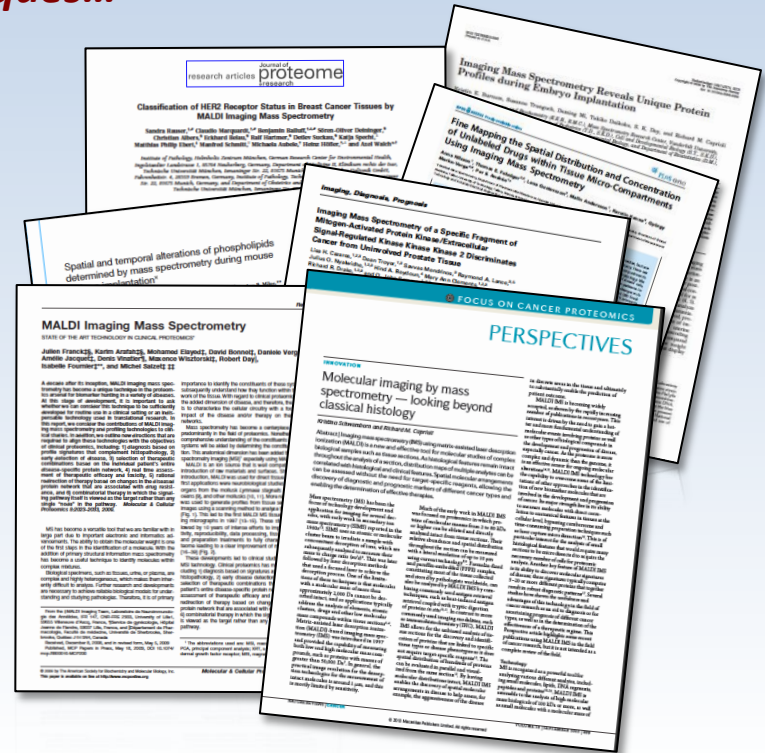
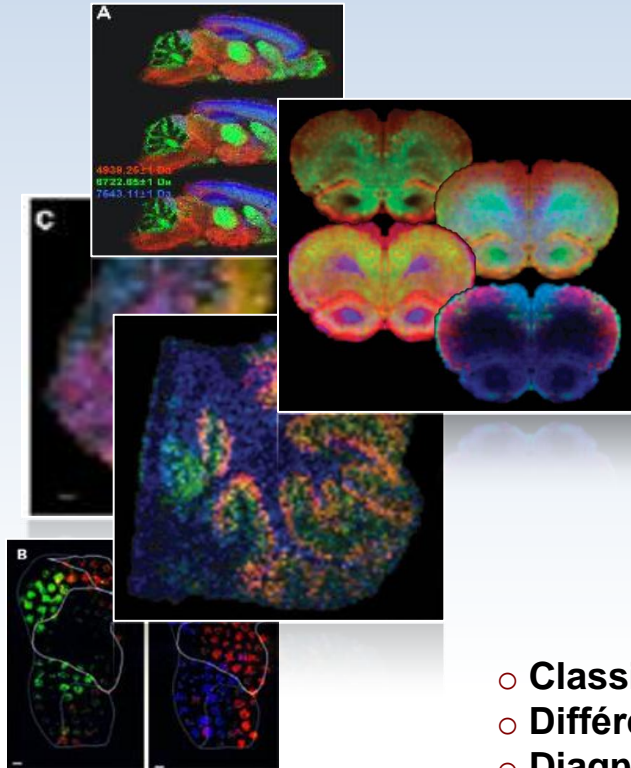


Imagerie MALDI: Concept, avantages et limites

charles.pineau@inserm.fr

Imagerie par spectrométrie de masse MALDI

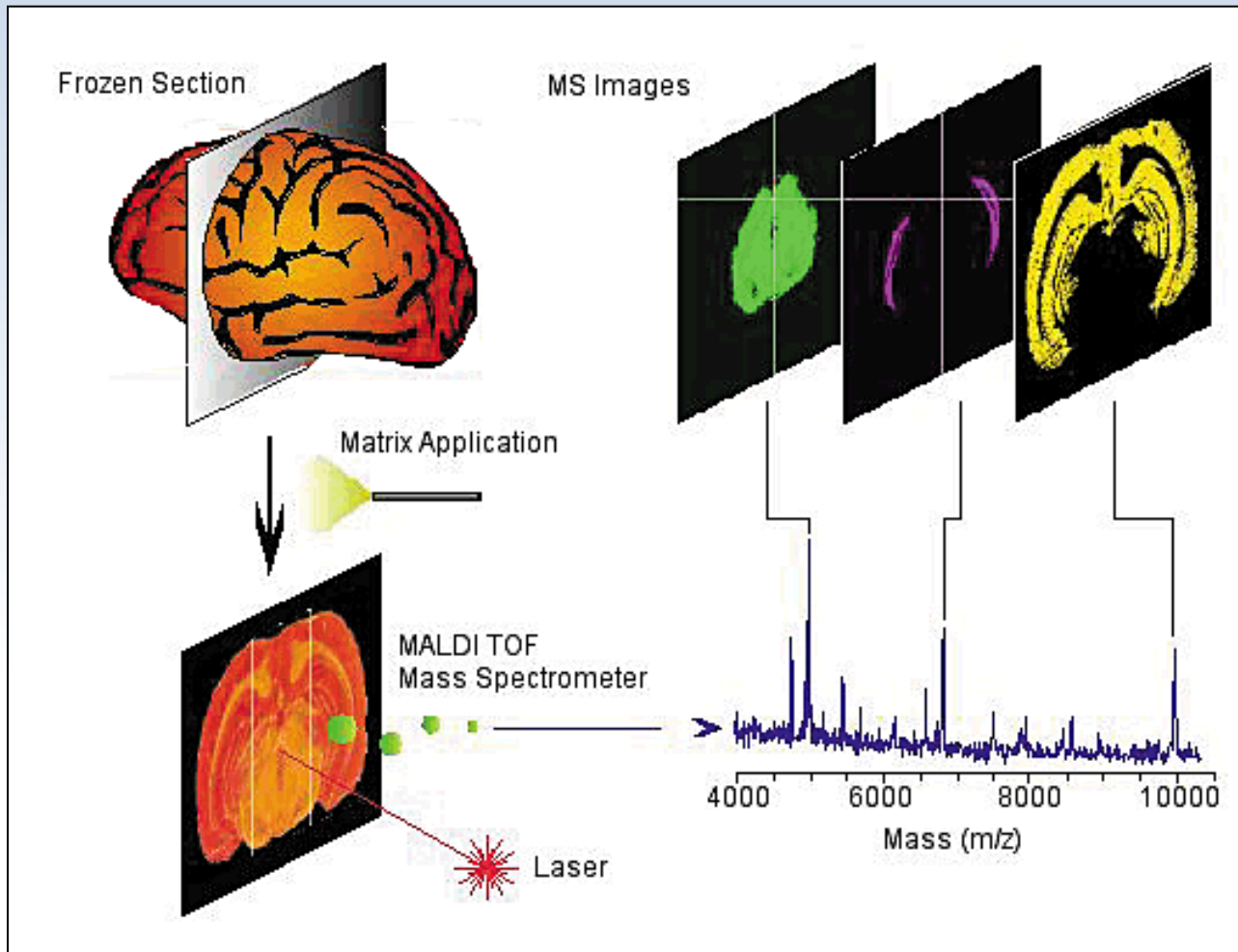
Un potentiel énorme pour les applications cliniques...



- Classification de tumeurs
- Différenciation d'états pathologiques
- Diagnostic précoce ou pronostic
- Mise en évidence de voies impliquées dans une pathologie
- Suivi de traitements pharmacologiques

Mais aussi un outil puissant pour l'analyse in situ de petites molécules, lipides, fragments d'ADN...

Le principe de l'imagerie par spectrométrie de masse MALDI



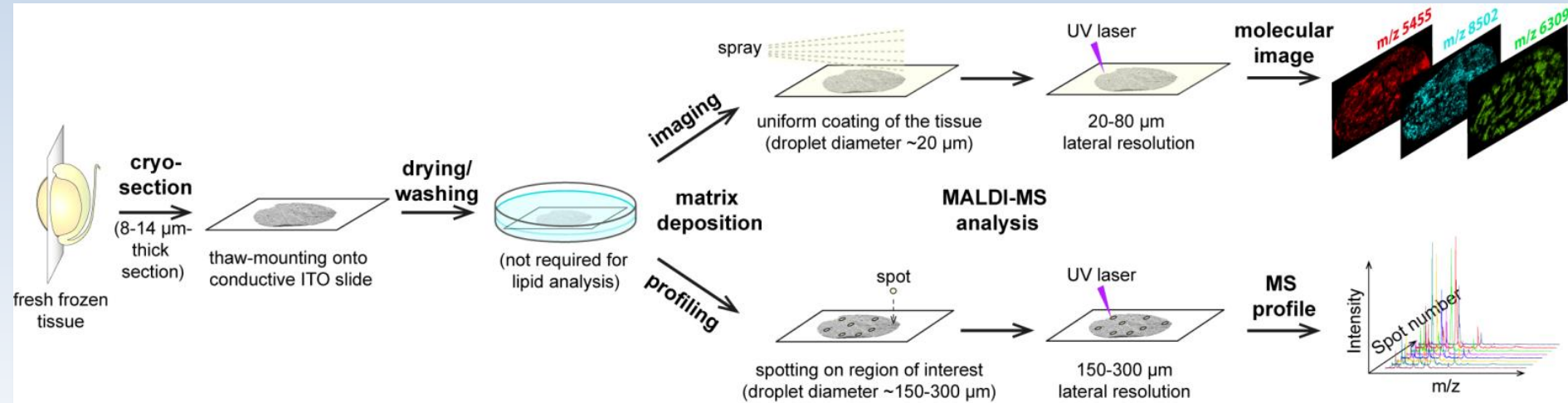
Pourquoi l'imagerie par spectrométrie de masse?

La protéomique sur tissus entraîne des contraintes importantes:

- Disponibilité des échantillons
- Extraction des protéines
- Abondance des protéines d'intérêt

- **Obtenir des informations sur la composition protéique dans chaque région du tissu**
- **Reconstruire une carte bidimensionnelle de la densité des ions (image) correspondant aux signaux détectés**
- **Comparer les profils moléculaires (images) entre un tissu normal et pathologique**

Quelle approche pour quelle question?

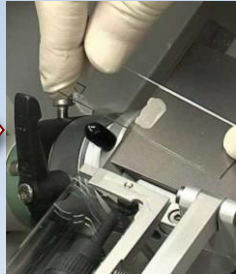


Imaging ou *Profiling* ?

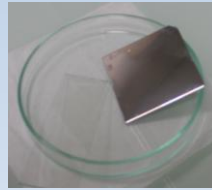
Imagerie MALDI - Workflow



Tissu
congelé



Cryosection



Etapes
de lavage



Application
de Matrice



Spectrométrie
de masse MALDI

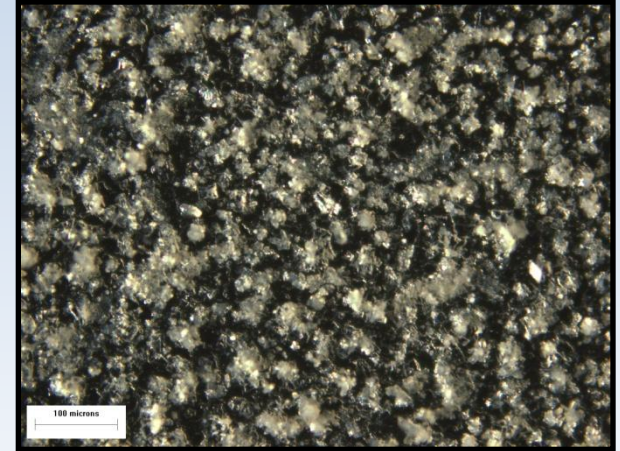
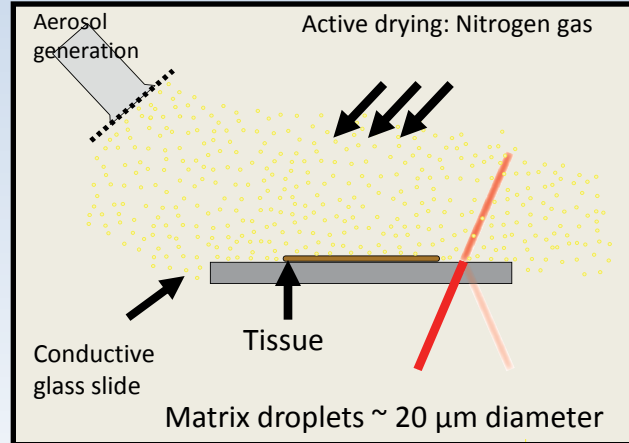
La résolution spatiale est un enjeu critique

Les travaux en cours

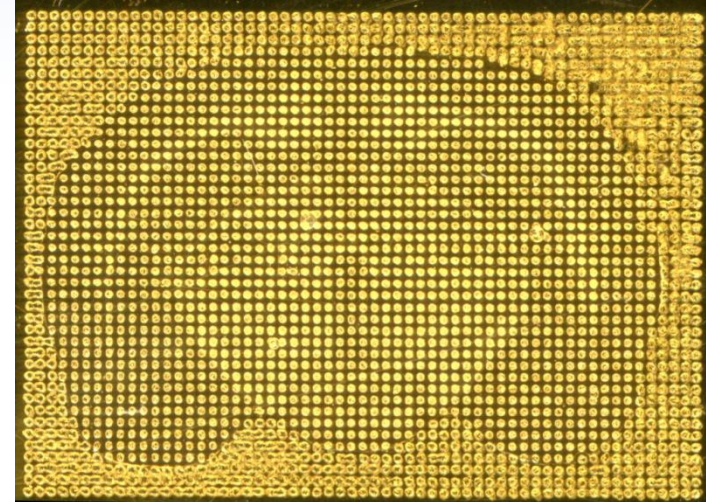
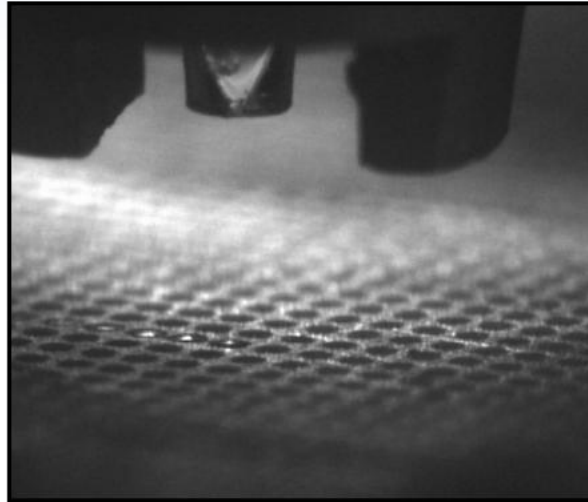
- ✓ **Amélioration et normalisation du signal, délocalisation, dégradation des peptides et des protéines** (*Seeley et al., 2008; Lemaire et al., 2006; Lagarrigue et al., 2011*)
- ✓ **Amélioration des protocoles de dépôt de matrice** (*Lagarrigue et al., 2011*)
- ✓ **Imagerie sur coupes paraffinées** (*Lemaire et al., 2007; Aerni et al., 2009; Casadonte & Caprioli, 2011*)
- ✓ **Nouveaux lasers et autres développements instrumentaux** (*Luxembourg et al. 2004; Chaurand et al., 2007; Lagarrigue et al., 2011*)

Application de matrice

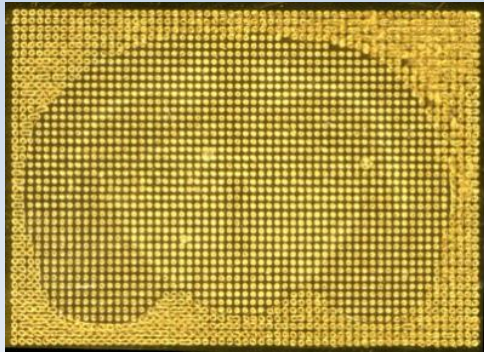
ImagePrep (*Bruker Daltonics*) – Vaporisation vibrationnelle



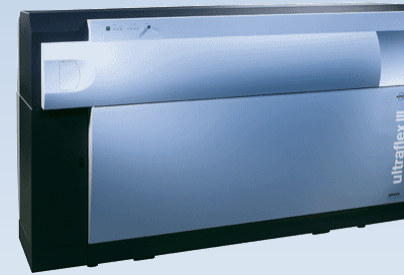
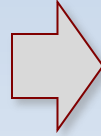
Chemical Inkjet Printer (*Shimadzu Biotech*) – Impression “jet d’encre”



Acquisition des images



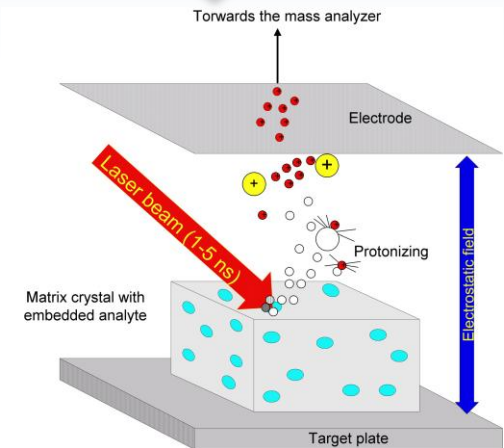
Section de tissu
dépôt de matrice par Spotting



Spectrométrie de masse MALDI

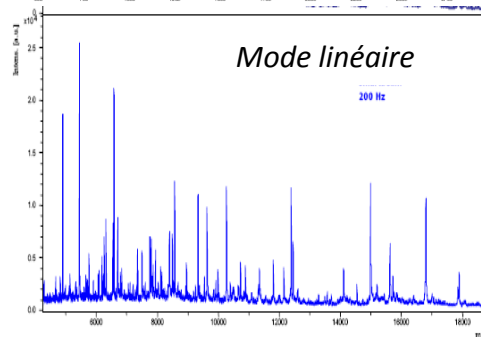
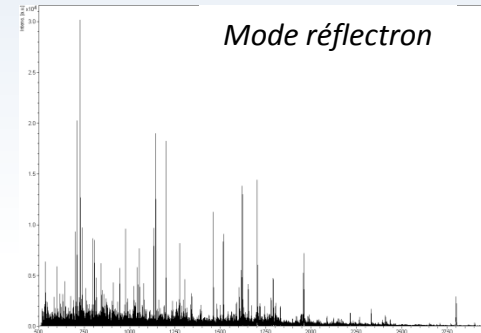


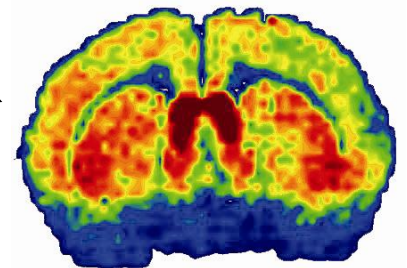
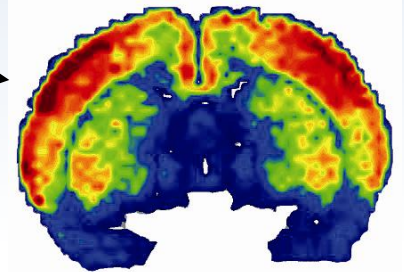
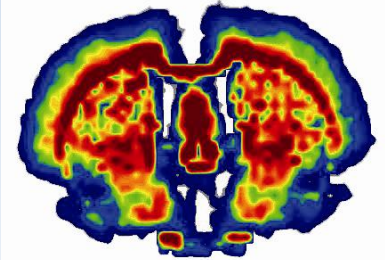
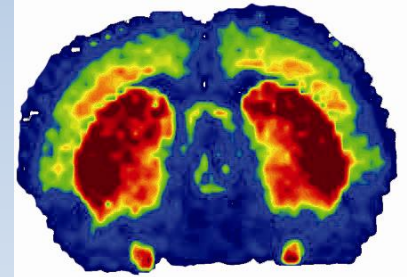
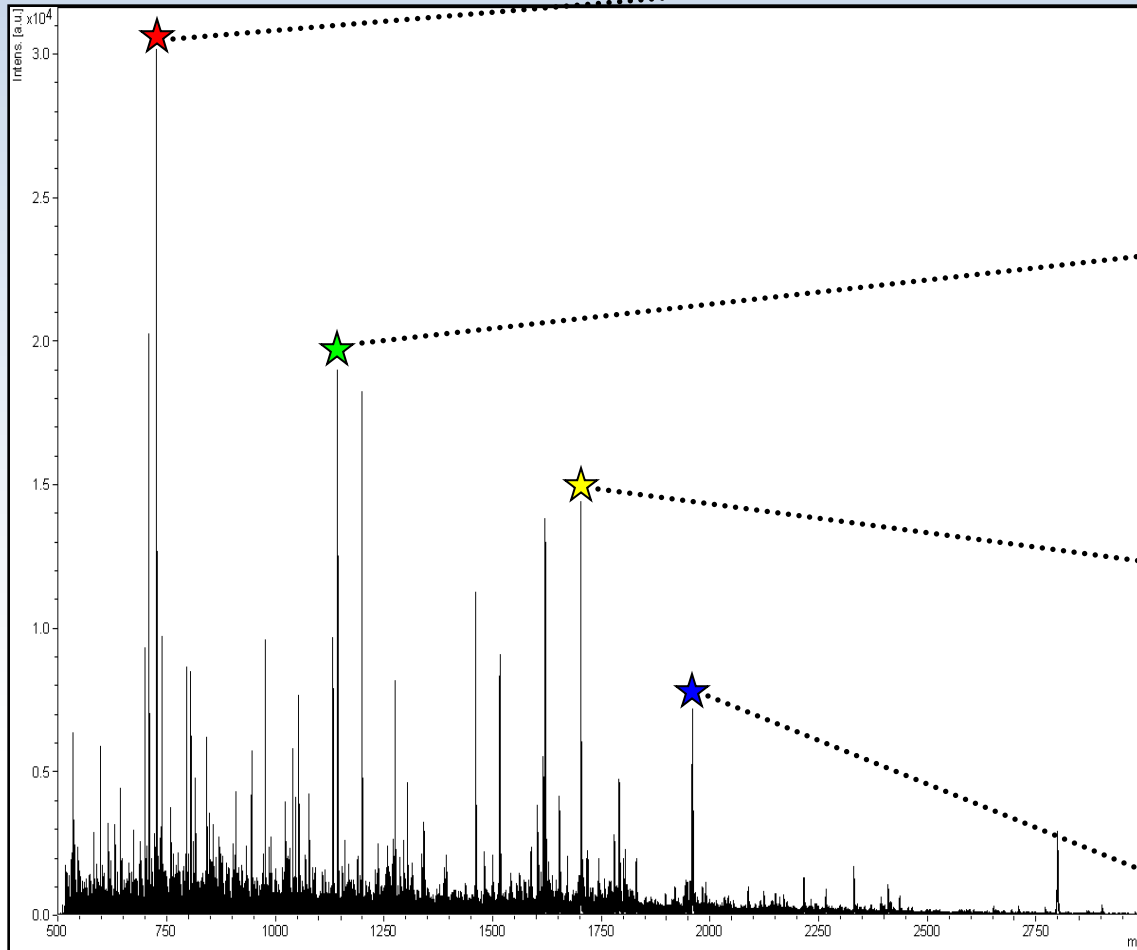
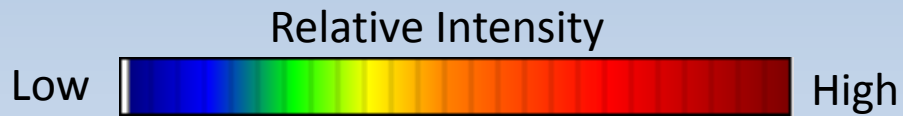
Acquisition d'un spectre à chaque point de tir



Spectres destinés à un traitement ultérieur:

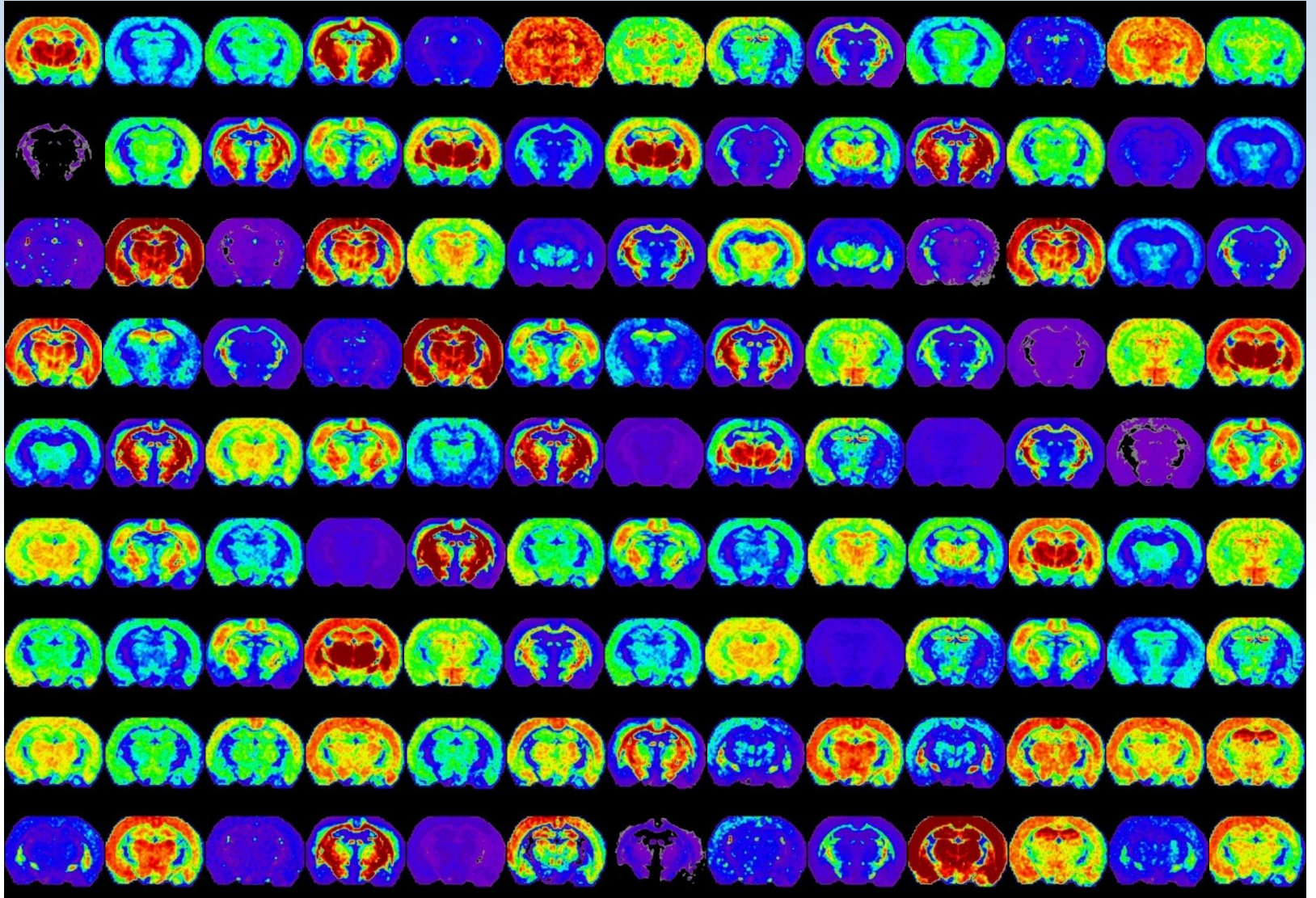
- Visualisation des signaux
- Analyses statistiques





**La distribution de chaque m/z peut être visualisée
Sous la forme d'une carte de densité**

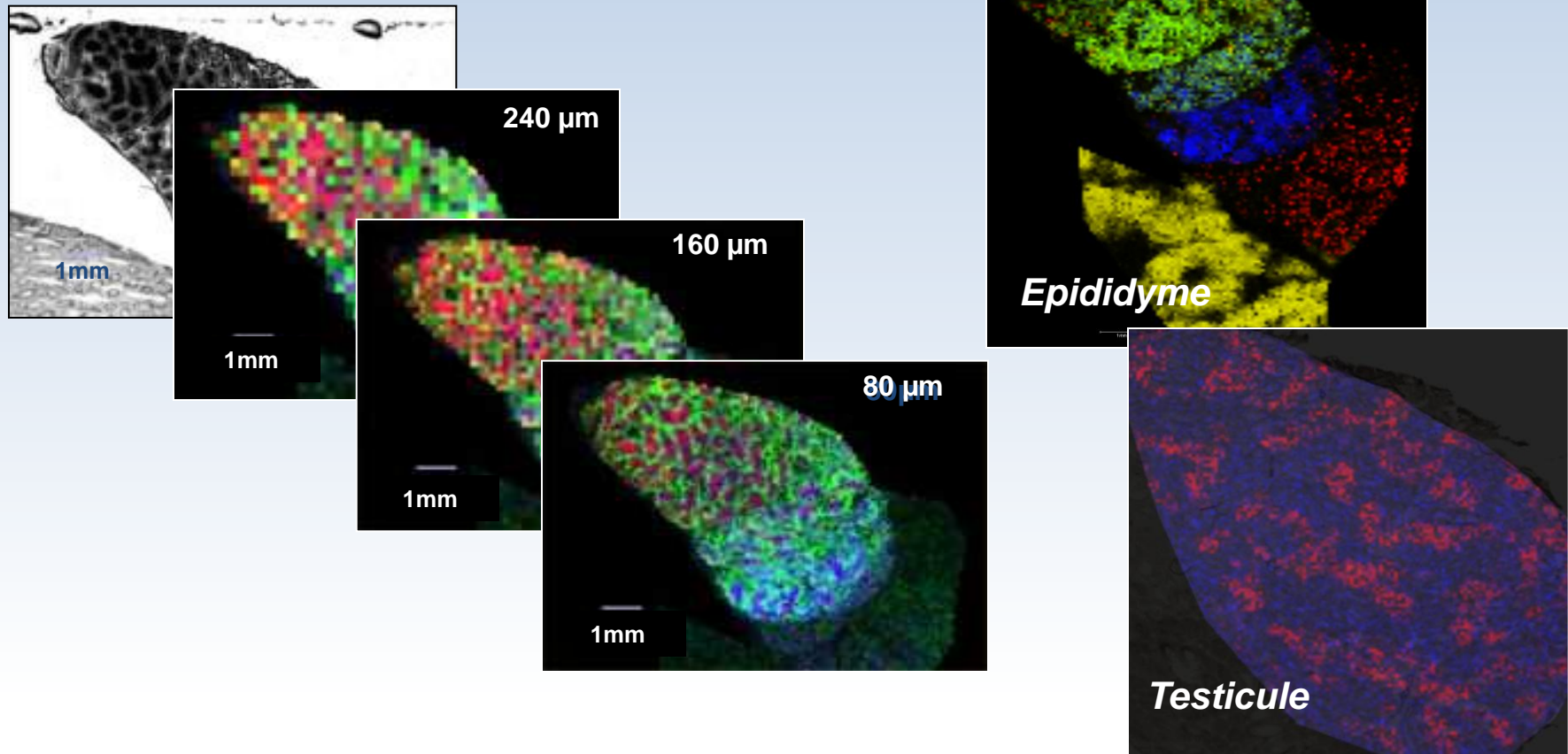
Des centaines de cartes de densité à partir d'une seule expérience





Imaging

Importance de la résolution spatiale



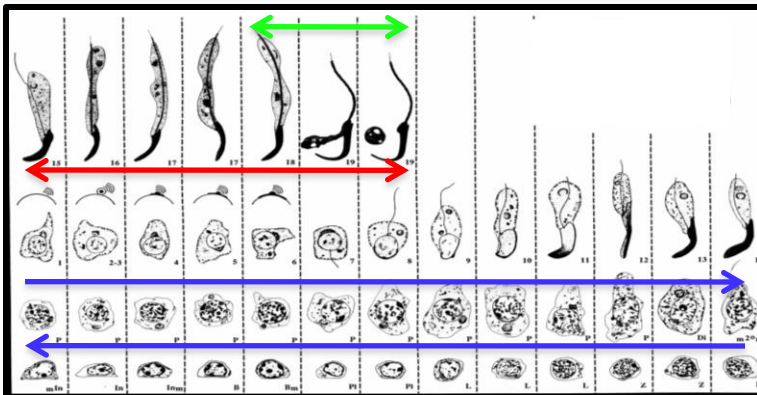
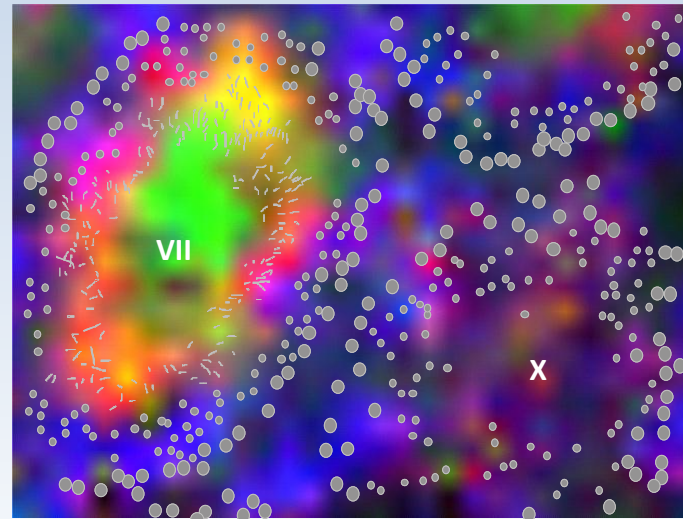
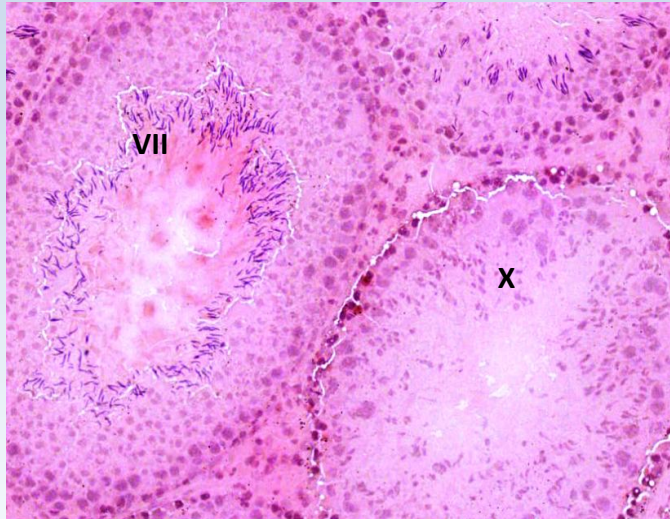
Une résolution de 80 μm est suffisante pour corréliser les signaux moléculaires aux évènements physiologiques (anatomie simple - maturation des spermatozoïdes)



Une résolution de 80 μm n'est pas suffisante pour reconnaître l'anatomie d'un organe complexe

Corrélation histologie vs. *images moléculaires*

Exemple de 4 protéines



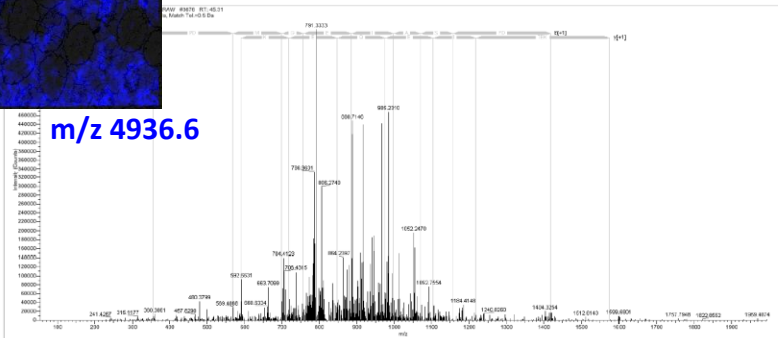
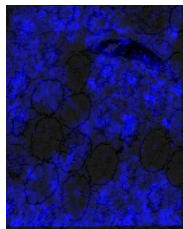
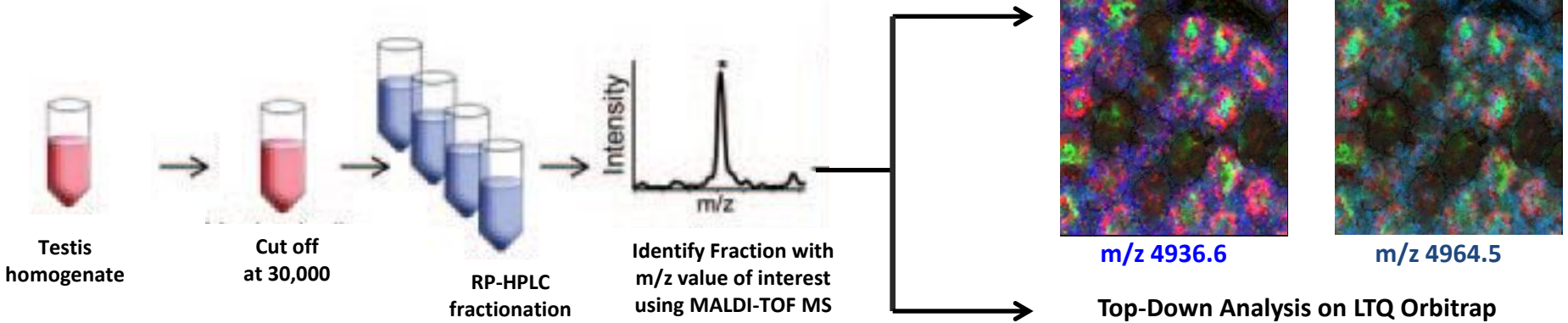
4936.6: Base des tubules

4964.5: Base des tubules

5455: Section apicale des tubules

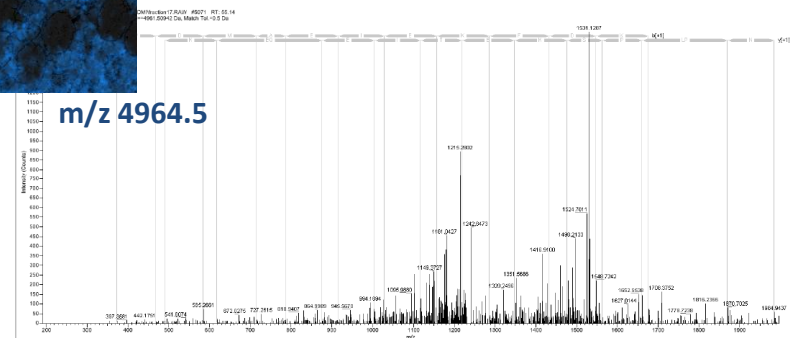
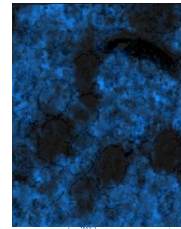
10261: Lumen (*flagelles des spermatides step 18-19*)

Identification des protéines candidates



**MADK^{ac}PDMGEIASFDKAKLKKT
ETQEKNTLPTKETIEQEKRSIS**

Thymosine β 10

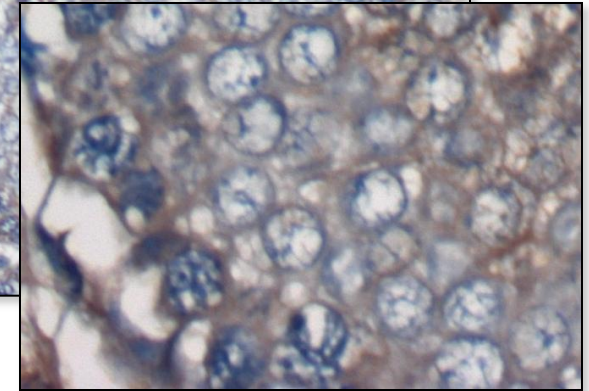
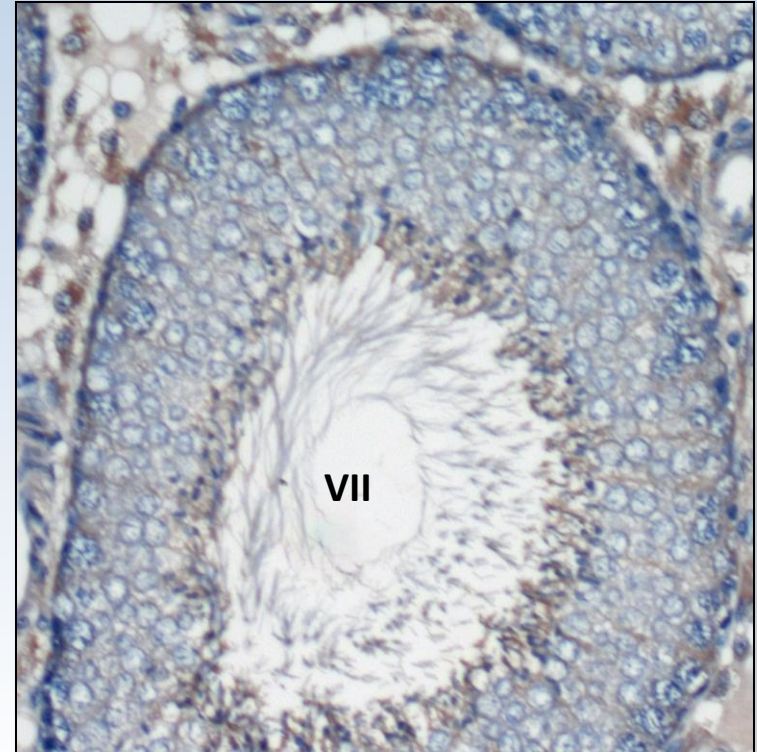
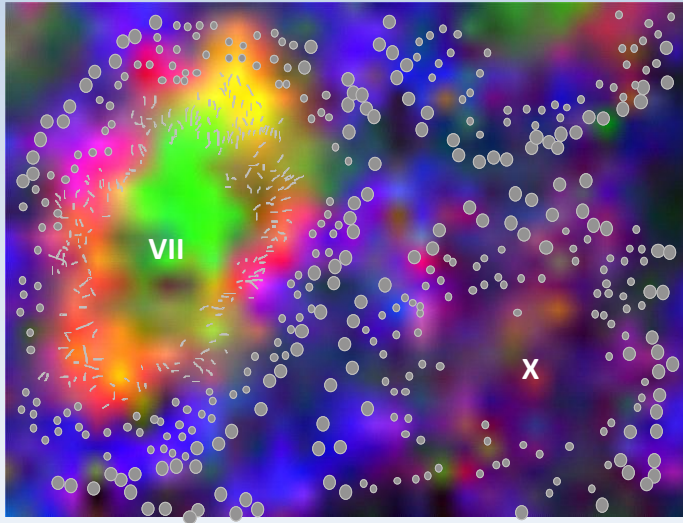


**MSDK^{ac}PDMAEIEKFDKSKLKKTE
TQEKNTLPSKETIEQEKQAGES**

Thymosine β 4

Validation par immunohistochimie

Exemple de la thymosine β 10



- ❑ Expression de la protéine concordante entre image moléculaire et IHC
- ❑ Problème limitant de la résolution spatiale (absence de signal moléculaire pour structures de 1-5 μ m)

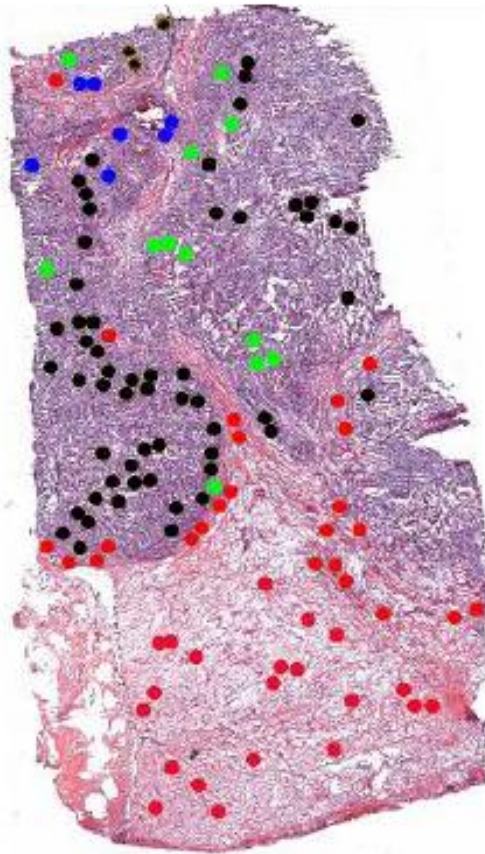
Profiling



Selection de régions d'intérêt

From 31 Arbitrary large spots...

To 122 sites selected by pathologist

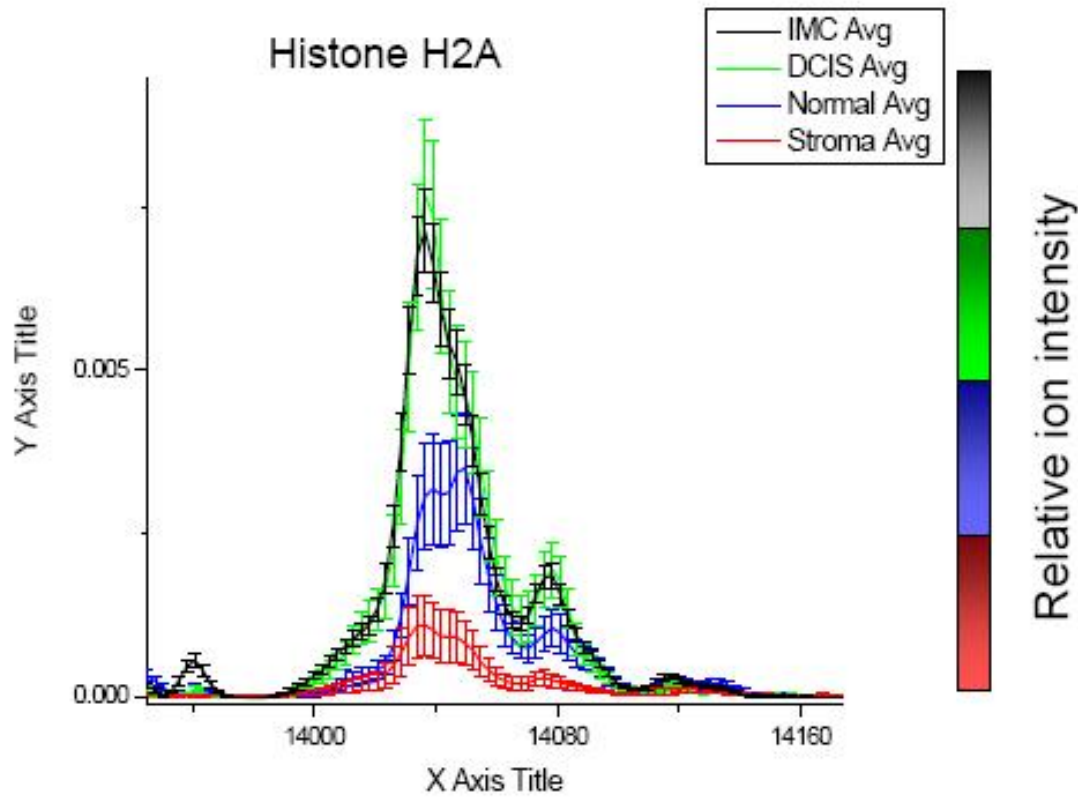


Pathology Coded ID's

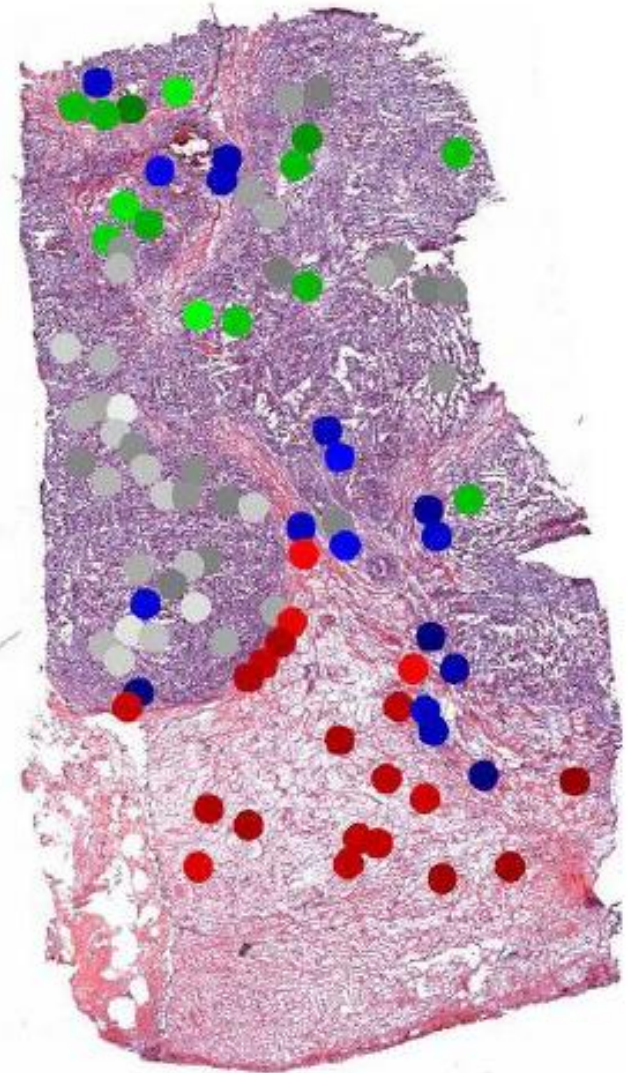
Blue -	DCIS
Black -	IMC
Red -	Stroma
Green -	Norm/Inflammation

Colors are useful for later groupings of data

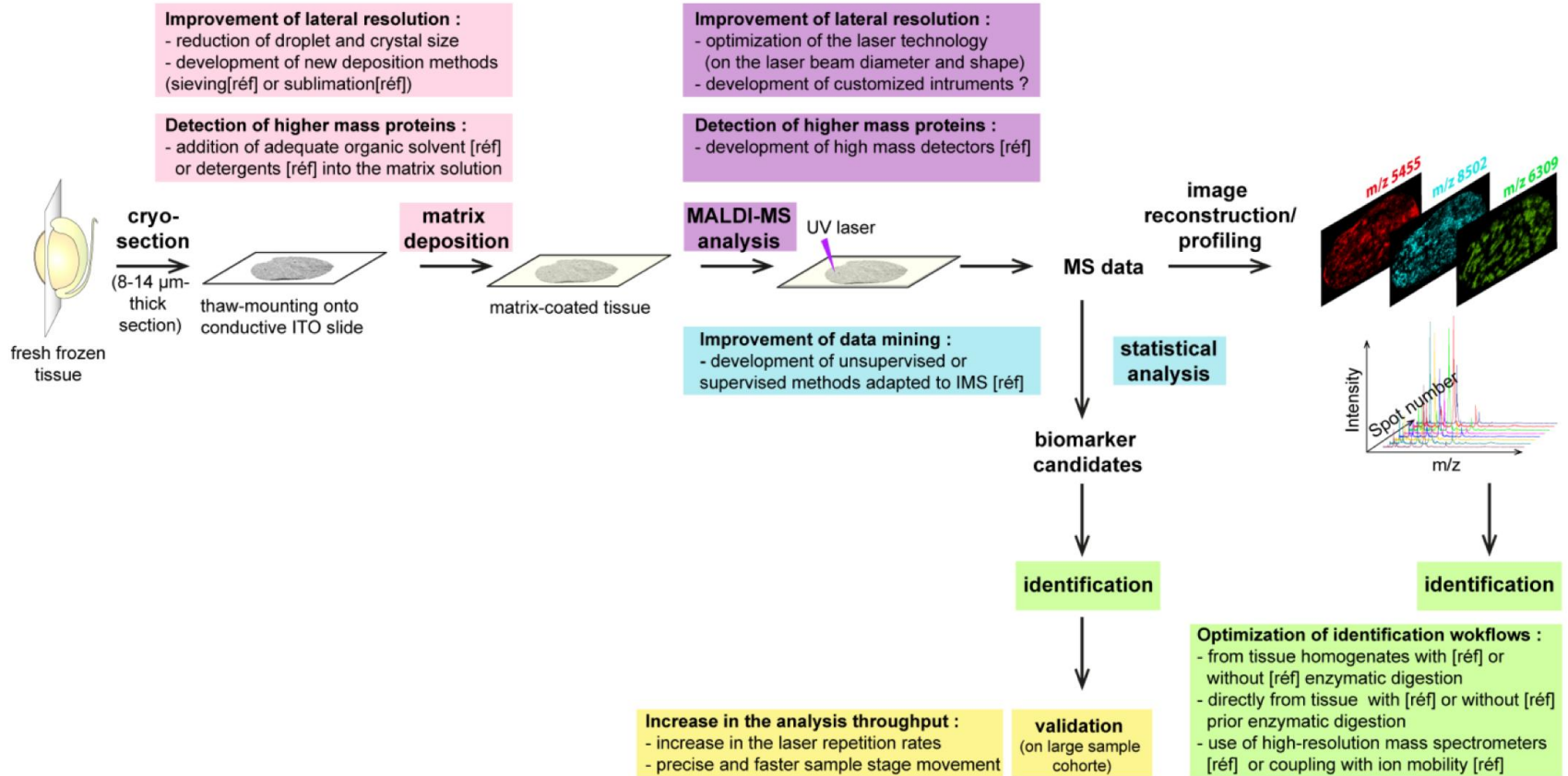
Visualisation des données



Spectral average computed for each annotated cell type



Développements en cours et enjeux actuels



Pour mémoire...

- Accès aux banques de tissus paraffinés
- Atteinte d'une résolution à l'échelle cellulaire (10 μm)
- Caractérisation directe des m/z sur les coupes
- Outils d'analyse statistique adaptés

- Quantification absolue *in situ*
- Imagerie MALDI tridimensionnelle

Imagerie MALDI

=

Mise en évidence de protéines d'intérêt sans *a priori*

FERTICHP (ANR Emergence 2012 - Coord. C. Pineau) : Development of a predictive assay to assess the presence of germ cells and their stage of maturation in the testes of infertile men.

3D-Massomics (FP7 HEALTH.2012.2.1.13 - Coord. T. Alexandrov) : Statistical methods for 3D imaging mass spectrometry in proteomics and metabolomics

INCa 2012 (Coord. M.T Boitrel): Molecular

Identifiant

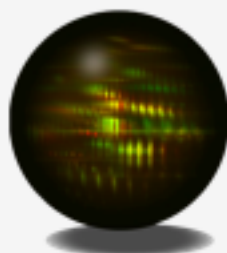
Mot de passe

Se souvenir de moi

- [Mot de passe oublié ?](#)
- [Identifiant oublié ?](#)

[Demande de compte](#)

Bienvenue



La plate-forme protéomique est l'un des trois pôles de l'Axe Protéome du GIS Biogenouest.

Elle offre un ensemble de technologies de pointe dédiées à l'analyse des protéomes depuis l'identification *sensu stricto* de protéines jusqu'à la prise en charge complète de programmes protéomiques de grande ampleur.

Nos technologies sont accessibles à toutes les équipes de recherche membres du réseau Biogenouest et plus largement.

Si vous souhaitez collaborer avec nous ou effectuer des analyses sur la plate-forme, veuillez suivre [les instructions](#).

La plate-forme est certifiée ISO 9001



et Centre d'Excellence Européen



proteome@univ-rennes1.fr