



GÖTEBORGS UNIVERSITET

Correlative Chemical Imaging of Nanoscale Subcellular Structures

Stefania Rabasco

Institutionen för kemi och molekylärbiologi
Naturvetenskapliga fakulteten

Akademisk avhandling för filosofie doktorsexamen i Naturvetenskap, som med tillstånd från Naturvetenskapliga fakulteten kommer att offentligt försvaras måndagen den 12 juni 2023 kl. 10 i sal 10:an, Institutionen för kemi och molekylärbiologi, Kemivägen 4, Göteborg.

ISBN: 978-91-8069-299-1 (PRINT)

ISBN: 978-91-8069-300-4 (PDF)

Tillgänglig via <http://hdl.handle.net/2077/75348>



GÖTEBORGS UNIVERSITET

Sammanfattning

Kemisk avbildning kan belysa komplexa mekanismer, relationer och komponenter hos biologiska prover. Till exempel kan det avslöja provnasegenskaper såsom kemisk sammansättning, kemisk struktur, reaktivitet och form. Flera avbildningsmetoder finns tillgängliga, var och en som ger olika typer av information. Men ingen enskild teknik kan heltäckande karakterisera ett prov. Att ha en holistisk profil kräver ofta att man korrelerar kompletterande metoder; till exempel kan scanning electron microscopy (SEM) kombineras med bildbehandling med sekundärjoner (SIMS) för att erhålla insikter både om den fysiska formen (*via* SEM) och den kemiska sammansättningen (*via* SIMS) hos en provyta. Denna metod kallas korrelativ bildbehandling.

Korrelativ kemisk avbildning kan tillämpas inom många vetenskapliga områden, såsom biologi, kemi, geologi och materialvetenskap. Bland det stora utbudet av moderna avbildningsmetoder är nanoscale SIMS (NanoSIMS) ett kraftfullt verktyg som har sett ökande tillämpningar, särskilt inom biokemi och cellbiologi. För dessa ändamål kan det användas för detektion av isotopiskt märkt material i ett prov och ger den kemiska sammansättningen av provytan med hög lateral upplösning (ner till 50 nm), känslighet (ppm-ppb område) och massupplösning (upp till 10000). Genom att använda en isotopisk markör kan mål molekyler i provet studeras, även om omärkta prover kan användas i vissa fall. NanoSIMS har vissa begränsningar; till exempel kan den vanligtvis inte urskilja ultrastrukturen hos mycket små, intrikata provdetaljer (t.ex. subcellulär ultrastruktur). Därför korreleras NanoSIMS ofta med ytterligare bildbehandlingsmetoder, såsom mikroskopi, för att utöka dess kapacitet och övervinna dess brister.

I de artiklar som ingår i denna avhandling så korrelerades NanoSIMS-bildtagning med antingen elektronmikroskopi eller ljusmikroskopi för att besvara olika biologiska frågeställningar. För att skilja nanoskaliga subcellulära ultrastrukturer användes transmissions elektronmikroskopi (TEM), och för att lokalisera en organell märkt med ett antikropp och en fluorescerande markör användes STED-mikroskopi. I artikel I användes NanoSIMS för att detektera ^{13}C -dopamin i PC12-celler, och bilderna korrelerades med TEM för att lokalisera dopaminet inom stora kompaktkärnade vesiklar (LDCVs). I artikel II korrelerades NanoSIMS med stimulated emission-depletion (STED) mikroskopi för att lokalisera stressgranula (SG) inducerade av endoplasmisk retikulum-stress i neuronal progenitorceller (NPCs) inkuberade med en isotopiskt märkt aminosyra och för att karakterisera deras proteinomsättning genom förändringar i isotopisk berikning. I artikel III undersöktes rollen av vesikelstorlek i dynamiken hos partiell frisättning i exocytosehändelser av PC12-celler genom att korrelera TEM- och NanoSIMS-bildtagning. I artikel IV korrelerades NanoSIMS och TEM för att undersöka den subcellulära proteinomsättningen i NPCs med hjälp av olika isotopiskt märkta aminosyror och tidpunkter. Sammanfattningsvis visar dessa studier vikten av adekvata korrelative avbildningsstrategier och den variation av biologiska mål som kan uppnås genom olika korrelera kemiska bildtagningstekniker.