



GÖTEBORGS UNIVERSITET

Quantitative chemical imaging to study content release from single nanovesicles

Tho Nguyen

Institutionen för kemi och molekylärbiologi
Naturvetenskapliga fakulteten

Akademisk avhandling för filosofie doktorsexamen i Naturvetenskap, som med tillstånd från Naturvetenskapliga fakulteten kommer att offentligt försvaras fredagen den 12 januari 2024 kl. 10 i Sal 2403 Stenbrottet, Natrium, Institutionen för kemi och molekylärbiologi, Medicinaregatan 7B, Göteborg.

ISBN 978-91-8069-549-7 (PRINT)

ISBN 978-91-8069-550-3 (PDF)

Tillgänglig via <http://hdl.handle.net/2077/79036>



GÖTEBORGS UNIVERSITET

Svensk summering

Cellulär kommunikation är avgörande för överlevnaden hos flercelliga organismer. Denna process är ofta beroende av en noggrant reglerad mekanism som kallas exocytos, vilket innebär frisättning av kemiska signaler. Under exocytos kan vesiklar släppa ut sitt innehåll helt eller partiellt. Mängden neurotransmittorer som drivs ut i olika frisättningsätt kan ha olika effekter på cellulär kommunikation eftersom det kan tillåta cellerna att reglera nivån av utgående signaler. Trots betydande upptäckter om komponenterna i exocytos finns det fortfarande mycket att ta reda på om dess reglering och konsekvenser.

Detta avhandlingsarbete syftar till att få en djupare förståelse för frisättning av vesikulärt innehåll, särskilt i sammanhanget av partiell frisättning, med hjälp av kvantitativ kemisk avbildning. Detta inkluderar integrering av masspektrometriavbildning (MSI) med elektronmikroskopi eller elektrokemisk analys tillsammans med ljusmikroskopi. På så sätt kan en omfattande metod användas för att få insikter i mekanismen för frisättning av vesikulärt innehåll och kvantifiera frisättningsgraden. Elektrokemiska tekniker erbjuder fördelen av hög tidsupplösning och möjliggör kvantifiering av både lagrade och frisatta molekyler från vesiklar. Kombinerat med avbildningsmetoder som fluorescens, elektronmikroskopi och masspektrometriavbildning kan omfattande spatial information och kemisk information erhållas för att komplettera data från elektrokemiska tekniker. I synnerhet användes nanoskalig sekundär jonmasspektrometri (NanoSIMS), en högupplöst MSI-metod som är kapabel till absolut kvantifiering på subcellulär nivå, främst genom hela denna avhandling.

PC12-celler behandlades med isotopmärkt L-DOPA, och NanoSIMS-avbildning korrelerades med transmissionselektronmikroskopi (TEM) för att detektera och kvantifiera det märkta dopaminet inom vesiklar i artikel I. I artikel II introducerades en metod för att visualisera och kvantifiera vesiklar som genomgår partiell frisättning i PC12-celler genom att exponera dem för en andra märkning under exocytos. Genom att bygga vidare på metoden undersökte artikel III inflytandet av vesikelstorlek på dynamiken i partiell frisättning. Dessutom utvecklades kombinationen av vesikelinducerad elektrokemisk cytometri (VIEC) med fluorescensavbildning i realtid med konfokalmikroskopi i artikel IV, vilket möjliggjorde en analys av frisättning av vesikulärt innehåll från isolerade märkta vesiklar. Sammantaget visar dessa studier tillämpningen av kvantitativ kemisk avbildning för att förstå mekanismen och kvantifiera frisättningsgraden vid frisättning av vesikulärt innehåll.