



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Microcoil MRI of plants and algae at ultra-high field : an exploration of metabolic imaging

Schadewijk, R. van

Citation

Schadewijk, R. van. (2020, April 30). *Microcoil MRI of plants and algae at ultra-high field : an exploration of metabolic imaging*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/87517>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/87517>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/87517> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Schadewijk, R. van

Title: Microcoil MRI of plants and algae at ultra-high field : an exploration of metabolic imaging

Issue Date: 2020-04-30

SAMENVATTING

Dit proefschrift beschrijft onderzoek naar de relatie tussen metabolisme en anatomie met behulp van kernspintomografie (MRI). Hiervoor zijn twee modelsystemen gebruikt: *Botryococcus braunii*, een groene olierijke alg en *Medicago truncatula*, een kleine peulvrucht die in symbiose leeft met de bacterie *Sinorhizobium meliloti*. Een beter begrip van de metabole processen in deze modelsystemen kan in potentie een bijdrage leveren bij uitdagingen voor de mensheid op het gebied van voeding en energievoorziening. Om de variatie in metabole profielen tussen verschillende weefsels vast te leggen, is magnetische resonantie microscopie (MRM) gebruikt. MRM is geschikt voor het bestuderen van levende organismen door de niet-invasieve anatomische beeldvorming in combinatie met spectroscopie. Om deze organismen te kunnen bestuderen, werden pulsequenties en zelf gebouwde microspoelen zijn ontwikkeld.

Hoofdstuk 1 bevat een algemene introductie van het veld van de kernspintomografie, de theoretische grondslag en de achtergrond van MRI gebruik. Het ontwerp van solenoïde microspoelen en hun eigenschappen worden beschreven in de context van magnetische resonantie microscopie. De pulsequenties die gebruikt worden voor magnetische resonantie microscopie, alsmede gelokaliseerde spectroscopie en combinaties daarvan, worden bondig besproken.

Botryococcus braunii is een groene alg die rijk is aan olie en de bijzondere eigenschap heeft grote hoeveelheden olie per droog gewicht op te slaan in haar kolonies. Er bestaan grote variaties in koloniestructuur, maar de implicaties hiervan voor de oliedistributie en diffusie-eigenschappen zijn nog onbekend. Door gebrek aan geschikte *in vivo* methoden konden deze vragen tot noch toe niet worden beantwoord.

Hoofdstuk 2 verdiept het inzicht in de olieverdeeling van *Botryococcus braunii* (ras B, stam Showa), door het onderzoeken van grote (700-1500 μm) en extra-grote (1500-2500 μm) *in vivo* algen kolonies. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een uitgebreide aanpak bestaande uit a) chemische verschuiving selectieve beeldvorming, b) chemische verschuiving beeldvorming en c) spin echo diffusiemetingen op hoge magnetische veldsterkte (17.6 T). Koolwaterstofdistributie in grote kolonies bleek zich in twee bolvormige lagen te bevinden met verschillende diktes en concentraties. Extra-grote kolonies waren erg ongestructureerd en de olie was verspreid door de kolonies met grote lokale variaties. Vloeistofkanalen werden ook geobserveerd in extra-grote kolonies. Diffusie-gewogen MRI toonde een sterke correlatie aan tussen heterogeniteit van de kolonie, oliedistributie and diffusie in de verschillende delen van *Botryococcus* kolonies.

Speciaal ontwikkelde solenoïde microspoelen zijn gebruikt in dit werk om monsters met kleine volumes te bestuderen op hoge resoluties. Iteratieve ontwerp aanpassingen resulteerde in een microspoel die optimaal past bij een monster.

Hoofdstuk 3 beschrijft een methode voor het kalibreren van microspoelen die zijn ontworpen voor hoge resolutie magnetische resonantie microscopie (MRM). Het kalibreren van nieuwe of zelfgebouwde microspoelen wordt systematisch uitgelegd aan de hand van een referentiemonster. Er wordt onder andere een methode beschreven om de resonanties van de spoel vast te stellen en het bepalen van het zogenaamde referentie pulse vermogen met behulp van een nutatiecurve. De prestaties van nieuwe microspoelen, inclusief gevoeligheid en radiofrequentie homogeniteit wordt bepaald met gestandaardiseerde pulssequenties. Een volumegenormaliseerde Signaal-tot-Ruis ratio wordt berekend, om op basis hiervan vergelijkingen tussen spoeleigenschappen mogelijk te maken. De monstervoorbereiding en mogelijke valkuilen worden besproken.

Interacties tussen planten en microbiële & schimmelflora zijn van belang voor een gezond ecosysteem in de bodem en voor voedselproductie. Plant-microbe interacties zijn lastig te onderzoeken *in situ*, door de complexe relatie tussen morfologie en metabolisme.

Hoofdstuk 4 beschrijft een aanpak om deze uitdaging op te lossen door de anatomie en metabole profielen van *Medicago truncatula* wortelnodules te meten met behulp van MRM op een veldsterkte van 22.3 Tesla. Een zelfgebouwde solenoidespoel met een binnendiameter van 1500 μm werd gebruikt om individuele wortel nodules te bestuderen. Een 3D-pulssequentie werd ingezet om een drie-dimensionaal beeld te vormen met een isotrope resolutie van $7 \times 7 \times 7 \mu\text{m}^3$. Het oplossend vermogen was voldoende om individuele cellen te onderscheiden, zowel cellen geïnfecteerd met Rhizobia als niet-geïnfecteerde cellen. Vervolgens is het metabole profiel van cellen in verschillende delen van de wortelnodule gemeten met gelokaliseerde spectroscopie. Een aantal metaboliëten, waaronder betaine, asparagine/aspartaat en choline, variëren in concentraties over de verschillende zones van de wortelknol. De distributie van metaboliëten werd gevisualiseerd door middel van chemische verschuiving beeldvorming. De technische uitdagingen en de toekomst van *in vivo* meten in nodules en plantenwortels worden besproken.

Hoofdstuk 5 bevat de algemene discussie over de resultaten van dit proefschrift en het toekomstperspectief van MRM voor toepassing op planten en algen. Daarnaast worden initiële resultaten beschreven van een implementatie van een Diffusie-gewogen chemische verschuiving beeldvorming (DW-CSI) op hoog veld. Deze sequentie biedt een elegante manier om diffusieweging te combineren met gelokaliseerde spectroscopie. De haalbaarheid van het berekenen van de Schijnbare diffusie coëfficiënten (ADC) uit DW-CSI-metingen is aangetoond voor water en hexadecaan. Verder onderzoek en ontwikkeling op het gebied van het ontwerpen van zowel sequenties als instrument-ontwerp is vereist om deze aanpak tot zijn volle potentieel te brengen.