

Single Cellome™ System SS2000

脂肪滴サンプリングおよび1細胞質量分析

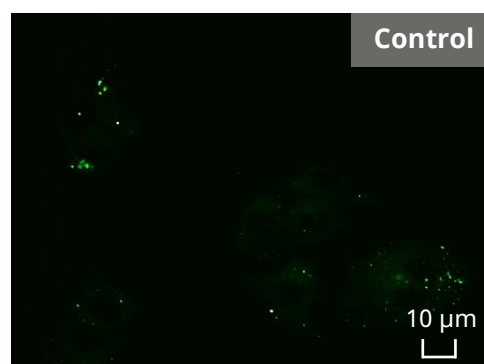
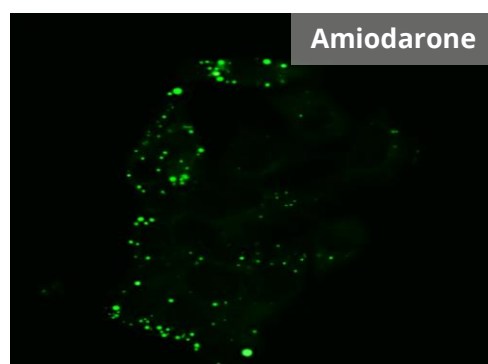


近年、シングルセルを対象とした研究が盛んに行われるようになってきましたが、分析技術のさらなる高感度化により、特定の細胞内成分を1細胞レベルで分析することも可能となりました。

SS2000は共焦点顕微鏡で撮像しながら先端径が数μmのガラスチップにより、1細胞レベルで細胞内成分を採取できる画期的な装置です。本アプリケーションノートでは、SS2000で薬剤処理した細胞から細胞内成分を採取し、1細胞質量分析法にて検出した事例をご紹介します。

Amiodarone処理による脂肪滴の凝集

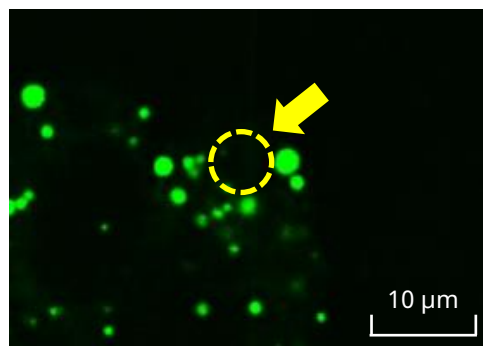
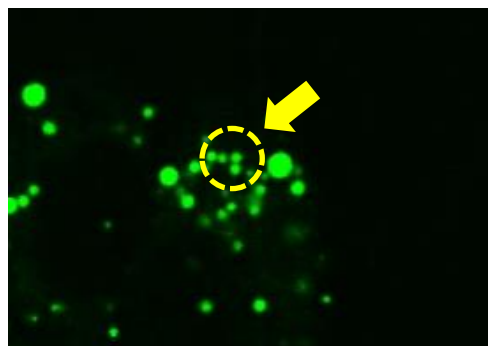
HepG2細胞をAmiodaroneで処理したところ、脂肪滴の凝集が観察されました。



(緑：脂肪滴)

脂肪滴のサンプリング

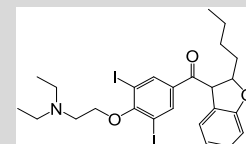
先端内径3 μmのガラスチップで脂肪滴を選択的にサンプリングしました。



データ提供：名城大学薬学部分析化学研究室水野初 教授

Amiodarone

抗不整脈薬であり、肝障害など重篤な副作用がある。細胞内でホスホリピドーシスを誘発し、脂肪滴の凝集を生じる。1)

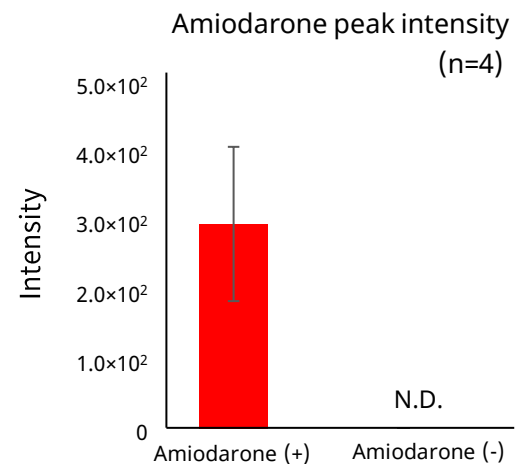
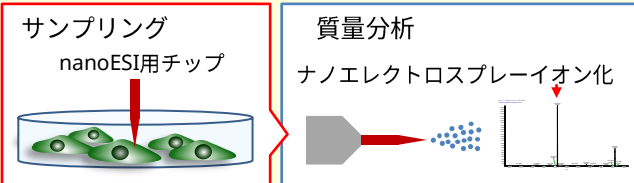


1 細胞質量分析法によるAmiodarone検出

採取したサンプルから1細胞質量分析^{2,3)}を実施したところ、Amiodarone処理した細胞から採取したサンプルでのみピークが検出され、Amiodaroneが脂肪滴に蓄積していることが確認されました。

1 細胞質量分析法³⁾

サンプルを吸引したガラスチップに有機溶媒と水の混合溶液を加えて細胞成分を抽出し、質量分析装置のイオン源に取り付けて電圧を印加させることによって細胞成分をイオン化し、検出する。



データ提供：名城大学薬学部 分析化学研究室
水野 初 教授

実験条件

| | |
|---------|--|
| 細胞： | HepG2細胞 (35 mmディッシュ) |
| 薬剤処理： | 10 μM Amiodaroneまたは5.4 μLエタノール (Control) を添加して一晩培養 |
| 標識試薬： | LipiDye (Ex: 488 nm, Em: 525 nm) |
| サンプリング： | 内径3 μmのnanoESI用チップで脂肪滴を採取し、チップ内に保持したまま回収 |
| 質量分析： | 機種；Xevo TQ-S, Waters Ion Mode; nanoESI positive、Capillary Voltage; 1.0 kV MS Mode; MRM (646.05 > 58.16)、Collision Energy; 40 V |

細胞内成分のサンプリングと1細胞質量分析

1細胞レベルで特定の領域の細胞内成分を選択的に採取し、質量分析することで、投与した薬剤やその代謝物の細胞内局在や代謝レベルなどを分析することが可能となります。SS2000は共焦点顕微鏡による高精細な画像と精密なチップ位置決め技術により、細胞内の微小領域の選択的なサンプリングを可能とします。SS2000と1細胞質量分析法の組み合わせによる、より詳細な生命現象の解明や医薬品開発への貢献が期待されます。

名城大学 水野 教授のコメント

本装置により、ホスホリピドシスを誘導した細胞の共焦点顕微鏡観察とともに、細胞内脂肪滴の選択的サンプリングと質量分析により、脂肪滴内に局在する薬物やその代謝物を正確に検出することができるようになりました。現在は、ミトコンドリアなどの様々な細胞内小器官に存在する代謝物を解析することにより、より詳細な細胞メカニズム解明にチャレンジしています。

Reference

- 1) N. Anderson, et al. Drug-induced phospholipidosis. *FEBS Letters*, 2006 Oct.; 580 (23): 5533-5540. doi: 10.1016/j.febslet.2006.08.061.
- 2) K. Yahata, H. Mizuno, et al. Analysis of the intracellular localization of amiodarone using live single-cell mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2021 Oct 25;205:114318. doi: 10.1016/j.jpba.2021.114318.
- 3) H. Mizuno, et al. Live single-cell video-mass spectrometry for cellular and subcellular molecular detection and cell classification. *J. Mass. Spectrom.*, 2008 Dec.; 43 (12): 1692-1700. doi: 10.1002/jms.1460.

横河電機株式会社 ライフ事業本部 営業・ソリューションセンター

〒180-8750 東京都武蔵野市中町2-9-32

TEL : 0422-52-5550

E-mail : SingleCell@cs.jp.yokogawa.com

<https://www.yokogawa.co.jp/solutions/solutions/life-innovation/>

記載内容はお断りなく変更することがありますのでご了承ください。

All Rights Reserved, Copyright © 2022, Yokogawa Electric Corporation

