

Agilent 7900 ICP-MS의 scICP-MS 모드를 사용한 단일 세포 분석

단 100 μ L의 시료를 사용하여 단일 세포 내에서 4개
원소를 측정

저자

Tetsuo Kubota
Agilent Technologies, Inc.

원상태(intact) 세포의 원소 함량 측정

금속이 세포 생물학에서 담당하는 역할에 대한 이해를 확장하는 것은 최근에 생겨난 연구 분야입니다. 많은 원소는 세포의 건강에 반드시 필요합니다. 이러한 원소의 불균형, 결핍 또는 과량은 정상적인 세포 과정을 파괴시킬 수 있습니다. 세포 내의 금속을 측정하는 기존의 대규모 분석법은 시료 용해, 추출 또는 분해에 의지하며, 그 후 원자 분광기를 통해 분석합니다. 시료 제조 단계는 개별 세포 구조를 파괴하기 때문에, 금속 농도 보고 결과는 수천 개의 세포 측정 평균값입니다.

단일 세포-ICP-MS(scICP-MS)에서, 시료 액체에 포함된 원상태(intact) 세포가 분무화됨으로써 각 세포는 에어로졸 액상 미립자에 부유 상태로 존재합니다. ICP-MS(spICP-MS)를 이용한 단일 나노 입자 분석에 사용하는 안정적인 분석법과 유사한 접근법을 사용하여 개별 세포를 plasma에 주입합니다.

짧은 측정 시간만 수요하는 고감도 ICP-MS

수용액에서 효모 세포 시료를 제조하였습니다. Agilent 7900 ICP-MS는 작은 내경(1.0mm)의 주입기와 표준 니켈 cone을 가진 석영 토치를 탑재하였습니다. AIF-3 삼중 튜브 nebulizer와 spray chamber(모두 S.T. Japan에서 구입)는 ICP-MS에 원상태(intact) 세포를 주입하기 위해 특별히 고안되었습니다. 시린지 펌프(AS ONE Corporation, Japan)를 ISIS 3에 장착하여 ICP-MS의 낮은 시료 유속을 제어하였습니다. 7900 ICP-MS는 단일 세포와 단일 입자 분석의 특성인 단기 신호의 수집을 위해 최적의 조건을 제공합니다. 이는 매우 높은 감도와 짧은 측정 시간(0.1ms)을 결합함으로써 빠른 시간 분해 분석(TRA) 모드를 지원합니다. 빠른 TRA는 초당 10,000회를 측정하는 샘플링 속도로 측정 간에 설정 시간 없이 단일 원소를 수집할 수 있습니다. 매우 높은 감도는 단일 세포 내의 분석물질을 attogram(ag, 1.0×10^{-18} g) 수준으로 검출하는 데에 매우 중요합니다.

다원소 수집

Agilent ICP-MS MassHunter 소프트웨어의 단일 나노 입자 응용 모듈의 빠른 다원소 나노 입자 분석 모드로 분석법 설정, 수집, 데이터 처리를 수행하였습니다. 그림 1에서 확인할 수 있는 것처럼, 이 소프트웨어 모듈을 사용하여 다원소 데이터를 수집 및 ICP-MS MassHunter의 데이터 분석 창(그림 1)의 표에 정리할 수 있습니다.

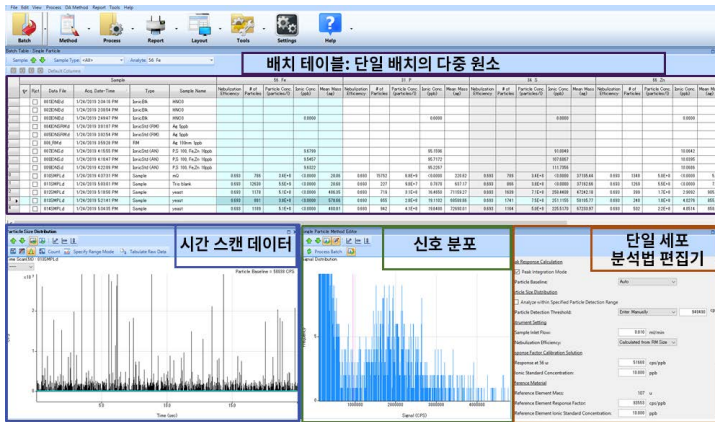


그림 1. ICP-MS MassHunter 데이터 분석 개요. 최종 단일 세포 분석 결과는 도표 및 그래픽 형식으로 보고됨

세포 분무화 및 이송 효율

세포 이송 효율을 확정하기 위해, ICP-MS를 통해 계산한 세포의 수로 현미경에서 계수한 세포의 수를 나누었습니다. 세포 이송 효율은 25%이었습니다. 대량 세포의 분무화 및 분석을 확보하면 데이터의 정확도를 향상시킬 수 있습니다.

신호 분포

sciICP-MS를 이용하여 다원소 모드로 단일 효모 세포를 분석하였습니다. $^{31}\text{P}^+$, $^{34}\text{S}^+$, $^{56}\text{Fe}^+$, $^{66}\text{Zn}^+$ 의 신호 분포는 그림 2에 나와 있습니다. 단일 세포의 각 원소 신호가 백그라운드로부터 명확하게 구분되었습니다. 단일 수집으로 다원소를 측정함으로써, 시간 및 각 분석에 필요한 시료 부피를 절약할 수 있습니다.

약 100 μL 의 시료 부피의 총 수집 시간은 240초이었습니다. 각 분석물질을 개별적으로 측정할 때의 수집 시간은 640초이며, 필요한 시료 부피는 400 μL 입니다.

www.agilent.com/chem

연구 용도로만 사용하십시오. 진단 용도로는 사용하지 않습니다.

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
2019년 3월 29일, 한국에서 인쇄
5994-0845KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국에질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr

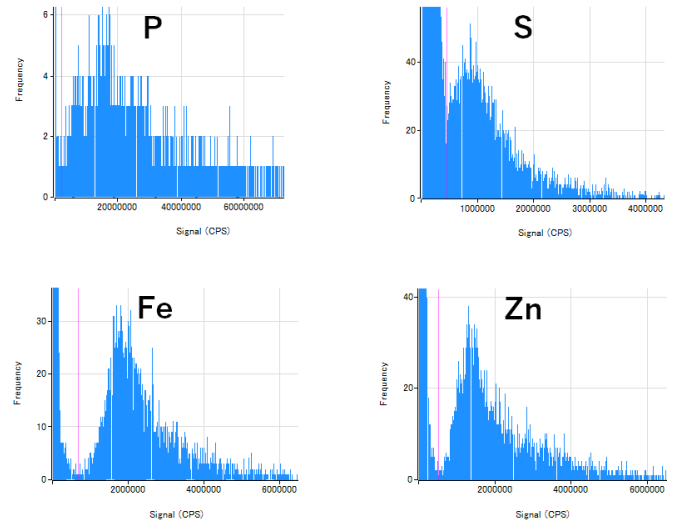


그림 2. 단일 세포 내의 4개 분석물질의 신호 분포

평균 질량

표 1에서 확인할 수 있는 것처럼, P, S, Fe 및 Zn의 평균 질량 데이터는 ICP-MS MassHunter 소프트웨어에서 자동으로 계산되었습니다. 핵산 화합물과 단백질의 주요 성분인 P와 S 이외, 각 세포를 sub-femtogram(fg, $1.0 \times 10^{-15}\text{g}$)의 수준으로 Fe 및 Zn를 측정하였습니다.

표 1. 단일 세포 내 각 분석물질의 평균 질량(attograms) 및 정밀도(n=3)

분석물질	평균 질량(ag)	RSD(%)
P	70,800	2.4
S	54,900	16.1
Fe	485	0.7
Zn	873	2.6

새로운 연구 가능성

에질런트 다원소 sciICP-MS 분석법을 이용하여 세포 생물학 내의 다중 금속의 역할에 대해 자세하게 측정 및 탐구할 수 있습니다. 이 기술은 개별 세포 내의 고유한 금속 함량과 금속 연관성에 대해 유용한 정보를 제공합니다. 또한 sciICP-MS를 금속 및 금속을 포함하는 나노 입자 세포의 흡수, 축적 및 방출 연구에 사용할 수 있습니다.