

利用高内涵成像系统进行心肌细胞毒性分析

简介

由于缺乏设备和技术手段在实验室中精确再现人体内的生理反应，导致新药的研发过程难度大、成本高。体外细胞实验和体内动物实验在精确模拟人类心脏病病理状态时存在很大差异，因此确定脱靶效应对心脏的毒性仍然是基于消耗量所进行的前期后期药物安全性评价的重要目的。利用高内涵成像系统(如: ImageXpress Micro System)可以对诱导多能干细胞(iPSC)来源的人类心肌细胞在化合物处理后产生的细胞毒性进行准确评价。

利用活/死细胞检测法分析总细胞毒性

可透膜的钙黄绿素进入活细胞后经酯酶分解在胞质中产生绿色荧光。死细胞膜通透性增加，染料溴乙非啶豪莫二聚体进入细胞并对细胞核进行染色(图1)。

将诱导多能干细胞(iPSC)来源的心肌细胞经不同浓度的药物处理，用高内涵对样本成像(图2)并结合对照组进行心肌细胞毒性分析(图3)。缬氨霉素(图2第9、10列)在低浓度下也表现出较高的心肌细胞毒性。

利用JC-10监测线粒体膜去极化

JC-10聚集在活细胞线粒体中，发出570 nm的橙红色荧光。部分化合物通过干扰线粒体膜电位，产生直接毒性作用。一旦线粒体膜通透性增大，JC-10单体便分散于细胞质当中发出530 nm荧光。通过检测每个细胞中橙色线粒体数量或细胞中570 nm/530nm的荧光强度的比值即可定量检测线粒体膜变化。

ImageXpress Micro 系统将硬件、软件整合在一起，在高通量细胞毒性评价过程中对图片采集和分析。搭配环控组件后可以对活细胞进行实时观察和动力学分析。本实例中，心肌细胞与一定浓度梯度的抗霉素A孵育，90分钟后对心肌细胞毒性进行量化(图4)。采集的图片可以随时调取或用MetaXpress®软件的应用模块对图片进行深度分析。

优势

- 评价化合物对诱导多能干细胞来源的细胞产生的毒性效应
- 通过降低临床实验中心脏方面的不确定影响加速药物筛选流程
- 实现基于细胞的高通量多通路筛选

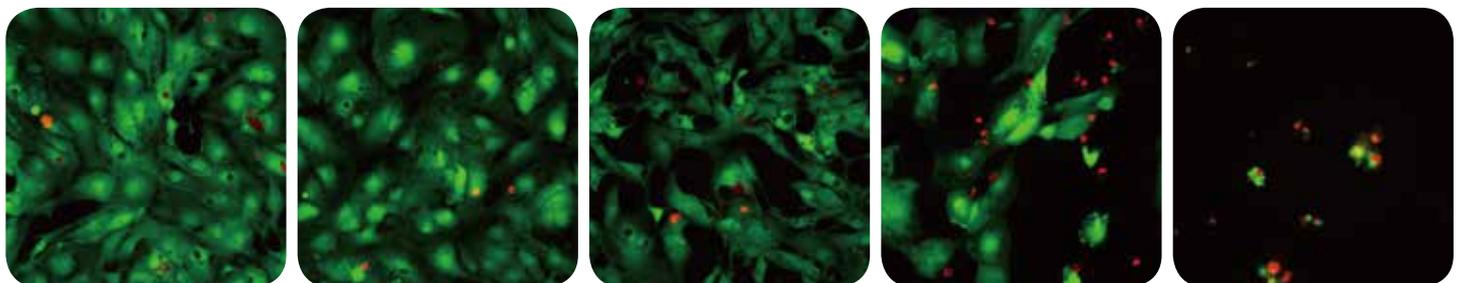


图 1. 细胞毒性检测。用毒性化合物处理心肌细胞（化合物浓度从左至右逐渐增大）。活细胞标记为绿色荧光，随着化合物浓度的增加，标记为红色荧光的死细胞比例随之增加

结论

ImageXpress Micro 高内涵成像系统是一种高效强大的成像分析系统，可从全细胞水平和线粒体膜去极化两个层次分析、评价诱导多能干细胞来源的心肌细胞的体内药物毒性结果。高内涵成像系统可以为药物学家提供早期药物研发所需的关键信息，并减少临床试验中产生的心脏方面的不确定影响。

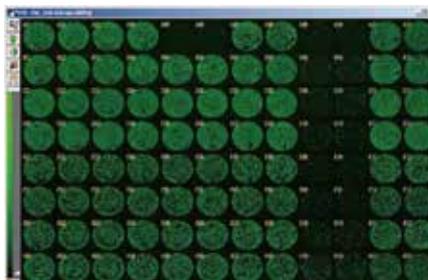


图 1. 细胞毒性检测. 用毒性化合物处理心肌细胞(化合物浓度从左至右逐渐增大). 活细胞标记为绿色荧光, 随着化合物浓度的增加, 标记为红色荧光的死细胞比例随之增加

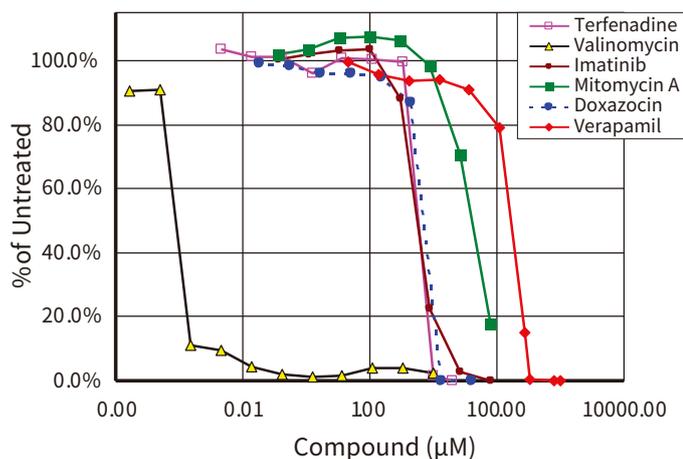


图3. 毒性剂量曲线. 6中化合物处理48小时后的细胞, 用活/死细胞应用模块进行分析并作图

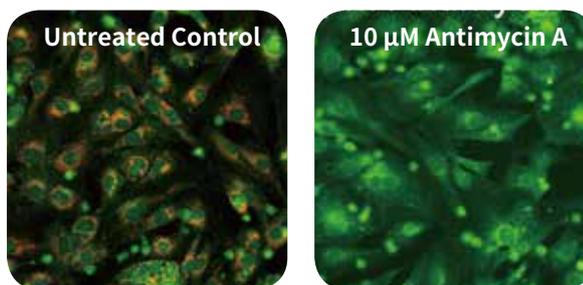


图4. JC-10 线粒体膜电位分析. 增加抗霉素浓度, 线粒体膜去极化作用增加, 红色荧光(线粒体)与绿色荧光(细胞质)的比值降低. 在高内涵环境控制模式下使用20X物镜拍摄上图



扫一扫关注我们
的官方微信