

超高分解能質量顕微鏡を用いた核酸医薬品の細胞内分布の可視化

質量イメージング装置の中で最も高い空間分解能(約50 nm)を持つNanoSIMSを用いて、核酸医薬品の一種であるAntisense Oligonucleotide: ASOの細胞内分布の可視化を行った。一般的な評価手法である蛍光顕微鏡法に比べて、細胞内における薬物の局在を明瞭に観察可能である。

チャイニーズハムスター卵巣由来細胞(CHO細胞)へのASOの導入とイメージング

CHO細胞



- ASOは細胞内にてmRNA, miRNAの分解やスプライシングを阻害。
- トランスフェクションによりASOを細胞内に導入し、24 h後の分布を観察

添加後、24 h経過

固定・樹脂包埋
切片化(250 nm厚)

スライドガラスに
細胞封入

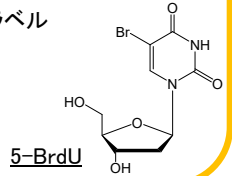
NanoSIMS
イメージング

蛍光顕微鏡
観察

■ 蛍光+Br標識ASO (モデル核酸) [濃度: 50 nM]

5' FAM-GsCsAsUsUsCsUsAsAsUsAsGsCsAsGsC-3'

- S化オリゴの16 mer (文献^{*}を参考に作成)
- U: 5-Bromo-2-deoxyuridine (5-BrdU)・・・NanoSIMS用ラベル
- 5' 末端に蛍光ラベル(FAM)・・・蛍光顕微鏡用ラベル



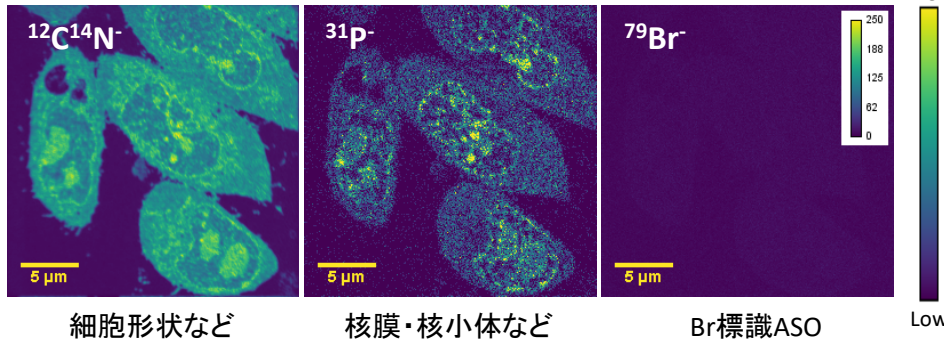
■ トランスフェクション試薬

Lipofectamine LTX

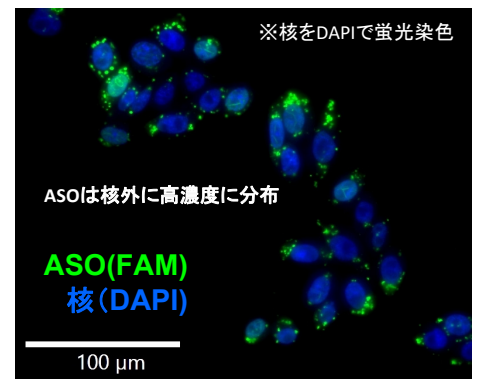
Cuiwen He et al., High-resolution visualization and quantification of nucleic acid-based therapeutics in cells and tissues using Nanoscale secondary ion mass spectrometry (NanoSIMS), *Nucleic Acids Research*, 2021; 49(1):1-14.

< NanoSIMS元素マッピング >

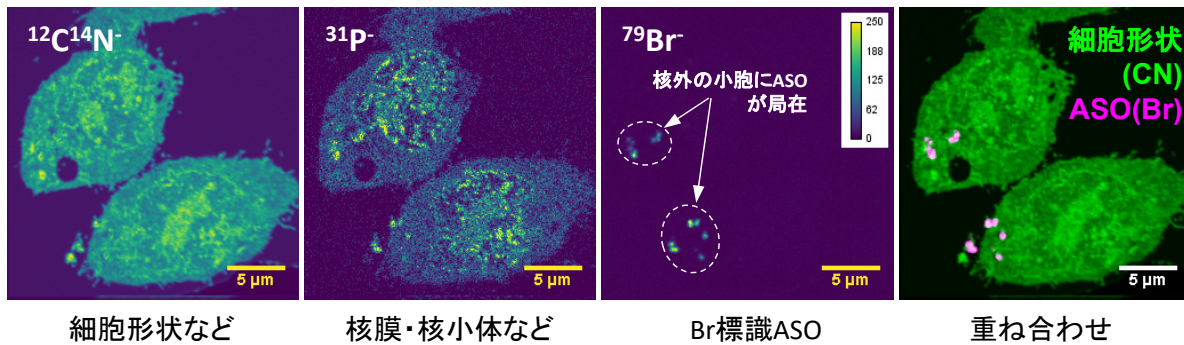
ASO添加なし: Negative control



< 蛍光顕微鏡像 >



ASO添加あり



標識元素(Br)と同時にN, P, Sなどの主成分元素をマッピングすることにより、ASOの細胞内における分布を詳細に観察することが可能である。さらに、NanoSIMSでは薬物動態への影響が懸念される蛍光プローブによるラベル化が不要であることから、**より真に近い分布評価が可能である。**