

# 使用 ImageXpress Pico 个人型高内涵系统分析 细胞自噬

## 介绍

自噬及其失调已被发现在神经退行性疾病和癌症中发挥重要作用，因此在这一过程中发现新的治疗靶点已成为一种有前途的药物治疗方法。自噬是在细胞应激反应中降解和循环受损蛋白质和细胞器的调节过程<sup>1,2</sup>。这种被称为自噬体的囊泡是通过在标记为破坏的细胞成分周围形成双膜来组装的<sup>1</sup>。然后自噬小体囊泡与溶酶体融合，将其内容物通过溶酶体水解酶降解。

自噬具有多种复杂的生理和病理生理作用，如对营养饥饿的适应、细胞内蛋白和细胞器受损的清除、细胞发育、抗衰老、微生物清除、细胞死亡、肿瘤抑制和抗原呈递等<sup>2</sup>。线粒体自噬是线粒体自噬的选择性降解。这个过程经常消除细胞损伤或应激后线粒体缺陷。

## 材料

- PC12 人神经母细胞瘤细胞系 (ATCC)
- 384-孔微孔板 (Greiner)
- Cyto-ID® 自噬检测试剂盒 (ENZO Life Sciences)
- MitoTracker Orange (ThermoFisher Scientific)
- Hoechst (ThermoFisher Scientific)
- ImageXpress™ Pico 个人型高内涵成像系统 (Molecular Devices)
- CellReporterXpress™ 自动成像分析软件 (Molecular Devices)

## 方法

本文中，我们评估了 ImageXpress Pico 个人型高内涵成像系统检测和定量分析自噬体粒子的效率。以 PC12 人神经母细胞瘤细胞系为模型进行实验研究。在 6,000 个细胞/孔的条件下，将细胞种在 384 孔板中，孵育 48 小时，通过不同浓度的氯喹或维拉帕米处理细胞，评估自噬作用 48 小时，维拉帕米诱导自噬，氯喹抑制自噬体降解，导致粒子积累。治疗后，使用细胞自噬检测试剂盒对活细胞进行染色，追踪自噬小体。此外，MitoTracker Orange 染料用于检测线粒体和 Hoechst 确定核 (分别为 0.2  $\mu\text{M}$  和 1  $\mu\text{M}$ )。使用 ImageXpress Pico 系统的 20x 或 40x 物镜和三个检测相应染料的通道 (FITC、TRITC 和 DAPI) 拍摄图像。每孔在 20x 物镜下获得一张图像，而每孔在 40x 物镜下获得 2 - 4 张图像，以确保可靠的统计结果。使用 CellReporter Xpress 图像采集和分析软件中的自噬或线粒体应用模块对图像进行分析。该算法利用核标记物对细胞进行分割，检测和表征细胞质中的自噬小体或线粒体等小物体。检测自噬的定量测量包括颗粒总量或平均数量、颗粒总量或平均面积 (亚细胞物体) 以及荧光强度测量。代表性的图像和分析标识氯喹 (30  $\mu\text{M}$ ) 处理的细胞如图 1 所示。检测氯喹和维拉帕米的浓度反应，并评价  $\text{EC}_{50}$  值。氯喹和维拉帕米处理后自噬水平分别增加了 4.6 和 3.3 倍，由总自噬小体的数量来计算 ( $\text{EC}_{50}$  值分别为 4.0 和 3.6  $\mu\text{M}$ )。

## 优势

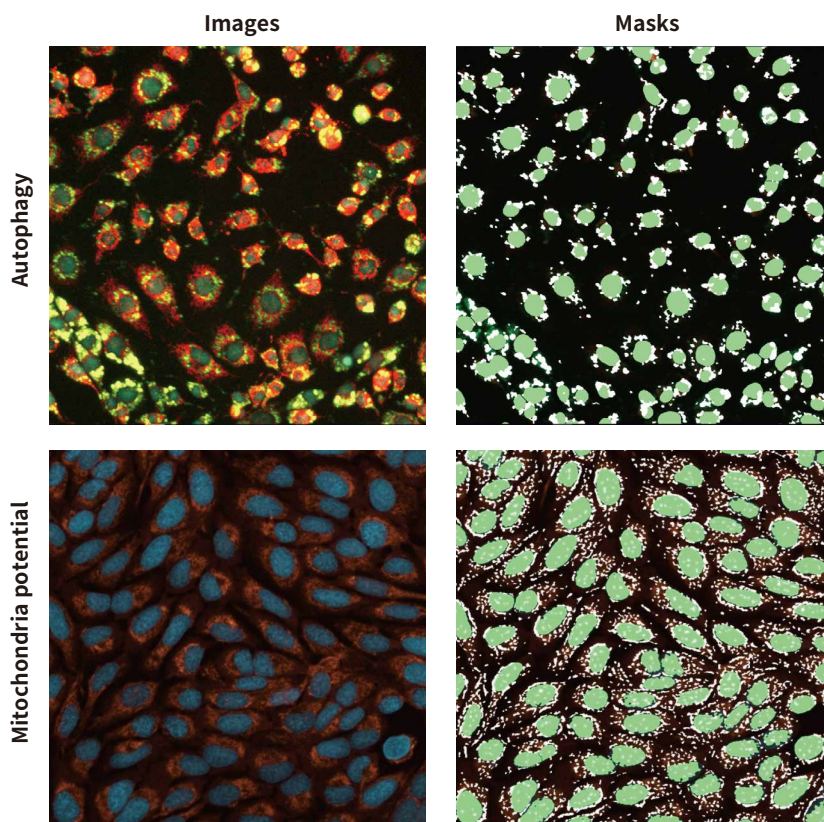
- 量化自噬过程中的化合物效应
- 使用核标记对细胞进行分割时，检测和表征小型目标物
- 使用自动化成像分析确保可靠的统计结果

## 结论

该方法可用于检测自噬颗粒，可用于检测化合物对自噬过程的影响。

## 参考文献

1. Mizushima, N; Komatsu, M (2011). Autophagy: renovation of cells and tissues. Cell. 147: 728-41
2. Mizushima, N; (2007). Autophagy: process and function, Genes & Dev. 21: 2861-2873
3. Lemasters, J (2005). Selective mitochondrial autophagy, or mitophagy, as a targeted defense against oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. Rejuvenation Research. 8: 3-5



**图1 自噬体检测。**上方为细胞自噬诱导物氯喹 (30  $\mu\text{M}$ ) 处理后的 PC12 细胞代表性自噬图像和分析标识, Cyto-ID 染料染色。在 CellReporterXpress 软件中, 我们使用了斑点分割来识别自噬颗粒。细胞核蓝色, 线粒体红色, 自噬绿色。下方显示用于线粒体检测的图像和分析标识。未处理的细胞被 MitoTracker Orange 染色



更多精彩内容  
尽在官方微信

### 美谷分子仪器 (上海) 有限公司

全国咨询服务热线: 400-820-3586  
上海 电话: 86-21-3372 1088  
北京 电话: 86-10-6410 8669  
成都 电话: 86-28-6558 8820  
台北 电话: 886-2-2656 7585  
香港

www.MolecularDevices.com.cn Email: info.china@moldev.com  
传真: 86-21-3372 1066  
传真: 86-10-6410 8601  
传真: 86-28-6558 8831  
传真: 886-2-2894 8267  
传真: 852-2289 5385

地址: 上海市长宁区福泉北路 518 号 1 座 501 室 200335  
地址: 北京市朝阳区广渠东路 3 号中水电国际大厦 612 & 613 室 100124  
地址: 成都市锦江区东御街 18 号百扬大厦 2208 室 610016  
地址: 台北市内湖区堤顶大道二段 89 号 3 楼  
地址: 香港中环皇后大道中 15 号置地广场 公爵大厦 21 楼

