

## 基于电感耦合等离子体质谱的单细胞分析\*

史俊稳<sup>1,2)</sup> 张欣颖<sup>2,3)</sup> 李亮<sup>3)</sup> 丰伟悦<sup>2)</sup> 王海芳<sup>1)</sup> 王萌<sup>2)\*\*</sup>

<sup>1)</sup> 上海大学环境与化学工程学院, 上海 200444; <sup>2)</sup> 中国科学院高能物理研究所纳米生物效应与安全性重点实验室, 北京 100049;

<sup>3)</sup> 武汉工程大学材料科学与工程学院, 武汉 430205)

**摘要** 单细胞分析可以获得细胞在微环境中准确的个体信息, 对于研究细胞的信号传导、生理病理和疾病的早期诊断等具有十分重要的意义。近年来, 基于电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)的单细胞分析方法开始得到越来越多的应用。本文综述了基于 ICP-MS 的单细胞分析方法及其在免疫分析、疾病诊断、药物筛选、纳米分析等方面的部分应用, 并对基于 ICP-MS 的单细胞分析方法做出总结和展望。

**关键词** 电感耦合等离子体质谱, 单细胞分析, 金属标签, 质谱细胞仪, 激光烧蚀

**学科分类号** O657.63, Q581, Q26

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2016.0003

细胞是生命活动的基本单位, 要探索生命活动规律, 阐明疾病发生机理, 就必须理解细胞的结构、功能及其行为<sup>[1]</sup>。过去的研究往往以细胞群体作为研究对象, 得到的结果是整个细胞群或组织层面的宏观表征。然而细胞在生长过程中会产生巨大的差异, 这种差异是由于不同细胞个体内生化反应和外界条件的微小变化累积导致的, 即所谓的细胞异质性(heterogeneity)。单细胞分析(single cell analysis)可获得细胞在微环境中准确的个体信息, 大量细胞个体呈现的差异性信息对于研究细胞的信号传导、生理病理和重大疾病的早期诊断具有十分重要的意义<sup>[2]</sup>。

单细胞分析中的研究对象多种多样, 最常见的有核酸、蛋白质、多肽以及多种小分子代谢物。除上述生物活性分子外, 微量元素特别是生命必需金属元素在细胞生命活动中也扮演了非常重要的角色。如图 1 所示, 金属离子、金属结合分子不仅在遗传信息的转录和翻译, 生物分子的修饰和代谢等方面起到了重要的作用, 而且还参与了生物合成、能量的传输和转换等诸多重要的生命过程<sup>[3]</sup>。单细胞元素分析涉及对细胞内全部金属离子和金属配合物的综合研究, 对于理解生命活动的过程具有重要的意义, 因此建立高通量、高灵敏度的单细胞元素分析方法, 已经成为目前分析化学领域中的热点

问题。

到目前为止, 很多方法已经成功应用于单细胞分析, 如流式细胞术、荧光显微镜、电泳法和微流控芯片等<sup>[4-7]</sup>。然而, 上述方法很难直接用于分析单细胞中的元素, 特别是痕量元素。电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)是最常用的无机质谱, 对痕量元素具有很好的检测能力<sup>[8]</sup>, 不但能够在单细胞水平上检测细胞内元素的含量, 也可通过金属标签间接分析单个细胞中的生物分子<sup>[9]</sup>。基于 ICP-MS 技术的单细胞分析, 在最近几年发展很快, 有望成为化学、生物学、医学等领域的重要研究工具。本文介绍了国内外基于 ICP-MS 技术的单细胞分析方法的最新进展, 并对该方法做出总结和展望。

### 1 基于质谱细胞仪的单细胞分析

流式细胞术和荧光显微成像是单细胞分析最常使用的方法<sup>[4, 10]</sup>。该类方法通常利用荧光标记物(如荧光素、量子点、绿色荧光蛋白等)完成对细胞中

\* 国家自然科学基金资助项目(21175136, U143220027)。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 010-88233190, E-mail: wangmeng@ihep.ac.cn

收稿日期: 2016-05-12, 接受日期: 2016-07-01

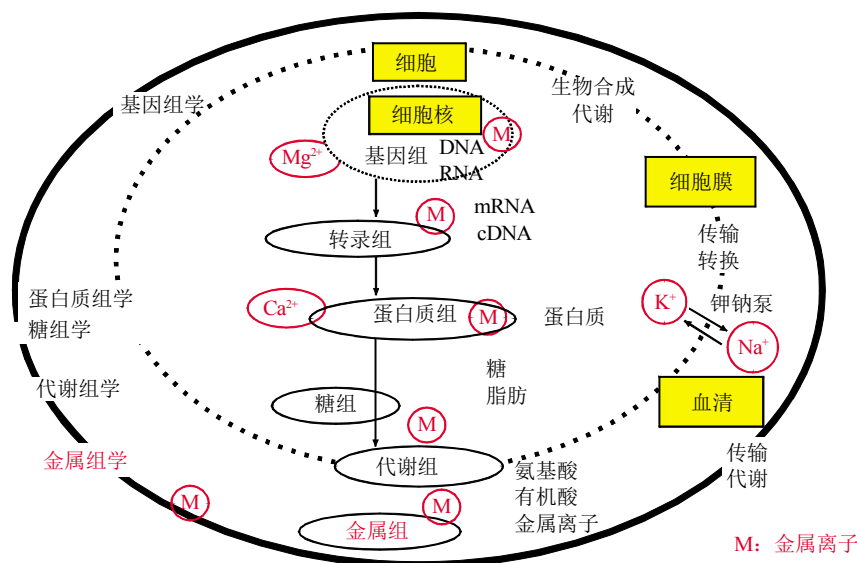


Fig. 1 A schematic diagram of biological systems (Translated with permission from Haraguchi H (2004), Copyright 2004 Royal Society of Chemistry)

图1 生物系统的模式图(翻译许可自 Haraguchi H(2004), 英国皇家化学会版权 2004)

生物分子的特异性标记, 通过检测荧光信号, 最终得到细胞中生物分子的相关信息<sup>[11]</sup>. 但是, 在使用荧光标记物时, 由于存在光谱干扰, 从而限制了同时检测的通道数量, 加之荧光信号的线性范围较窄, 从而给细胞成分的准确定量带来了很大困难<sup>[12]</sup>. 以流式细胞仪为例, 一般可以同时检测 6~12 种不同颜色的荧光, 但是因为存在着荧光的光谱干扰, 增加了系统的误差, 降低了检测结果的可靠性<sup>[12]</sup>. 此外, 荧光标记在某些研究中不容易实现, 比如研究纳米材料的生物效应时, 纳米材料往往很难标记, 而且标记常常会改变纳米材料的物理化学性质, 从而导致不可靠的研究结果.

质谱是一种很适合于单细胞分析的检测方法. 它具有极高的灵敏度、多种物质或元素同时检测的能力以及对所感兴趣的分子进行结构鉴定的能力<sup>[13]</sup>. 近年来, 质谱细胞仪(mass cytometry)开始应用于溶液中单细胞分析, 被认为可能成为下一代单细胞研究的实验平台. 质谱细胞仪是传统的流式细胞术和质谱技术的整合, 成功实现了单个细胞多参数的同时检测<sup>[14]</sup>. 与传统的荧光标记和检测方法不同, 质谱细胞仪使用金属标签(金属核素标记的生物分子, 如 <sup>151</sup>Eu 标记的抗体)识别细胞表面的蛋白质或细胞核中的核酸, 通过分析金属标签间接得到细胞的相关信息<sup>[12, 14]</sup>.

质谱细胞仪实际上是一类用于单细胞分析的 ICP-MS<sup>[15]</sup>. 与其他 ICP-MS 一样, 使用高温(约 7000K)氩气等离子体(ICP)作为离子源. 进入等离子体后, 细胞中的水分迅速蒸干, 细胞所含核素原子化和离子化, 得到的离子在质谱仪中完成分析<sup>[15]</sup>. 质谱细胞仪使用的飞行时间质量分析器(TOF), 具有很高的扫描速度和分辨率, 可以根据质核比的不同快速区分不同核素<sup>[15]</sup>. 由于有多种核素可供选择, 理论上质谱细胞仪可以同时得到单个细胞中上百种分子信息. 质谱细胞仪的实验流程见图 2.

金属标签的选择和构建是质谱细胞仪分析单细胞的关键步骤. 镧系核素由于生物背景值低、化学性质相近、质谱检测限好等优点, 常被用作金属标签. 双官能团试剂常被用来偶联生物分子和金属核素, 如在金属编码亲和标签(metal-coded affinity tag, MeCAT)<sup>[16]</sup>试剂中(图 3a), 一端的马来酰亚胺可以与抗体中的巯基结合, 另一端的 DOTA 大环可以螯合一个金属离子, 这样每个抗体平均只能偶联 1~4 个金属离子<sup>[17]</sup>. 为了降低检出限, 需要进一步增加金属标签结合的原子数. Lou 等<sup>[18]</sup>设计了一种新的基于聚合物的金属标签(图 3b), 聚合物的每个单体可以螯合一个镧系离子, 这样每个抗体可以结合约 100 个原子, 从而提高了灵敏度. 这种金属标签与荧光素相比, 具有更高的稳定性, 多参数

分析时通道间没有相互干扰的问题. 如果采用金属纳米颗粒作为金属标签, 可以进一步降低质谱细胞仪的检出限<sup>[9]</sup>.

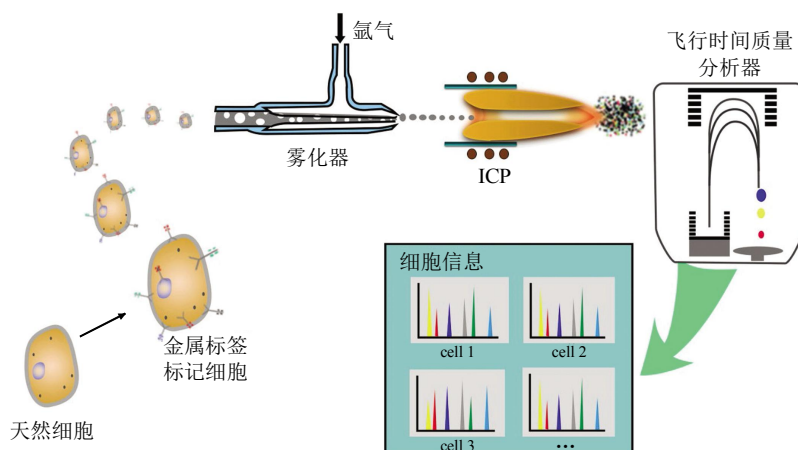


Fig. 2 Single cell analysis by mass cytometry

图 2 质谱细胞仪的单细胞分析

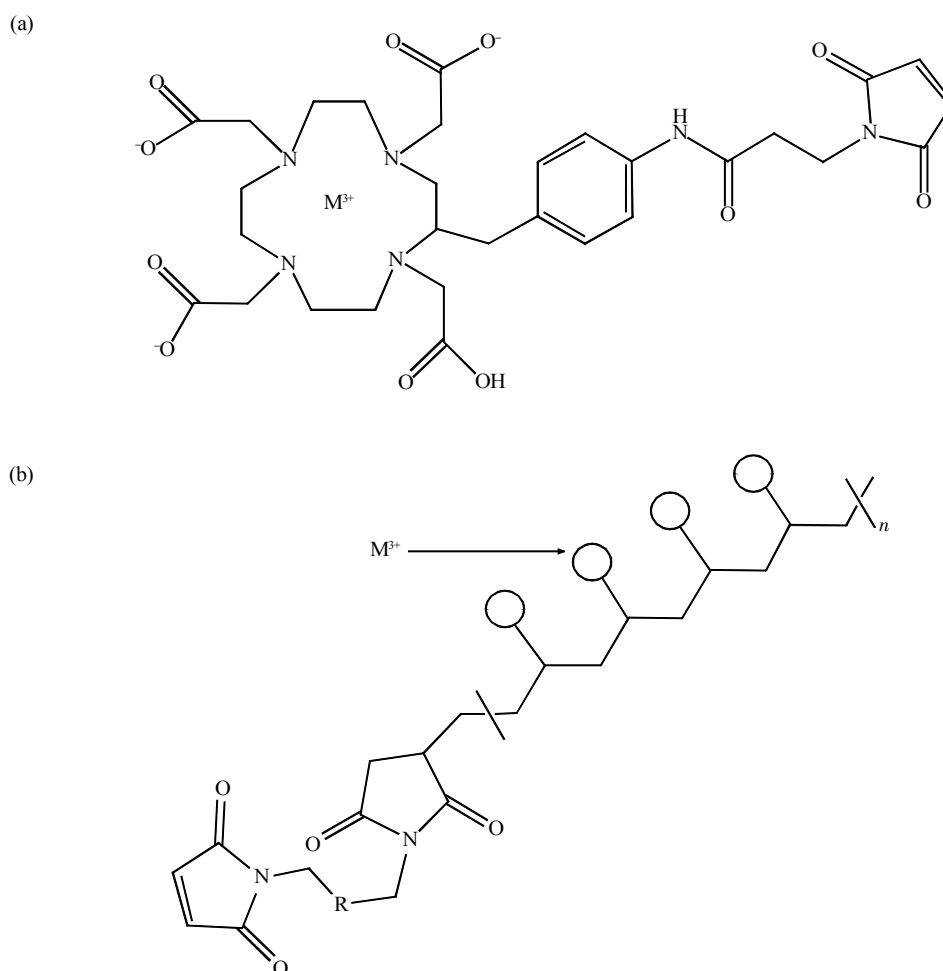


Fig. 3 Bifunctional reagents for metal tags ( $M^{3+}$  represents a lanthanide ion)

图 3 金属标签所使用双官能团试剂 ( $M^{3+}$ 代表镧系离子)

(a) 金属编码亲和和标签(MeCAT). (b) MAXPAR X8 金属螯合聚合物.

在 2011 年发表于《科学》(*Science*)的论文中, Bendall 等<sup>[20]</sup>用质谱细胞仪同时检测了单个正常人骨髓细胞中 34 个参数(包括 31 个表面标志和细胞内信号蛋白). 测量结果将骨髓细胞样品分为 30 个细胞亚群, 并可以进一步研究不同亚群细胞对刺激的反应, 从而实现对细胞表型精确的观察和分类, 更深入地理解各种细胞的生理过程和疾病的分子机制. 之后, Bodenmiller 等<sup>[21]</sup>使用 7 种镧系元素作

为质量标签细胞条码(mass-tag cellular barcoding), 标记后质谱细胞仪可以快速检测 96 孔板中的不同样品, 通过对其中 20 多个表面标志蛋白和信号分子的检测, 得到各亚群细胞对药物的不同反应, 实现了高通量药物筛选. 近年来, 质谱细胞仪在单细胞研究中得到了愈来愈多的应用, 表 1 中列举了其中的部分实例.

Table 1 Selected applications of mass cytometry

表 1 质谱细胞仪的部分应用

研究方向	样品(细胞)	分析对象	参考文献
特异性免疫和药物反应	人骨髓细胞	单细胞中 34 种参数同时分析	[20]
药物靶点验证	人外周血单核细胞	小分子调控因子带来的细胞状态扰动	[21]
细胞周期研究	HL-60, U937, NALM-6, A20 细胞, 外周血单核细胞	5-碘-2-脱氧尿苷和其他 35 种功能参数	[22]
细胞活性研究	Jurkat, OVCAR-3, KG-1, HL-60, HeLa 细胞, 外周血单核细胞	采用顺铂标记区分活细胞与死细胞	[23]
肿瘤组织多参数成像	乳腺癌组织和人乳腺上皮细胞	在亚细胞水平上分析 32 种蛋白质和蛋白修饰物	[24]

## 2 基于四级杆 ICP-MS 的单细胞元素分析

商品化的四级杆 ICP-MS 通过改进数据采集方式和样品引入方式, 可以实现溶液中单细胞的分析. 在优化后的时间分辨模式下, 质谱图中的信号数量可直接反映被检测细胞的数量, 而信号强度正比于每个细胞内的元素含量<sup>[9]</sup>. 这种方法被称为单细胞电感耦合等离子体质谱(SC-ICP-MS)分析.

Li 等<sup>[25]</sup>选用铀化合物暴露后的细菌作为研究对象, 使用铀标准溶液定量分析了单个细菌中的铀元素含量. 实验发现, 在等离子体中, 完整细胞中的金属(U、Ca、Mg)的电离效率低于金属溶液的电离效率, 而且每种金属都具有独特的不同于溶液分析的电离效率. 因此, Li 等<sup>[25]</sup>认为 SC-ICP-MS 分析时可以使用金属标准溶液作为定量标准, 但是必须根据元素在细胞中的实际电离效率加以校正.

Ho 等<sup>[26]</sup>用四级杆 ICP-MS 分析了单细胞藻类细胞内 Mg 的含量. 他们采用了 MgO 纳米颗粒悬浮液作为 Mg 的定量校准, 单细胞中 Mg 元素含量的测量结果(127 个细胞)与酸消解的平均值非常接近, 证明了该校正方法的可行性. 但是作者没有对比 MgO 纳米颗粒与细胞内的 Mg 在等离子体中是否有相同的电离效率, 没有论证是否需要做进一步

的校正.

在方法学不断发展的同时, SC-ICP-MS 开始应用于金属药物、纳米毒理、金属相关疾病等研究. Tsang 等<sup>[27]</sup>利用 SC-ICP-MS 方法研究了幽门螺旋杆菌对铋抗溃疡药物的摄取, 展示出了幽门螺旋杆菌摄取铋的动力学过程. 此外, 他们还发现幽门螺旋杆菌中存在一个竞争性运输途径, 铁离子( $Fe^{3+}$ )会阻碍幽门螺旋杆菌对铋的摄取<sup>[27]</sup>. SC-ICP-MS 为在单细胞水平研究金属相关的生物学过程提供了一个通用的策略.

Zheng 等<sup>[28]</sup>为了研究量子点及其降解产物的细胞毒性, 用 SC-ICP-MS 分析单个巨噬细胞中量子点, 研究了细胞摄取量子点的动力学过程. 与其他方法相比, SC-ICP-MS 可通过检测元素直接测量量子点及其降解产物, 具有一定技术优势<sup>[28]</sup>. Zheng 等<sup>[29]</sup>还在单细胞水平上分析两种抗肿瘤药物顺铂和金属富勒醇, 得到了基于单细胞分析的药物代谢曲线, 为毒理学和药代动力学提供了不同于细胞群体分析的可以体现单细胞差异的研究数据. Wang 等<sup>[30]</sup>在单细胞水平上测量了癌症细胞(HeLa 和 A549)和正常细胞(16HBE)中的微量元素含量. 研究工作得到了上述三种细胞内 Fe、Cu、Zn、Mn、P 和 S 6 种元素的含量及细胞间元素含量的

差异, 为区分肿瘤细胞和正常细胞提供了一个新的可能途径, 也为进一步理解微量元素在肿瘤细胞中的行为和作用提供了重要的基础数据<sup>[30]</sup>.

尽管 SC-ICP-MS 在分析溶液中单细胞的微量元素方面取得了快速发展, 为在单细胞水平上研究金属相关的生物学过程提供了一个通用的策略, 但是由于缺乏单细胞元素定量标准物质, 现阶段 SC-ICP-MS 常常被当作一种半定量的方法.

### 3 基于 LA-ICP-MS 的单细胞分析

激光烧蚀(laser ablation, LA)是 ICP-MS 的固体进样系统<sup>[31]</sup>. 在聚焦的高能激光的照射下, 微区样品受热解离形成气溶胶. 产生的气溶胶由载气(氦气或氩气)运送至等离子体中完成解离、原子化和离子化过程, 最终被质谱仪检测. 与溶液的进样方式相比, LA-ICP-MS 具有原位(*in situ*)、微区(低至 5  $\mu\text{m}$ )、快速等优点<sup>[31]</sup>.

Giesen 等<sup>[32]</sup>用碘对细胞进行染色, 再通过 LA-ICP-MS 原位分析, 得到了较为清晰的碘成像图. 结果显示碘进入细胞后, 主要富集在细胞核中.

Managh 等<sup>[33]</sup>利用含 Gd 造影剂标记了人外周血 CD 4<sup>+</sup> T 细胞后, 将其经腹腔注入小鼠体内, 在第 3、6 和 10 天, 分别收集小鼠体内血液样品, 用 LA-ICP-MS 检测其中的 Gd 标记细胞, 实现了单细胞的示踪. 结果表明, 在腹腔注射后 10 天, 在小鼠样品中仍可以检出 Gd 标记的人 CD 4<sup>+</sup> T 细胞.

上述研究显示了 LA-ICP-MS 在单细胞分析中的巨大潜力. 但是, 准确定量分析单细胞中元素, 仍然是 LA-ICP-MS 方法学的一个挑战. Drescher 等<sup>[34]</sup>用移液器在硝基纤维薄膜上制备金属纳米颗粒液滴( $\sim 0.5 \mu\text{l}$ ), 作为基体匹配标准, 实现了 LA-ICP-MS 对单细胞中金属纳米颗粒的定量分析. 然而, 用移液器制备的液滴(微升量级)与细胞(皮升量级)的体积有巨大的差别, 严重影响了结果的可靠性.

Wang 等<sup>[35]</sup>建立了一种新的单细胞定量方法. 他们使用微喷系统制备了一系列与细胞大小相似、含碳量相近的金标准液滴, 作为 LA-ICP-MS 的单细胞定量标准, 测定了载玻片上单细胞中的金纳米颗粒. 结果表明, 70 个细胞中的金纳米颗粒的含量呈对数正态分布, 即使培养条件和暴露剂量都相同, 细胞间的金纳米颗粒吞噬量可相差 40 倍(图 4)<sup>[35]</sup>.

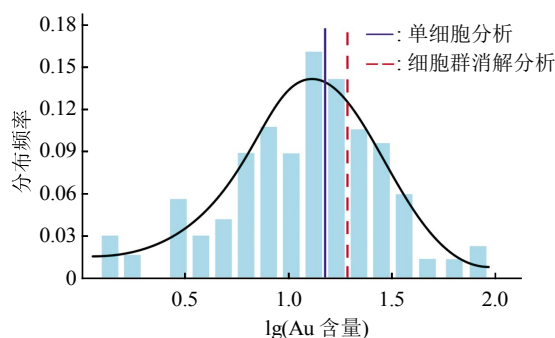


Fig. 4 Histogram showing the log-normal distribution of Au mass for the ablation of 70 cells(Reprinted with permission from Wang M et al. (2014), Copyright 2014 American Chemical Society)

图 4 70 个细胞中金纳米颗粒的分布图

单细胞的金含量平均值(蓝色实线)为 15 fg, 细胞群体的平均值(红色虚线)为 18 fg<sup>[35]</sup>. (转载许可自 Wang M et al. (2014), 美国化学会版权 2014).

利用上述单细胞质谱方法, Zhai 等<sup>[36]</sup>分析了人红白血病细胞膜上的  $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$  整合素. 他们用金团簇(含 24 个金原子)偶联整合素  $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$  的靶向多肽分子作为金属标签, 特异标记细胞膜上的  $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$  整合素, 通过 LA-ICP-MS 分析单细胞中金含量, 得到了在单细胞上  $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$  的表达量, 其范围在 0.5~0.9 amol 量级<sup>[36]</sup>.

除了商品化四级杆 ICP-MS, 最近文献中也有 LA 与质谱细胞仪联用的报道. Giesen 等<sup>[24]</sup>使用 LA 与质谱细胞仪联用, 在亚细胞水平上对乳腺癌组织样品中 32 种蛋白质同时进行了免疫成像, 其结果与常规的荧光显微镜的结果相符. 这种成像质谱细胞技术实现了对细胞亚群、细胞之间的相互作用以及肿瘤特异性的精准描述<sup>[24]</sup>.

## 4 结论与展望

单细胞分析可获得细胞在微环境中准确的个体信息, 大量细胞个体呈现的差异性信息对于研究细胞的信号传导、生理病理和重大疾病的早期诊断具有十分重要的意义. 基于 ICP-MS 的单细胞分析方法, 可实现单个细胞的多参数分析和准确的定量分析, 为在单细胞水平上研究与金属元素相关的生物过程提供了一个通用的策略, 具有广阔的应用前景, 如细胞内多元素监测、金属药物代谢动力学研究、快速诊断金属相关疾病、基于元素调查细胞的

异质性等。然而, ICP-MS 单细胞分析方法目前正处于发展阶段, 还存在很多不足: ICP-MS 只能提供元素信息, 不能直接测定生物活性分子; 不同于分选的流式细胞术, ICP-MS 分析是有损分析, 无法回收细胞; 质谱的检测能力, 特别是四级杆质谱在灵敏度和采集速率方面还有待提高, 以便更好地实现单细胞中多元素 / 多参数同时检测; 相关应用开发还不充分, 完全无法涵盖细胞内金属相关生物学过程(图 1)的领域。

对于该方法的未来发展趋势, 笔者认为: a. 现有的 ICP-MS 单细胞分析手段, 远远不能满足研究的需要。未来只有不断发展新的单细胞分析方法, 探索新的研究途径, 整合各种技术手段, 如 ICP-MS 单细胞元素检测与其他检测技术, 如电喷雾(electrospray ionization)质谱<sup>[13]</sup>、激光质谱<sup>[37]</sup>、电化学分析<sup>[38]</sup>、荧光成像方法<sup>[9]</sup>多元化结合使用, 才能进一步揭示细胞内复杂的生理过程。b. ICP-MS 的检测灵敏度和数据采集速率需要进一步提高, 不仅是质量分析器的能力提升, 而且专业配套的数据采集软件也需要跟上。这样, 单细胞中各种内源性微量元素或摄取的外源性特定元素的多参数同时检测能更好地实现, 才可能获得更多、更有价值的基于元素反映细胞异质性的信息。c. 进一步开展相关的应用工作, 如金属相关疾病诊断、金属药物病理毒理学研究等, 从“元素”角度为推动单细胞生物学研究不断前进作出有效补充。

### 参 考 文 献

- [1] 汤雪明. 医学细胞生物学. 北京: 北京科学出版社, 2004  
Tang X M. Medical Cell Biology. Beijing: Beijing Science Press, 2004
- [2] Wang D, Bodovitz S. Single cell analysis: the new frontier in 'omics'. Trends Biotechnol, 2010, **28**(6): 281-290
- [3] Haraguchi H. Metallomics as integrated biometal science. J Anal At Spectrom, 2004, **19**(1): 5-14
- [4] Trouillon R, Passarelli M K, Wang J, *et al.* Chemical analysis of single cells. Anal Chem, 2013, **85**(2): 522-542
- [5] Guo Y S, Li X M, Ye S J, *et al.* Modern optical techniques provide a bright outlook for cell analysis. Trends Anal Chem, 2013, **42**(1): 168-185
- [6] 秦椿华, 沈建英, 黄仕和, 等. DNA 断裂检测方法——单细胞凝胶电泳法. 生物化学与生物物理进展, 1995, **22**(6): 517-520  
Qin C H, Shen J Y, Huang S H, *et al.* Prog Biochem Biophys, 1995, **22**(6): 517-520
- [7] 高 健, 殷学峰, 方肇伦. 微流控芯片系统在单细胞研究中的应用. 化学进展, 2004, **16**(6): 975-983  
Gao J, Yin X F, Fang Z L. Progress in Chemistry, 2004, **16**(6): 975-983
- [8] Wang M, Feng W Y, Zhao Y L, *et al.* ICP-MS-based strategies for protein quantification. Mass Spectrom Rev, 2010, **29**(2): 326-348
- [9] Mueller L, Traub H, Jakubowski N, *et al.* Trends in single-cell analysis by use of ICP-MS. Anal Bioanal Chem, 2014, **406**(27): 6963-6977
- [10] Schmid A, Kortmann H, Dittrich P S, *et al.* Chemical and biological single cell analysis. Curr Opin Biotechnol, 2010, **21**(1): 12-20
- [11] Stender A S, Marchuk K, Liu C, *et al.* Single cell optical imaging and spectroscopy. Chem Rev, 2013, **113**(4): 2469-2527
- [12] Bjornson Z B, Nolan G P, Fantl W J. Single-cell mass cytometry for analysis of immune system functional states. Curr Opin Immunol, 2013, **25**(4): 484-494
- [13] 龚晓云, 熊行创, 张四纯, 等. 单细胞质谱分析方法研究进展, 中国科学: 化学, 2016, **46**(2): 133-152  
Gong X Y, Xiong X C, Zhang S C, *et al.* Sci Sin Chem, 2016, **46**(2): 133-152
- [14] Bendall S C, Nolan G P, Roederer M, *et al.* A deep profiler's guide to cytometry. Trends Immunol, 2012, **33**(7): 323-332
- [15] Bandura D R, Baranov V I, Ornatsky O I, *et al.* Mass cytometry: technique for real time single cell multitarget immunoassay based on inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry. Anal Chem, 2009, **81**(16): 6813-6822
- [16] Ahrends R, Pieper S, Kühn A, *et al.* A metal-coded affinity tag approach to quantitative proteomics. Mol Cell Proteomics, 2007, **6**(11): 1907-1916
- [17] Waentig L, Jakubowski N, Scheler C, *et al.* Comparison of different chelates for lanthanide labeling of antibodies and application in a Western blot immunoassay combined with detection by laser ablation (LA-)ICP-MS. J Anal At Spectrom, 2012, **27**(8): 1311-1320
- [18] Lou X, Zhang G, Herrera I, *et al.* Polymer-based elemental tags for sensitive bioassays. Angew Chem-Int Edit, 2007, **46**(32): 6111-6114
- [19] Lin W J, Hou Y, Lu Y J, *et al.* A high-sensitivity lanthanide nanoparticle reporter for mass cytometry: tests on microgels as a proxy for cells. Langmuir, 2014, **30**(11): 3142-3153
- [20] Bendall S C, Simonds E F, Qiu P, *et al.* Single-cell mass cytometry of differential immune and drug responses across a human hematopoietic continuum. Science, 2011, **332**(6030): 687-696
- [21] Bodenmiller B, Zunder E R, Finck R, *et al.* Multiplexed mass cytometry profiling of cellular states perturbed by small-molecule regulators. Nat Biotechnol, 2012, **30**(9): 858-867
- [22] Behbehani G K, Bendall S C, Clutter M R, *et al.* Single-cell mass cytometry adapted to measurements of the cell cycle. Cytometry A, 2012, **81A**(7): 552-566
- [23] Fienberg H G, Simonds E F, Fantl W J, *et al.* A platinum-based covalent viability reagent for single-cell mass cytometry. Cytometry A, 2012, **81A**(6): 467-475
- [24] Giesen C, Wang H A, Schapiro D, *et al.* Highly multiplexed imaging of tumor tissues with subcellular resolution by mass

- cytometry. *Nat Methods*, 2014, **11**(4): 417–422
- [25] Li F M, Armstrong D W, Houk R S. Behavior of bacteria in the inductively coupled plasma: atomization and production of atomic ions for mass spectrometry. *Anal Chem*, 2005, **77**(5): 1407–1413
- [26] Ho K S, Chan W T. Time-resolved ICP-MS measurement for single-cell analysis and on-line cytometry. *J Anal At Spectrom*, 2010, **25**(7): 1114–1122
- [27] Tsang C N, Ho K S, Sun H, *et al.* Tracking bismuth antiulcer drug uptake in single *Helicobacter pylori* cells. *J Am Chem Soc*, 2011, **133**(19): 7355–7357
- [28] Zheng L N, Wang M, Wang B, *et al.* Determination of quantum dots in single cells by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta*, 2013, **116**(22): 782–787
- [29] Zheng L N, Wang M, Zhao L C, *et al.* Quantitative analysis of Gd@C82(OH) 22 and cisplatin uptake in single cells by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 2015, **407**(9): 2383–2391
- [30] Wang H L, Wang B, Wang M, *et al.* Time-resolved ICP-MS analysis of mineral element contents and distribution patterns in single cells. *Analyst*, 2015, **140**(2): 523–531
- [31] Guenther D, Hattendorf B. Solid sample analysis using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Trends Anal Chem*, 2005, **24**(3): 255–265
- [32] Giesen C, Waentig L, Mairinger T, *et al.* Iodine as an elemental marker for imaging of single cells and tissue sections by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Anal At Spectrom*, 2011, **26**(11): 2160–2165
- [33] Managh A J, Edwards S L, Bushell A, *et al.* Single cell tracking of gadolinium labelled CD4+ T cells by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Anal Chem*, 2013, **85**(22): 10627–10634
- [34] Drescher D, Giesen C, Traub H, *et al.* Quantitative imaging of gold and silver nanoparticles in single eukaryotic cells by laser ablation ICP-MS. *Anal Chem*, 2012, **84**(22): 9684–9688
- [35] Wang M, Zheng L N, Wang B, *et al.* Quantitative analysis of gold nanoparticles in single cells by laser ablation inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Anal Chem*, 2014, **86** (20): 10252–10256
- [36] Zhai J, Wang Y L, Xu C, *et al.* Facile approach to observe and quantify the  $\alpha$  II  $\beta$ 3 integrin on a single-cell. *Anal Chem*, 2015, **87**(5): 2546–2549
- [37] Gao Y, Lin Y M, Zhang B C, *et al.* Single-cell elemental analysis *via* high irradiance femtosecond laser ionization time-of-flight mass spectrometry. *Anal Chem*, 2013, **85**(9): 4268–4272
- [38] Adams R N. Probing brain chemistry with electroanalytical techniques. *Anal Chem*, 1976, **48**(14): 1126A–1138A



## Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry-Based Techniques for Single Cell Analysis\*

SHI Jun-Wen<sup>1,2</sup>, ZHANG Xin-Ying<sup>2,3</sup>, LI Liang<sup>3</sup>, FENG Wei-Yue<sup>2</sup>, WANG Hai-Fang<sup>1</sup>, WANG Meng<sup>2</sup>\*\*

<sup>1</sup> School of Environment and Chemical Engineering, Shanghai University, Shanghai 200444, China;

<sup>2</sup> Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials and Nanosafety, Institute of High Energy Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

<sup>3</sup> School of Material Science and Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China)

**Abstract** Previous studies generally focused on the cell colony and the obtained information was commonly the average of many cell individuals. However, each cell has a different behavior, which is known as cell heterogeneity. Single cell analysis can accurately obtain valuable information of each cell in the microenvironment and thus there is an urgent need for single cell analysis. Many methods have been successfully employed to single cell analysis, such as flow cytometry, fluorescence microscopy, capillary electrophoresis and microfluidic chips. In these methods, single cells are usually stained by a fluorescent label (*e.g.* fluorescein, quantum dots, green fluorescent protein, *etc.*) and then detected *via* the fluorescent signal. However, simultaneous analysis of multiple parameters in a single cell is always challenging because of the overlap in fluorescent spectrum. In addition, the linear range of the fluorescence method is relatively narrow, making difficulty for accurate quantification, especially when comparing signals with considerable difference. To meet these challenges, a new method based on inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) has emerged for single cell analysis. Intracellular elements can be determined directly by ICP-MS at a single cell level. In combination with labeling techniques (*e.g.* element labeling of an antibody), biomolecules in single cells can also be determined *via* elements analysis by ICP-MS. This paper summaries both the ICP-MS-based methodology and selected applications in immunoassay, disease detection, drug screen, and nanoanalysis at a single cell level. A prospective of this method and its applications is also discussed.

**Key words** ICP-MS, single cell analysis, metal tag, mass cytometry, laser ablation

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2016.0003

---

\* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (21175136, U143220027).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-10-88233190, E-mail: wangmeng@ihep.ac.cn

Received: May 12, 2016 Accepted: July 1, 2016