

独特无标记细胞分析技术无需荧光染料标记细胞也可对其进行成像分析

介绍

基于细胞成像的分析技术一般需要使用荧光染料进行标记，一些荧光标记可能对活细胞具有毒性或者只能用于固定过的细胞进行染色。无标记细胞分析技术使得研究者既无需耗时耗力的染色流程也无需担心染料对正常细胞活力的影响，就可以计算出细胞数目和细胞汇合度，第一时间获得量化的细胞增殖及健康情况的数据。装有 MiniMax™ 300 细胞成像模块的 SpectraMax® i3 多功能微孔板检测平台具有专利的 StainFree™ 无标记细胞分析技术。该技术可应用于细胞增殖、细胞毒性或其他分析，无需 DAPI 标记细胞核，DAPI 作为活细胞染料可结合 DNA，但长时间标记会对细胞产生毒性。

本文将比较使用无标记细胞分析技术进行细胞计数与使用传统的荧光染料标记细胞核和整个细胞进行计数的区别。同样展示出如何通过无标记细胞分析技术来替代荧光染料标记的方法来获得化合物处理细胞后的 IC₅₀ 曲线。

无标记细胞分析技术进行细胞计数

将 CHO 细胞按照 8000/孔至 250/孔的密度铺在 384 孔板中并培养过夜。第二天，使用 SpectraMax MiniMax 细胞成像系统的透射光 (TL) 通道进行成像。为了更好的比较无标记细胞计数和荧光标记细胞计数两种方法的效果，相同细胞被固定后用绿色全细胞染料或红色核染料进行染色，然后使用相应的荧光通道 (541 nm 和 713 nm) 进行成像。

无标记分析技术使用的是透射光通道成像后对细胞数目进行计算。SoftMax Pro 软件中，已预先设置针对许多不同类型细胞的分析模块，只需轻点读取按键即可获得结果。操作者也可利用其仪器自学习的功能，即软件的一种逻辑算法，教会软件去识别细胞 (如图 1)。可以对单个细胞进行计数或者对细胞的汇合度进行分析，提供了一种快捷的方法可以随时随地监测细胞的生长状况而无需对其进行染色。用户也可根据需要选择自定义设置，仪器具有的温度控制功能可维持细胞成像过程在 37 °C 的环境下，这样可以避免长时间室温环境下进行细胞成像对细胞活力的影响。

优势

- 无需荧光染料标记也可计算出细胞数目和细胞汇合度
- 在不影响细胞正常生长情况下对其进行监测
- SoftMax Pro 软件其直观化的用户操作界面使得成像设置更加简便和快捷

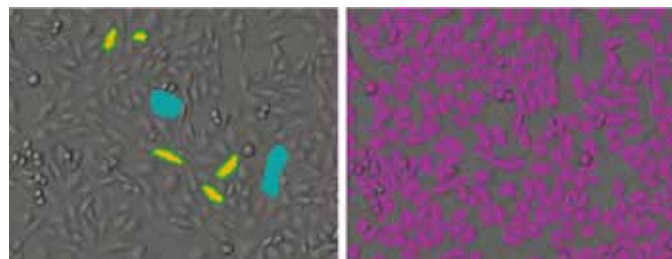


图 1. SoftMax Pro 软件中的无标记分析。左图：新建无标记分析设置，鼠标点击标出细胞，如图片中的单个独立的细胞 (黄色) 或非细胞区域 (蓝色)。右图：紫色标记位置展示了图片中被找到的目标细胞

通过 SoftMax Pro 软件进行数据分析后，我们发现红色和绿色荧光通道细胞计数的结果与无标记方法获得的细胞数目有着高度的一致性。软件中预设核计数和全细胞计数分析模块可加速其进行分析。图 2 显示两种方法计算出的细胞数目曲线几乎重合。

无标记细胞分析技术进行细胞毒性检测

将 HeLa 细胞按 5000/孔的密度铺在 384 孔板中并培养过夜。第二天使用几种可诱导细胞死亡的化合物处理 72 小时，利用 SpectraMax MiniMax 细胞成像系统进行分析。无标记分析法计算处理后活细胞数量，并用 SoftMax Pro 软件绘制出其 IC₅₀ 曲线。结果显示细胞对化合物的反应情况无需通过破坏性强的染色和脱色步骤也可被准确的检测到 (图 3)。

总结

无标记分析技术作为一种可进行细胞计数和监测细胞生长状态的新方法，可大大节约了试验的时间和昂贵的染料。无需固定细胞和染色意味着生长中的活细胞也能在任何时间被分析检测，并且不干扰细胞之后的正常生长，方便进行后续分析检测。

SoftMax Pro 软件具有简便的成像分析操作界面，针对各种常见细胞类型提供了方便用户的预设分析模块，同样研究者也可按自己的需要进行自定义设置。

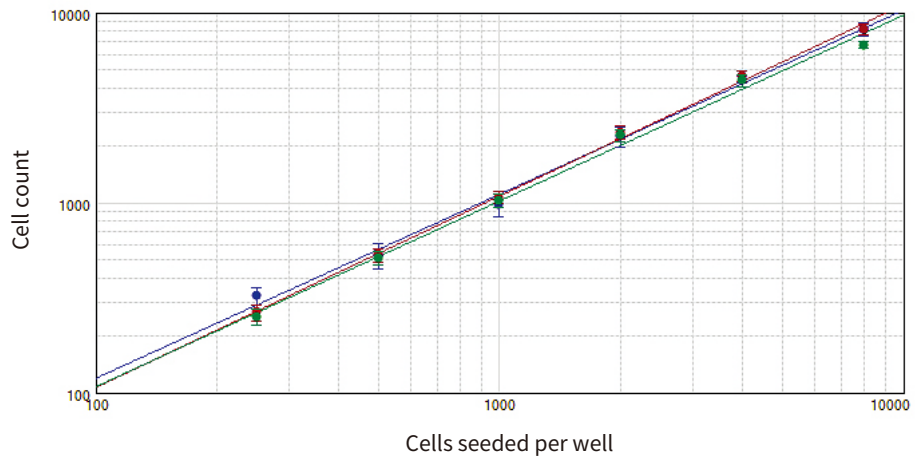


图 2. 比较无标记分析法与荧光标记法进行细胞计数获得的结果。无标记分析法计算细胞数 (蓝色)，核染色法 (红色)，全细胞染色法 (绿色)。三种方法的计数结果几乎相同，显示出即使不使用荧光染色，通过无标记分析技术也可获得准确可靠的细胞计数结果 (各曲线 $R^2 > 0.99$)。

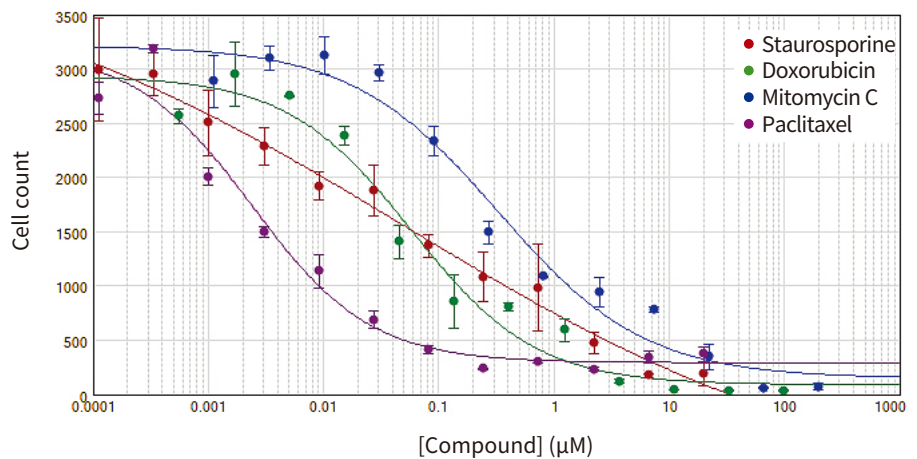


图 3. 具有细胞毒性化合物的 IC₅₀ 曲线。无标记细胞分析技术进行计数，然后将细胞数量变化同化合物浓度变化拟合出一条 IC₅₀ 曲线。



扫一扫关注我们
的官方微信