

APPLICATION NOTE

使用 ImageXpress Micro 高内涵成像系统测量线粒体形状和分布

介绍

对线粒体反应的评估通常被用于确定化合物对细胞健康的特定影响。这些反应可能涉及线粒体维持稳定膜电位的能力，如荧光指示剂（如某些 MitoTracker™ 染料）强度所显示的那样。其他类型的可测量反应是细胞内细胞器形态和分布的变化。

高内涵成像测量可以在微孔板中培养和处理细胞，在没有洗涤步骤的情况下进行活细胞成像，在细胞最自然状态的状态下进行实时研究，尽管如果需要终点法测定，某些染料在固定后仍然存在。结合高放大倍率，共聚焦光学和z平面的集合，可以生成三维图像，以便随后作为三维个体进行分析，大大增加了从每个细胞中获得的信息量。

使用 ImageXpress® Micro Confocal 高内涵成像系统和 MetaXpress® 高内涵图像采集和分析软件，可以在自动化筛选环境中进行这些检测。

材料

- MitoTracker Orange CMTMRos (Life Technologies P/N M7510)
- WI - 38 人肺成纤维细胞 (P 12)
- 鱼藤酮
- 氯喹
- 384 孔黑色底透微孔板 (BD Falcon P/N 353962)
- Hoechst 33342 核染料
- ImageXpress Micro Confocal 高内涵成像系统

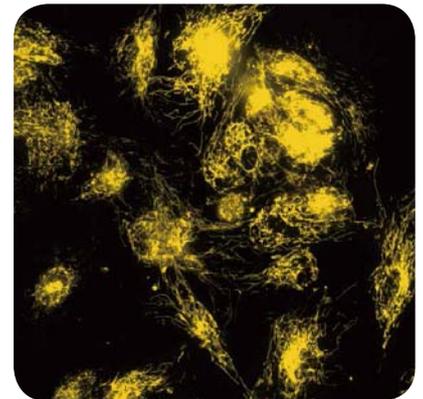
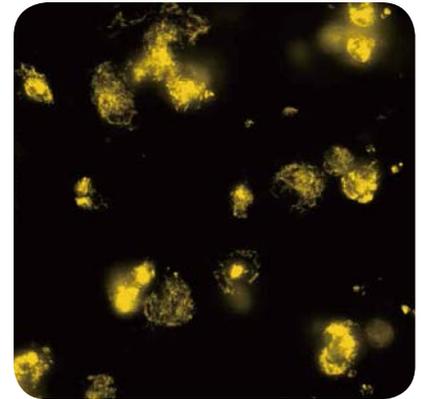
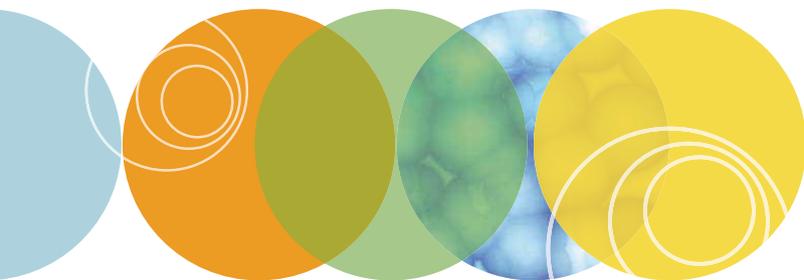


图1 使用 60 X 物镜拍摄的原始 2D 投影图像。用 50 μ M 鱼藤酮 (上图) 和氯喹 (下图) 处理的细胞中的线粒体



测定方法

将 WI - 38 细胞以每孔 7,500 个细胞, 50 μ L/孔, 接种于组织培养物处理的 384 孔微孔板中。在 37°C, 5 % CO₂ 培养箱中附着 30 分钟。然后用 3 种不同浓度的鱼藤酮或氯喹处理孔 30 分钟。最后向每个孔中加入 10 μ L 浓度为 6 X 的 MitoTracker Orange + Hoechst, 最终浓度为 100 nM 线粒体染料和 5 μ M Hoechst。孵育 90 分钟后, 将微孔板用 ImageXpress Micro Confocal 系统进行成像, 使用 DAPI 和 TRITC 滤光片组以及 40 X 或 60 X Plan Apo 物镜 (图 1)。

数据分析

在 MetaXpress 软件中, 使用 3D 分析模块, 可视化并分析在 ImageXpress Micro Confocal 系统上成像的细胞。通过逐步输入用户参数, 该模块可精确分割细胞核, 除了将线粒体分为收缩或伸长状态以外, 还可以输出线粒体总数的测量值, 并提供单独线粒体形态的测量值。从 z 系列得到的 3D 渲染可以验证分割图像准确识别了原始图像中的个体, 并突出显示对分析可能感兴趣的形态和空间参数。

结果

实验表明, 经氯喹处理的细胞线粒体体积增加, 同时保持了对照组细胞中线粒体的伸长与收缩形态的比例。与对照组相比, 鱼藤酮处理的细胞表现出线粒体的收缩, 表现为总体积的减少以及收缩状态线粒体占比的增加。

ImageXpress Micro Confocal 高内涵成像系统用于获取多个 z 高度的高质量图像, 配合带有 3D 分析模块的 MetaXpress 高内涵图像采集和分析软件, 为科学家提供了一种快速、可靠的基于图像的多亚细胞线粒体反应定量方法。

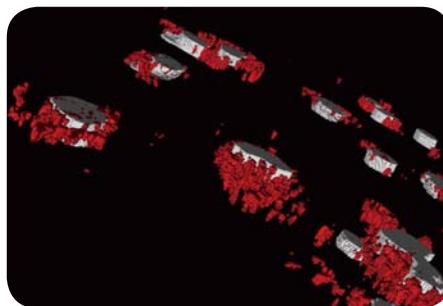


图 2 染色的线粒体(红色)和细胞核(白色)的等值面覆盖图的 3D 渲染。(左) 50 μ M 鱼藤酮处理的细胞表现出收缩并靠近细胞核; (右) 氯喹处理的细胞展现出在整个细胞中扩散的伸长的线粒体

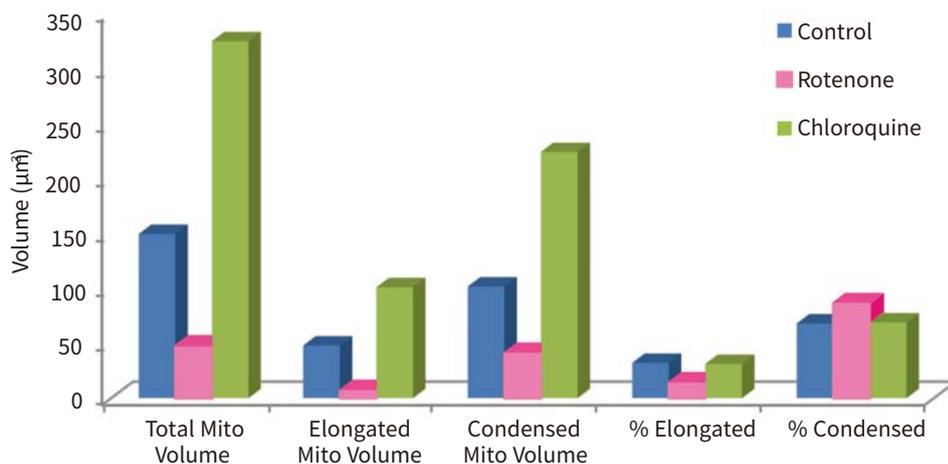


图 3 将 50 μ M 化合物处理的细胞与未处理的对照组细胞进行比较的测量参数



更多精彩内容
尽在官方微信



ImageXpress Micro Confocal High-Content Imaging System

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

