

# 具有全新成像模块和目标识别软件的多功能微孔板检测系统

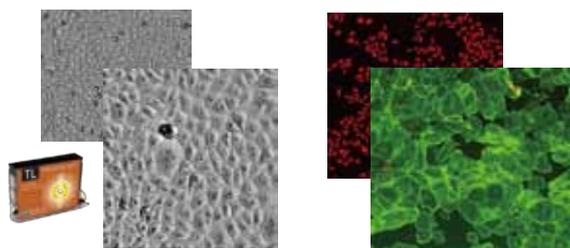
## 帮助您轻松应对复杂的基于细胞学检测的试验

### 摘要

当需获得高质量、多种参数的数据时，我们需要一种能够进行复杂的基于细胞学检测的仪器来提高数据获取速度。这里我们通过一系列基于细胞学检测的结果，来介绍一款将细胞成像系统和多功能微孔板检测系统整合于一体的仪器，它既能够提高检测的通量，也能够增加检测数据的丰富度。此仪器即为Molecular Devices公司最新推出的SpectraMax® MiniMax™ 300，其标配有一个白色透射光通道和两个荧光检测通道。其专利的免染料标记细胞检测技术，可通过其白色透射光通道对微孔板内没有标记的细胞进行精确计数，帮助分析细胞增殖、分化和化合物对细胞的毒性影响等情况。其标配的两个荧光通道大大提高了仪器的检测范围，包括检测细胞增殖、转染效率、细胞活力/细胞凋亡、细胞分化或者细胞周期。分析软件中使用了全新的逻辑运算方式来识别细胞，可以简化分析过程并且可输出更多种参数数据：细胞数目、细胞汇合度、平均和完整的细胞面积、平均和完整的荧光信号强度。我们列举了几种基于细胞动力学检测的实例。我们展示了如何利用全新的细胞成像系统来更好的服务于生物学的研究，基于此平台的基础上发展了几种既适合生物制药企业也适合研究中心的检测方法。

### SpectraMax® MiniMax™ 300细胞成像系统

- 可结合SpectraMax® i3多功能微孔板检测系统
- 荧光&透射光模块
- 简便的操作来源于其全自动化设计
  - 专有固态照明
  - 高灵敏度的CCD相机
  - 专有的激光自动聚焦方式
- 优异均一性&对比度
- 专业的SoftMax® Pro软件



### 方法：

#### 肝细胞毒性试验

- 根据Protocol要求将Hela细胞种在96孔板中(4000 cell/well),使用抗癌化合物处理细胞48小时以后，用MinMax成像系统的透射光通道获取细胞图像，并且在无需染料的情况下，仅通过软件的逻辑运算功能就可以对细胞进行计数或得出细胞覆盖面积的百分比。使用SoftMax6.4软件直接获得IC50值，可在不同时间点进行数据的采集。

#### 肝细胞毒性试验

- 使用来自于Cellular Dynamics International(CDI)公司的由iPSC(诱导多功能干细胞)分化的肝细胞，按照其要求种在微孔板中。使用胶原包被的96孔板，其中细胞密度为60000 cell/well，

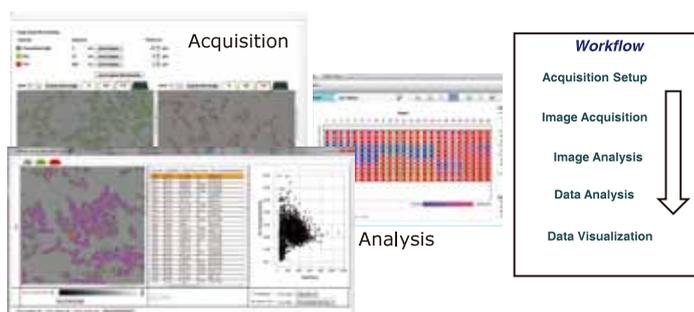
或者使用胶原包被的384孔板，其中细胞密度为15000cell/well，培养2-3天，然后用相应化合物刺激细胞72小时。使用Calcein(活细胞检测试剂盒，Invitrogen)或者使用鬼笔环肽共轭连接的AF488(固定细胞，BD试剂盒)染料对细胞进行染色，使用MinMax成像系统获得图像后，利用软件逻辑运算功能分析细胞的增殖情况。

#### 造血干细胞的分化&毒性

- 将造血干细胞(CD34+细胞，Lonza)种在96孔板中，然后加入细胞因子指示剂和抗癌药物后培养5天。使用Cell Tracker Green(Invitrogen)或抗血型糖蛋白A(anti-Glycophorin A)(BD试剂盒)标记细胞，成像后使用软件自带模块来分析细胞的数目。

### 成像模式下简化细胞计数

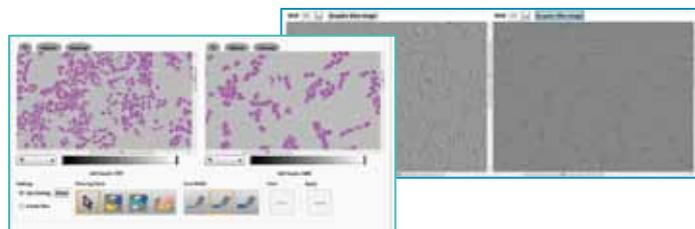
全新的SpectraMax MiniMax 300成像系统可以帮助用户按照自己的需要轻松设置试验，然后快速进行检测。此系统具有的强大获取、分析图像功能，是得益于图像分析行业领导软件MetaMorph，我们将其核心分析功能整合进了SoftMax Pro软件中，用户可以根据自己特定试验的需求从若干个应用模板中进行选择，然后获取和分析图像。

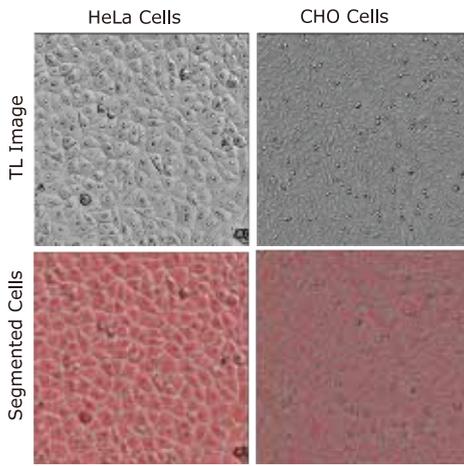


- 96孔和384孔板，直观的图像获取设置
- 成像应用中具有许多标准化的图像分析模版
- SoftMax Pro软件具有完整的数据分析和可视化的功能

### 透射光成像时可根据细胞形态对细胞进行分割

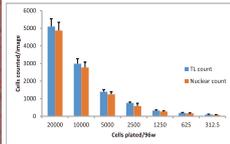
透射光成像功能对于基于细胞学检测的试验非常具有吸引力，原因在于其无需标记，且仅需要较短的曝光时间，在不同时间点都可以检测且对细胞无损伤。然而，在透射光条件下对许多连接紧密的细胞进行分割是一个非常大的挑战，因为细胞与背景的对比较低，这样就需要软件具有强大的逻辑运算能力。这里，我们介绍具有专利的无标记细胞检测技术，通过仪器的学习能力简化图像的分析设置，它可以适用于很多不同种类的细胞。





透射光条件下对CHO细胞和Hela细胞进行图像分割

仪器自我学习功能的图形界面(GUI), 用户可以标出目标细胞的外形轮廓(例如活细胞)和选择区域的背景或者标记出不需要的目标物。软件会根据给予的信息自动计算出最佳的分割参数。用户可以检查结果然后进一步教会软件如何去改进分析方式。

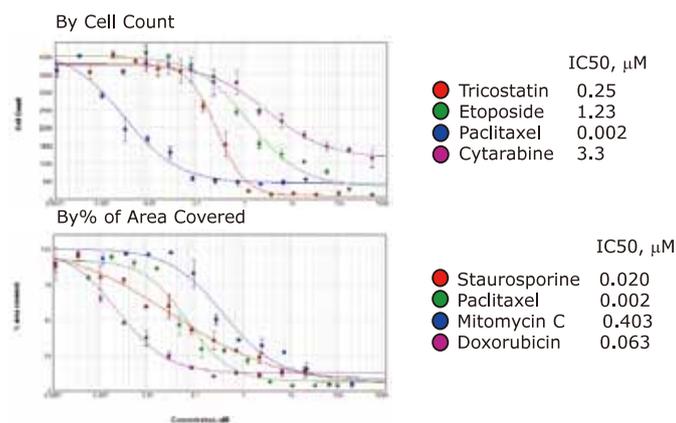


比较透射光分割计数法和传统细胞核染色计数法

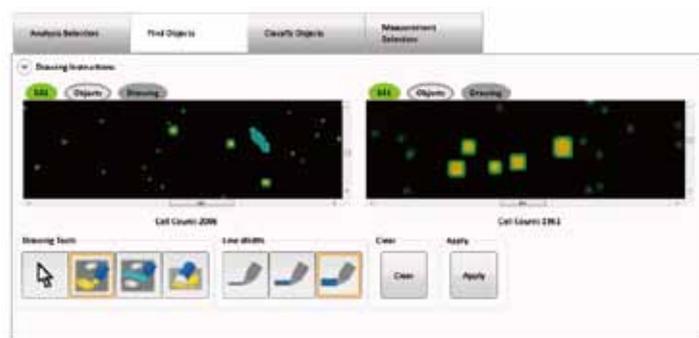
## 基于细胞学检测试验

### 细胞增殖/毒性, 通过癌细胞(HeLa)增殖情况来评价抗癌药物的疗效

透射光条件下的无标记细胞计数功能, 进行细胞增殖试验时可在不同时间点获得结果, 这使得可以选择不同时间点记录抗增殖药物或者生长因子对细胞的作用效果, 绘出浓度效应学曲线并给出IC50s值, 而且重要的是整个过程不需要染细胞进行观察, 试验过程并不会影响细胞正常变化。



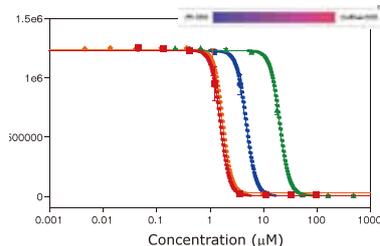
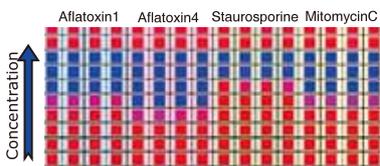
### 使用iPSC(诱导多功能干细胞)分化的肝细胞进行肝细胞毒性分析试验



肝细胞毒性分析试验使用诱导多功能干细胞(iPSC)分化的肝细胞作为研究对象。在使用若干种肝毒性药物对这些细胞处理72小时后, 我们使用Calecin或者鬼笔环肽偶联的AF-488评价细胞的活力, 毒性检测的评价方法可以根据细胞区域面积变化或细胞数目

的变化来确定黄曲霉毒素、十字孢碱、依托泊昔和其他肝毒性化合物的IC50s值, 检测试验的窗口大约为200, Z值 > 0.9。

- 通过细胞在微孔板中覆盖面积的变化来反映其增殖/毒性情况
- 使用活细胞染料对活细胞进行成像

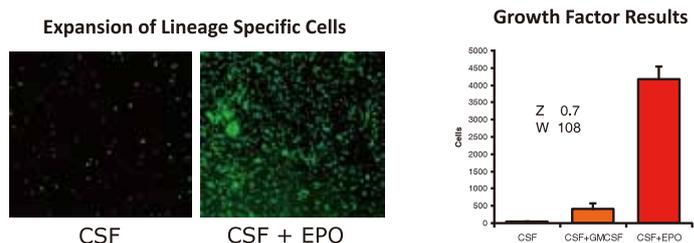


- 试验可用于确定其生长抑制作用的IC50s或不同化合物产生的毒性作用
- 细胞用已知有毒性作用的化合物处理后成像
- 根据总的区域内活细胞数目, 做出效应学曲线

试验窗口(assay window)(低浓度值/高浓度值)大约200, Z值 > 0.9

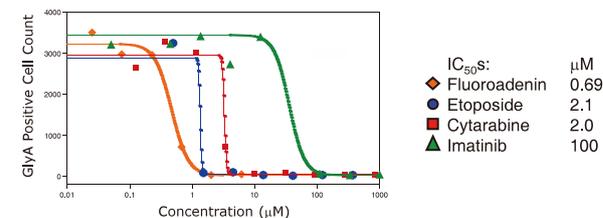
### 造血干细胞分化&毒性

我们设计出一个非常适合检测生长因子和抗癌药物对造血作用影响的试验, 我们在造血干细胞中加入不同的生长因子进行培养。此外, 使用标记有FITC细胞系特异性的抗体进行染色或者使用细胞示踪绿色染料(Cell Tracker Green), 可以用来评价几种抗癌药物的作用效果。可以用于检测许多表达谱系特异性标记物的细胞或全部细胞数目, IC50s由不同因素所决定。试验窗口(assay window) > 100, Z值 > 0.7。



- 不同的细胞因子组合对CD34+细胞培养情况影响
- 使用细胞示踪绿色染料(Cell Tracker Green)(针对全部细胞进行计数)或A型血糖蛋白(标记红色祖细胞)

### 抗癌药物对红细胞分化的毒副作用(贫血症)



- CD34+细胞培养时加入促红细胞生成素(EPO)和抗癌药物
- 细胞计数(扩增/毒性)

检测窗口(高浓度值/低浓度值) > 200且Z值 > 0.7

### 总结

- SpectraMax MinMax成像系统能够应对复杂表型细胞学检测试验的要求, 帮助研究人员加快新药研发进程;
- 同时获取图像并分析结果可简化检测步骤, 节省用户在炎症效应学、细胞活力、化合物毒性等检测的时间;
- 结合SpectraMax i3多功能微孔板检测系统, 能够进行全方位的检测, 可结合微孔板检测结果和细胞成像结果来多角度分析试验。