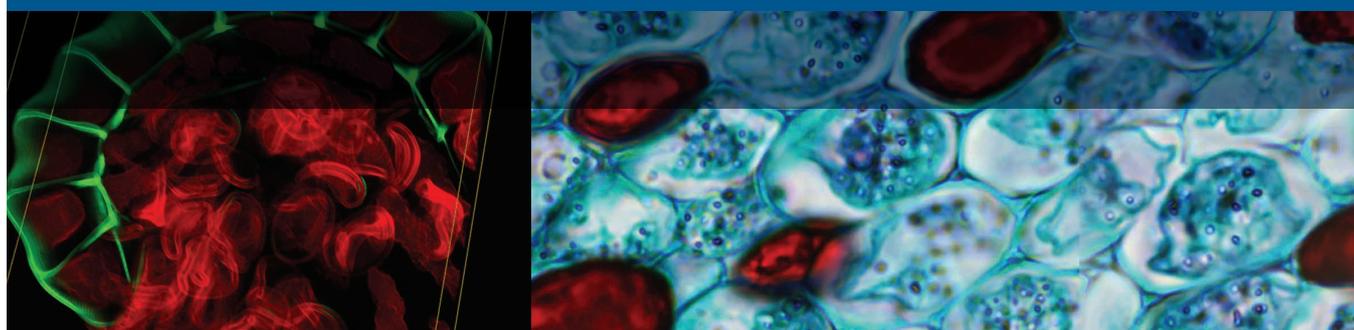


Agilent BioTek イメージングおよび顕微鏡

あらゆるアッセイに対応



Agilent BioTek

イメージングおよび顕微鏡

幅広いアプリケーションと予算に対応



Agilent BioTek 自動細胞イメージャーおよび顕微鏡を使用すると、壮観な画像、z スタック、モンタージュ、タイムラプス動画の撮影により、優れた科学的成果を容易に挙げることができます。これらの機器は、最大 100 倍の倍率、明視野、カラー明視野、位相差像、および蛍光チャンネルを提供し、生細胞カイネティクスを含む幅広い顕微鏡ワークフローをサポートします。コンパクトなモジュール式のシステムと、イメージングおよび顕微分光用の Agilent BioTek Gen5 ソフトウェアにより、ラボのニーズと予算に合わせて、イメージングから処理、解析までのワークフローを自動化できます。



Agilent BioTek Cytation C10 共焦点
イメージングリーダー

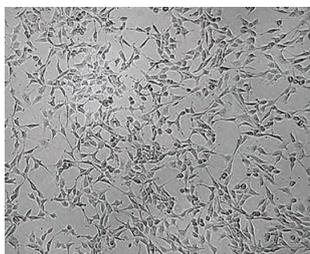


Agilent BioTek Cytation 7 細胞
イメージングマルチモードプレート
リーダー

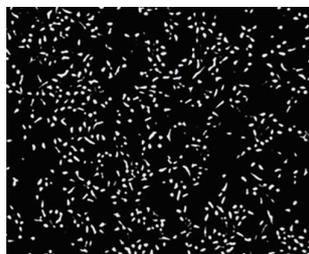


Agilent BioTek Lionheart FX
全自動顕微鏡

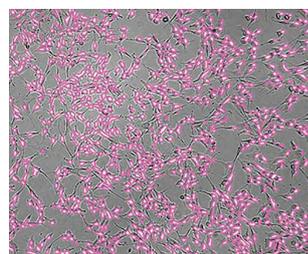
Augmented Microscopy



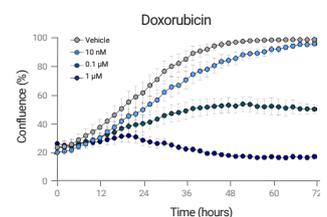
撮影



処理



解析

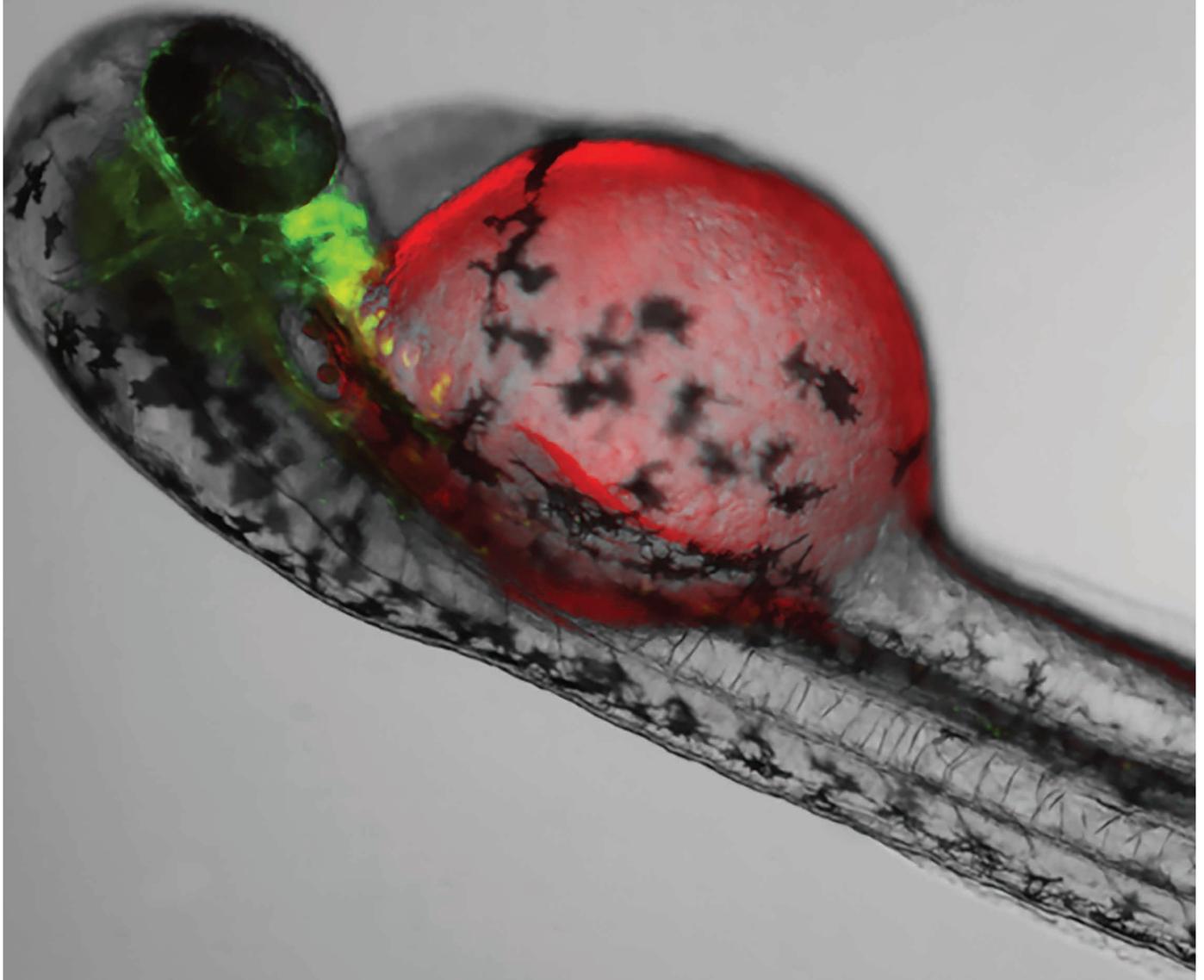


出力

Agilent BioTek の機器とソフトウェアを組み合わせれば、独自の Augmented Microscopy 体験を創出できます。つまり、画像撮影から論文レベルのデータ作成まで、あらゆるステップを統合および自動化できます。Gen5 があれば、他のソフトウェアは不要です。

撮影

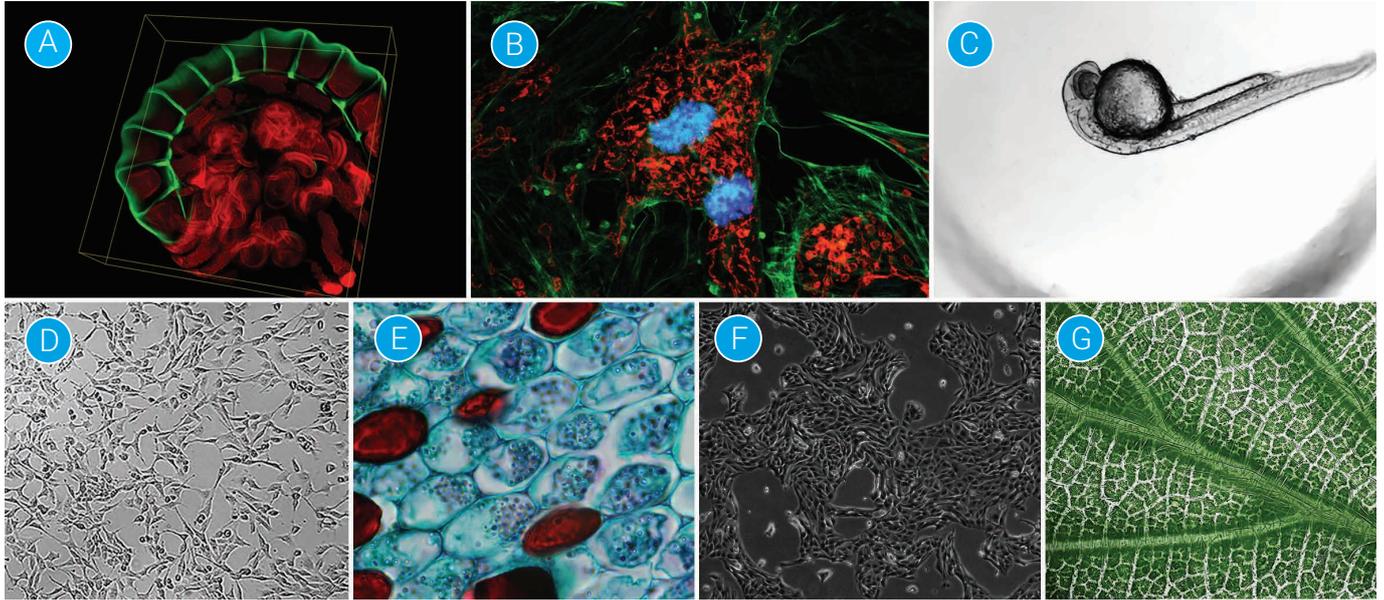
Gen5 の撮影モードでは、生細胞カインेटクスシーケンスを含む、シンプルで効率的なイメージングが可能です。



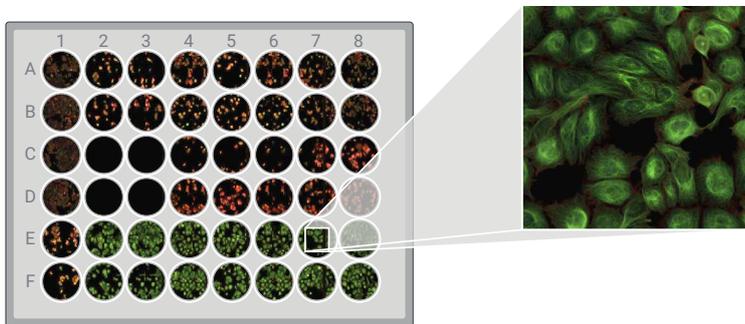
4 倍のゼブラフィッシュ胚

撮影

7つのイメージングモード

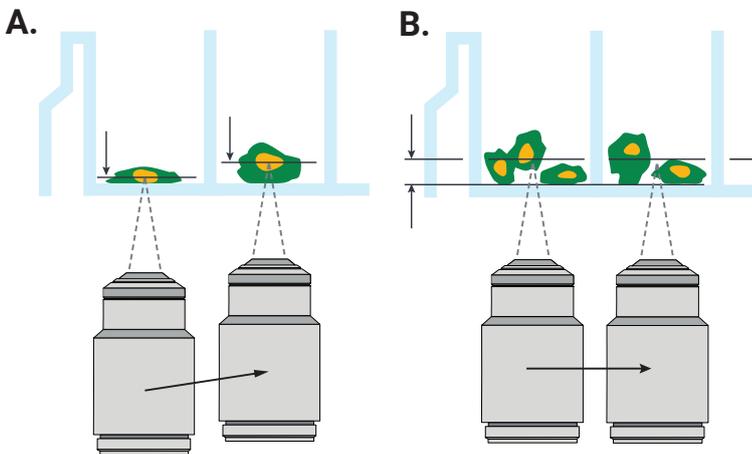


生細胞や固定細胞の生物学などの幅広いアプリケーションに対応できる優れたイメージング機能を備えています。**A.** 共焦点、**B.** 蛍光、**C.** 明視野、**D.** ハイコントラスト明視野、**E.** カラー明視野、**F.** 位相差像、**G.** 正立反射と透過光



バッチモード

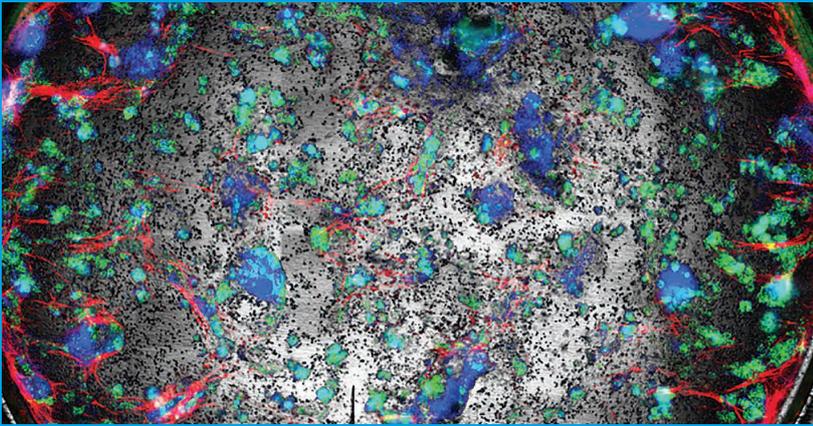
マイクロプレート、チャンバースライド、およびその他のマルチサンプルベッセルで複数の画像を自動的に撮影します。Agilent BioTek イメージャーでは、マニュアルモードでいくつかのサンプルを観察することも、全自動モードでエンドポイント画像の撮影または数時間、数日、数週間にわたる長時間のカイネティクスの撮影を行うこともできます。



レーザーおよびイメージオートフォーカス

A. すべての Agilent BioTek イメージングシステムで、画像ベースのオートフォーカスを使用できます。この方式では、ウェル内の「変化する」生体を含め、サンプル内で最もコントラストの高い平面に焦点を合わせます。

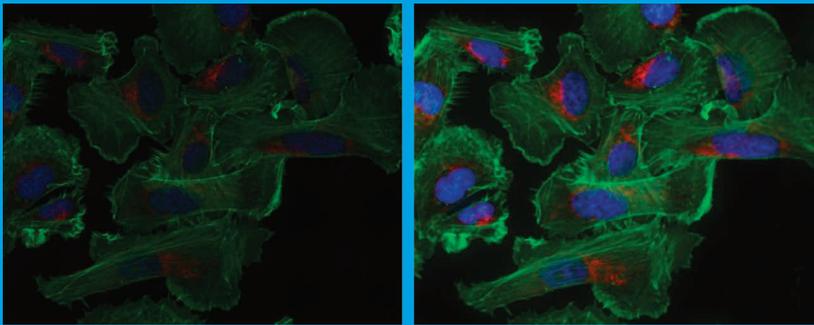
B. レーザーオートフォーカスはウェル間で同じ焦点オフセットを使用し、非常に高速です。暗い蛍光色素に作用し、光毒性や光退色を抑制します。また、レーザーオートフォーカスでは、長期的なカイネティクスイメージングにおいて、優れた再現性と高い精度を得られます。



最大 6 チャンネルの重ね表示

最大 4 つの蛍光チャンネルと明視野/位相差が同時に重ね合わせることにより、汎用性が大幅に向上します。

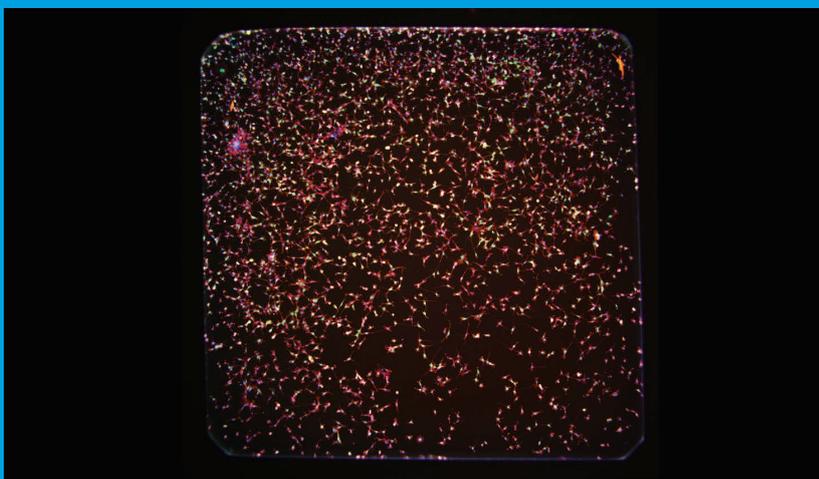
20 色以上の LED/フィルターキューブから 4 色を選択できるため、幅広い蛍光染色に対応できます。AutoLED 輝度により、エンドポイントおよびカインेटックスシーケンスを安定的にキャプチャできます。各チャンネルを自動的に調整および最適化できます。また変更は簡単に保存できます。



露光時間を短縮する水浸対物レンズ

水浸対物レンズではより短い露光時間でより多くの光を取り込むため、生細胞の光毒性と光退色の可能性を減らします。増大した信号により、ゲインやノイズを大きくすることなく詳細な分析が可能になります。

同一の露出設定で、40 倍ドライ対物レンズ (左)、40 倍水浸レンズ (右) で撮影された細胞です。

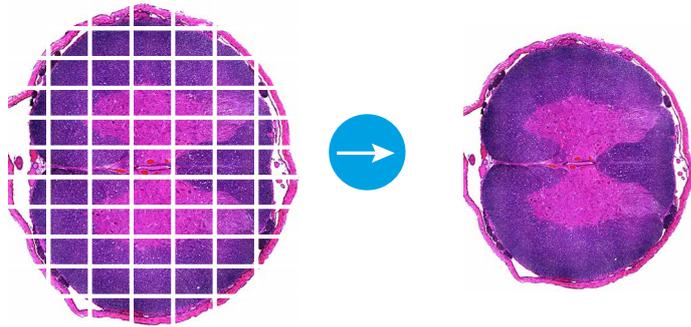


ウェル全体のイメージング

Cytation and Lionheart プラットフォームの広視野 (WFOV) カメラは、1 つの画像に 384 ウェルプレートの全ウェルを撮影できます。複数位置の撮影が不要であるため、高解像度の細胞全体像の撮影速度が大幅に向上します。WFOV カメラでは、視野内のより多くの細胞をより高倍率で撮影できます。このため、統計的に、より関連性の高い細胞の母集団を少ない枚数で得ることができます。

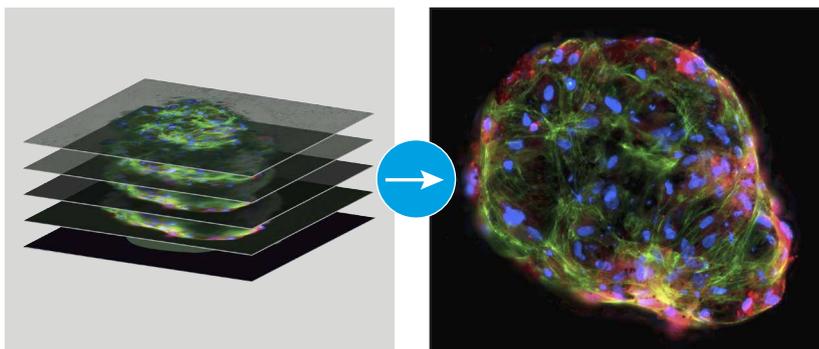
撮影

モンタージュ



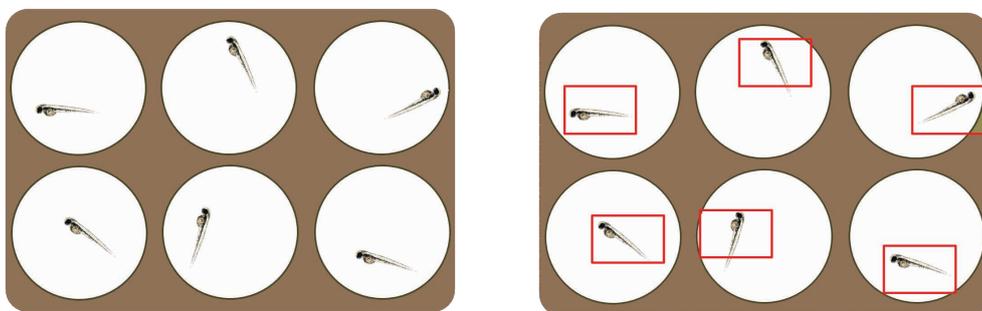
細胞切片 (H&E) などの大きいサンプルを撮影し、サンプルサイズを大きくして、データ品質を上げたり希少細胞を検出したりすることができます。モンタージュ撮影モードでは、イメージングチャンネルあたり最大 2,000 のタイルイメージを取得します。モンタージュの各タイルは、高解像度の 16 ビット TIFF として個別に保存されます。Gen5 ソフトウェアのスティッチングを使用すれば、シームレスな画像を作成できます。

Z スタック



Gen5 ソフトウェアの Z スタックを使用すると、最大 200 枚のカスタマイズ可能なスライスを撮影できます。スライスの薄さはスタックあたり 0.1 μm です。これらの画像は自動的に Z プロジェクションできます。Z スタック機能は、スフェロイドやチューモロイドなどの 3D サンプル、および複数の焦点面にわたるサンプルのイメージングの重要要件です。

ビーコン



ビーコンは、ウェルまたはベッセル内のイメージング用のカスタム x/y オフセットの定義に使用されます。このゼブラフィッシュの例に示されているような、各ウェルや領域に特有の、撮影対象の関心領域をモニタリングするためにビーコンは有用です。

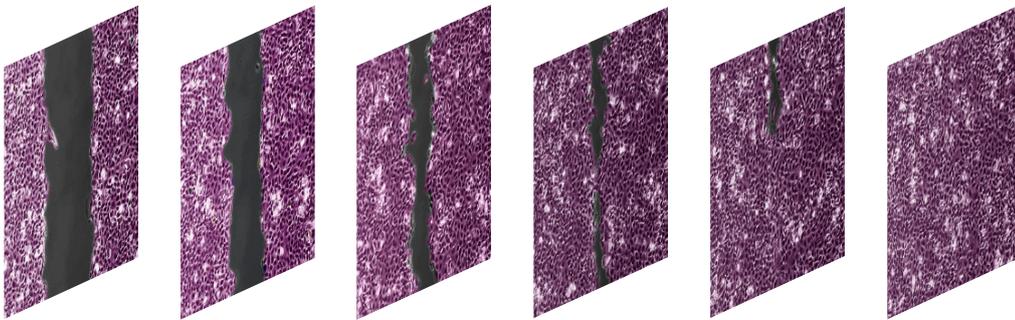
撮影



生細胞アッセイのサポート

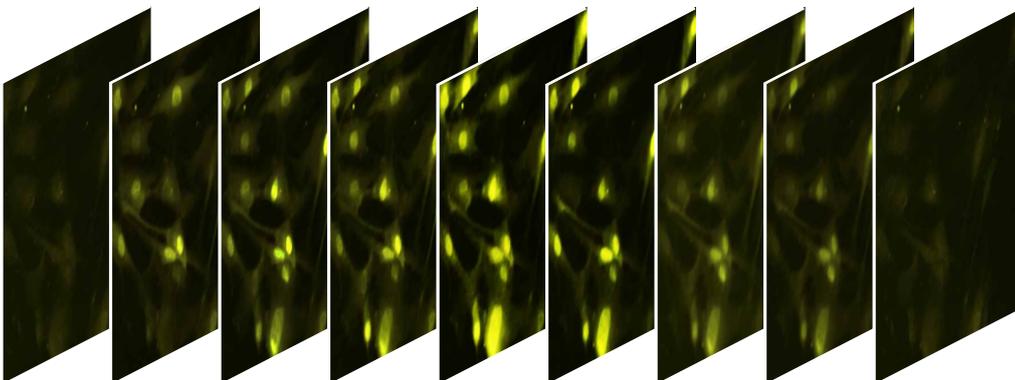
Agilent BioTek 結露防止機能を含む温度制御、CO₂/O₂ 制御および湿度オプションによって、生細胞アッセイに最適な環境を実現します。明視野およびハイコントラスト明視野イメージングでのラベルフリーアッセイ、または最大 4 色 + 明視野で蛍光アッセイを観察します。タイムラプス画像シーケンスが自動で簡単に動画に変換されます。

タイムラプスイメージング



撮影時間：数日～数週間。創傷治癒や細胞増殖などの生細胞カインेटクスアッセイが経時的かつ自動的にイメージングされ、保存され、動画として出力する準備がされます。実験が数日または数週間にわたって実施されている間、カインेटクスデータのプロットが自動的に実施されます。

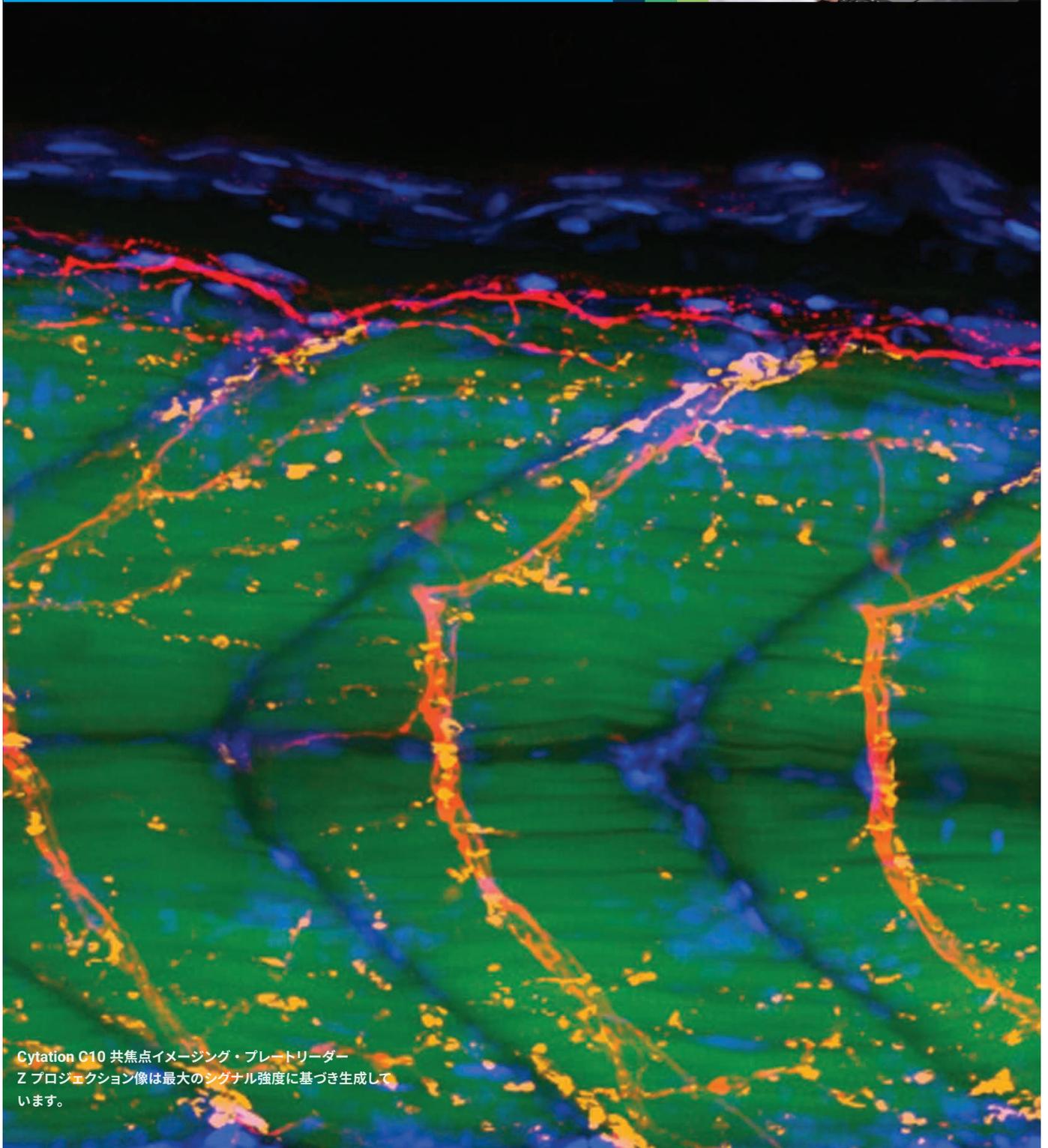
高速イメージング



撮影時間：数秒から数時間。デュアル試薬インジェクターにより、カルシウムフラックスカインेटクスなどの非常に高速な反応の撮影が可能となります。画像は最大 20 フレーム/秒で自動的に撮影されます。

画像処理

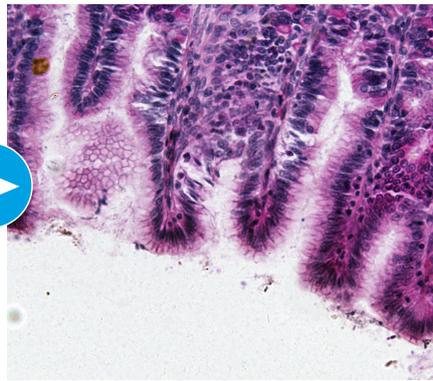
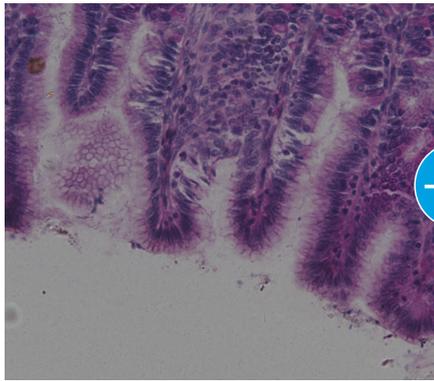
画像を解析前に最適化するには、画像処理が必須です。Gen5 ソフトウェアの処理ツールは処理機能が非常に優れているため、複雑な生体でも簡単に分析できます。



Cytation C10 共焦点イメージング・プレートリーダー
Z プロジェクション像は最大のシグナル強度に基づき生成しています。

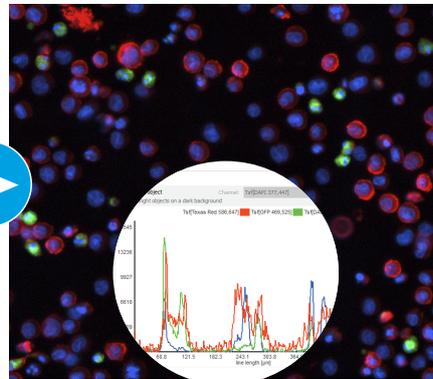
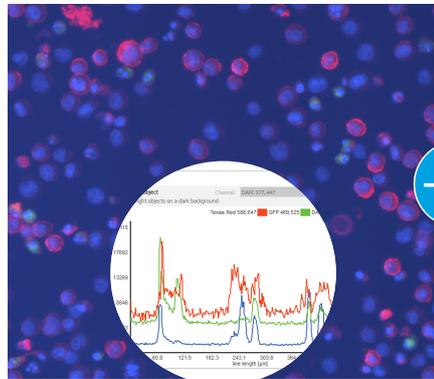
画像処理

Agilent BioTek Lionheart FX
自動顕微鏡と、
CO₂/O₂ ガスコントローラーおよび
デュアル試薬インジェクター



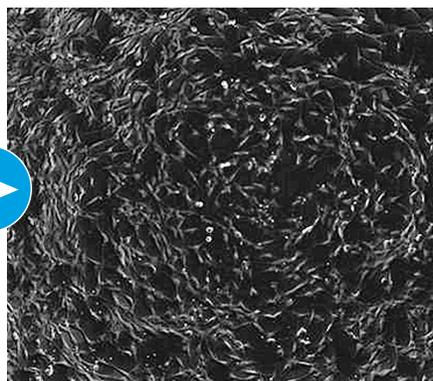
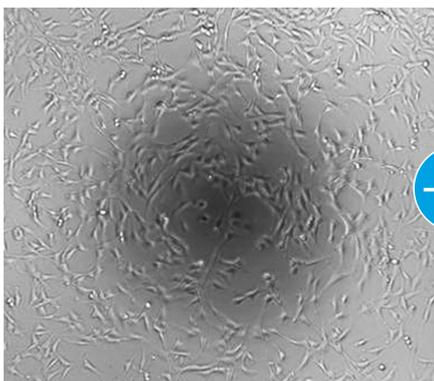
高機能なレビューツール

輝度とコントラストを手軽に調整して、見やすくすることができます。測定ツールとアノテーションツールにより、画像内に情報を追加したり、特定領域や対象物質を強調表示したりすることができます。



バックグラウンドの平坦化

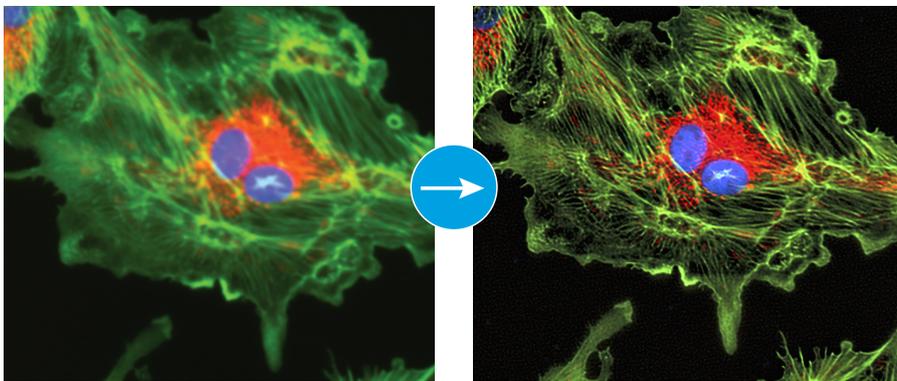
ローリングボールアルゴリズムを用いたバックグラウンドの平坦化により、バックグラウンドのアーチファクトを除去して不均一な光を補正することで、解析に適した画像にすることができます。Line Profile Tool ツールを使用して、画像解析に適した推奨閾値を見つけることができます。



デジタル位相差

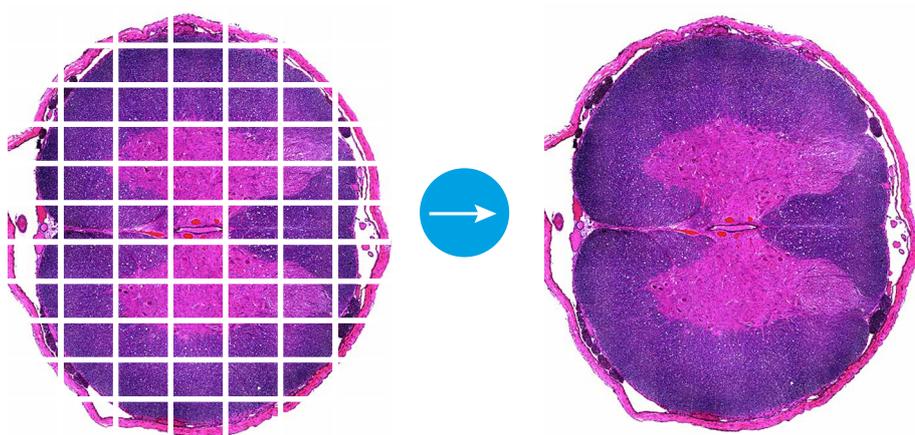
デジタル位相差では、明視野コントラストを改善してメニスカス効果やその他のアーチファクトを補正した画像を生成します。この処理によって画像が見やすくなり、分析が容易になります。

画像処理



デコンボリューション

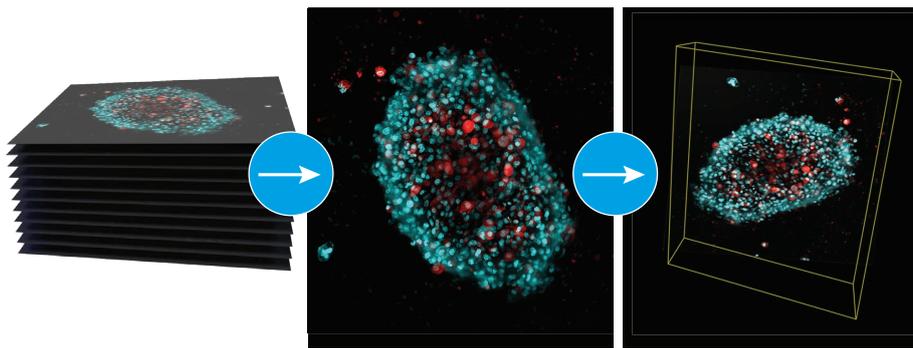
デコンボリューションにより、広視野イメージングでよく見られる、焦点外の光によるぼやけを軽減できます。画像解像度が上がるため、画像の詳細を確認しやすくなります。



スティッチング

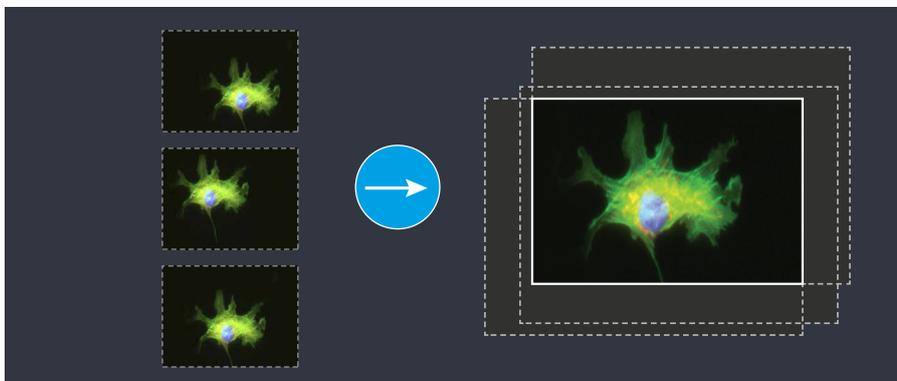
画像モンタージュによる広視野撮影後に、Gen5 ソフトウェアによってモンタージュを自動的かつ正確にスティッチングし、1 つの均一な高解像度画像にします。Gen5 では、一部のモンタージュで見られる一般的なアーチファクト、例えばタイリング効果などを補正できます。スティッチングプロセスによって自動的に調整および補正され、1 つのシームレスな画像になります。

画像処理



Z プロジェクションと 3D レンダリング

一連の画像スタックを撮影した後、Gen5 は各スライスから最も焦点の合った情報を含む最終画像を作成します。3D ビューワを使用して、サンプルをより詳しく調べることができます。



カイネティクス画像の アライメント

生細胞カイネティクスイメージングの間に、サンプルが少し移動する場合があります。Gen5 では位置の差異を自動的に調整できるため、長期間のイメージング中でも対象領域を完全に安定化させることができます。

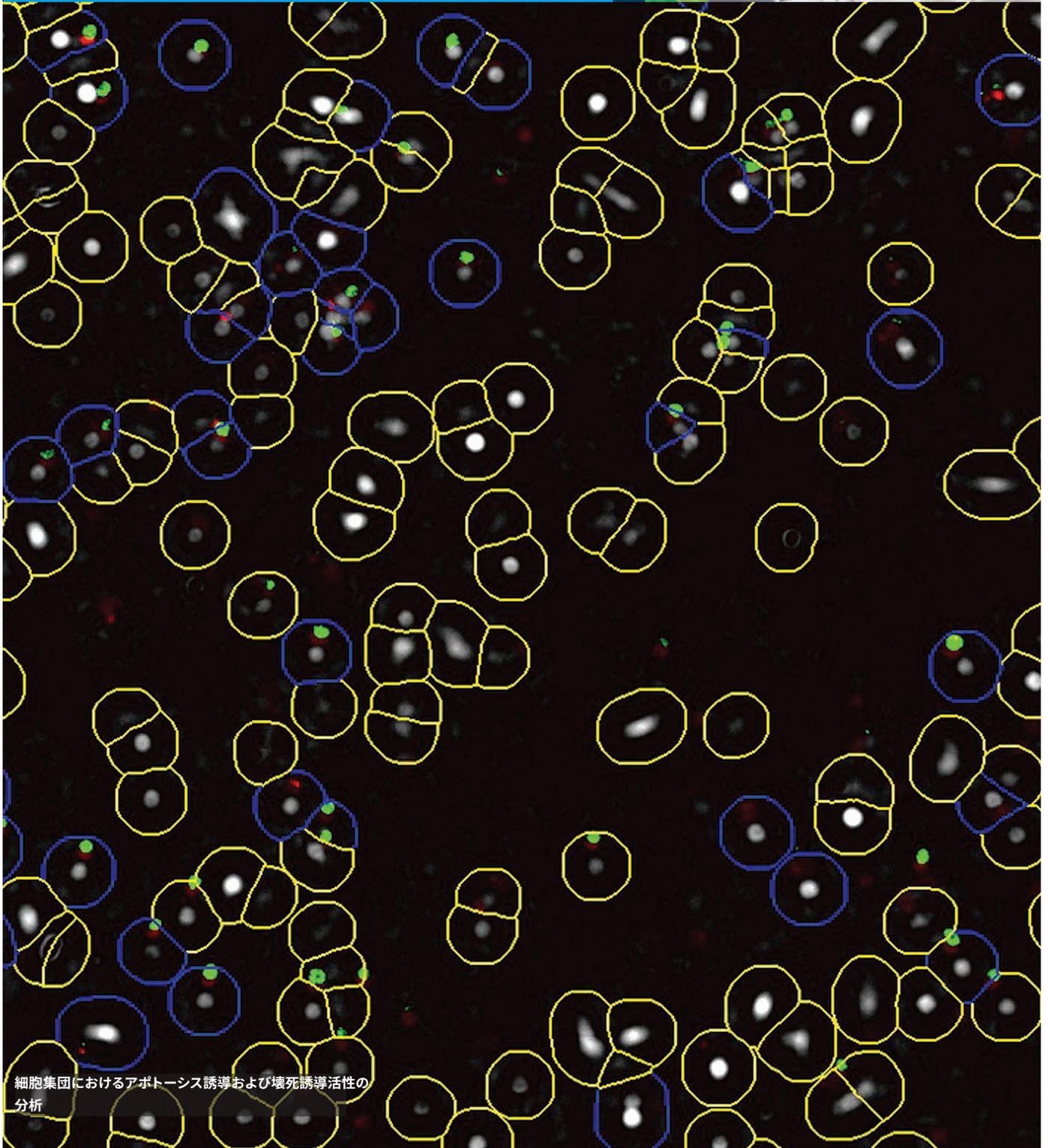


動画ファイルの作成

Gen5 では、タイムラプス画像をまとめてタイムスタンプ付きの .wmv ファイルまたは .mp4 ファイルを作成できます。

解析

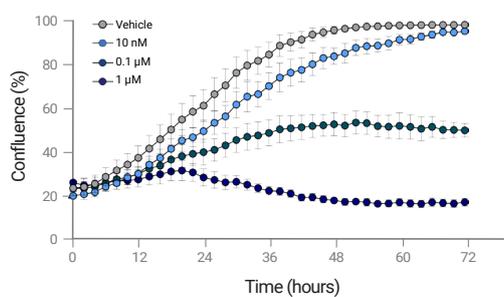
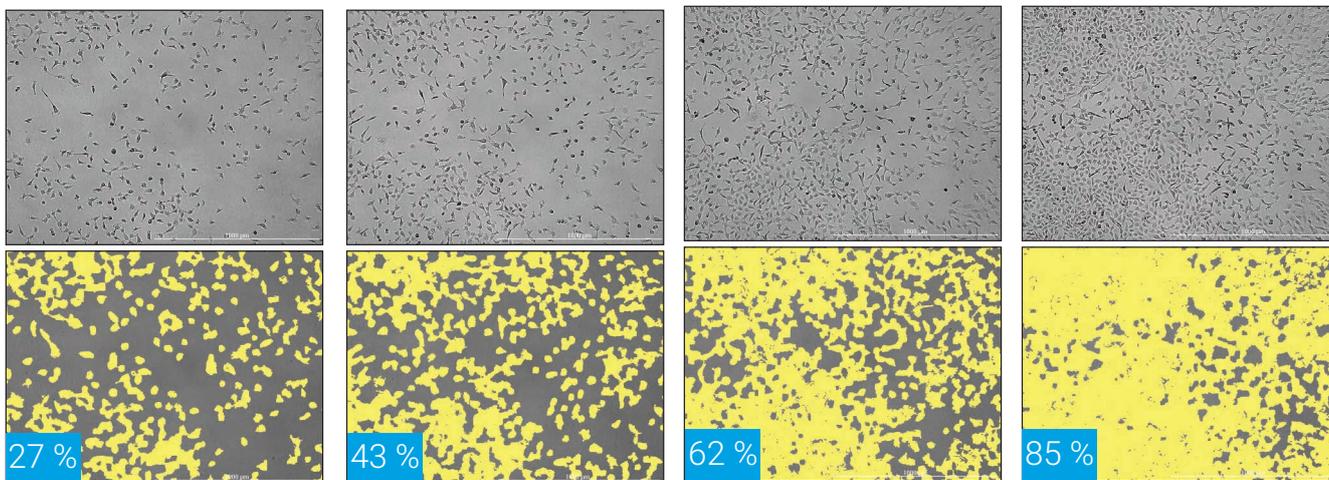
撮影、処理された画像はすぐに解析可能です。Gen5 の画像解析ツールは非常に幅広いアプリケーション要件に対応しており、高機能で使いやすさに優れています。Gen5 の解析機能は、定量データにも使用できます。



細胞集団におけるアポトーシス誘導および壊死誘導活性の分析

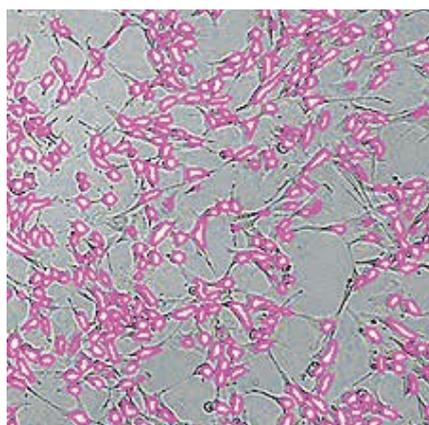
解析

プライマリ分析 – コンフルエンス



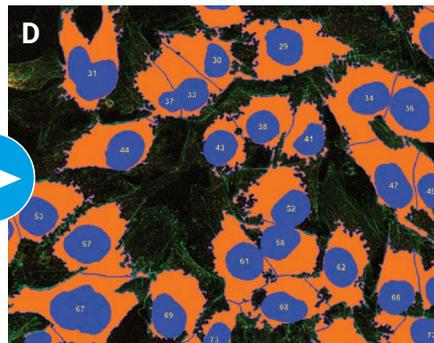
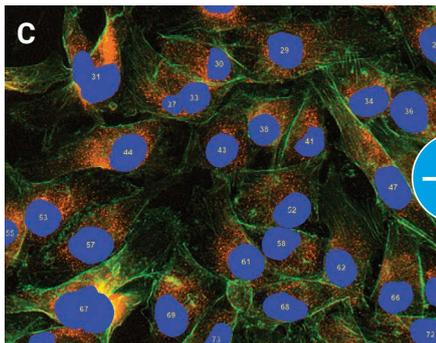
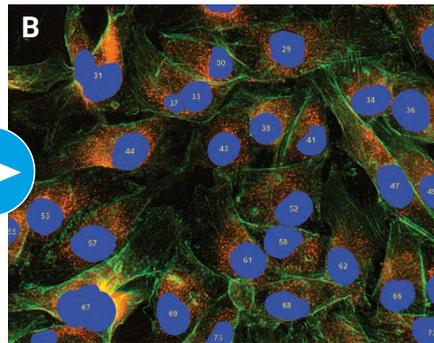
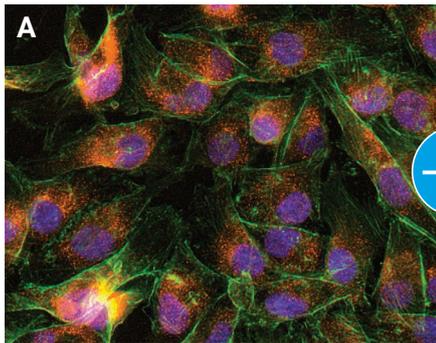
コンフルエンス測定では、指定された条件に合う画像領域をすばやく正確に確認します。細胞の成長、増殖や健康状態の研究では、コンフルエンス率の測定が重要です。

プライマリ分析 – ラベルフリーセルカウント



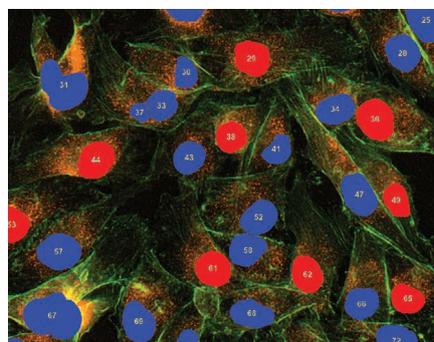
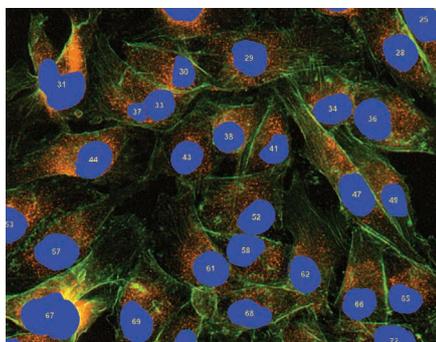
蛍光染色は細胞機能の妨げとなる場合があるため、細胞カウントにはラベルフリーメソッドが多用されるようになってきました。

ハイコントラスト明視野を用いれば、ラベルフリーのコンフルエンス測定とラベルフリーの細胞カウントを効率的に実行できます。細胞カウントは細胞の成長、増殖や健康状態の研究に必須です。Gen5 では、高コンフルエント細胞を色素なしで効率的に同定できます。



細胞の同定、カウンティング、解析の自動化

Gen5のプライマリ細胞解析機能は、生物の全体から細胞内構造に至るまでの自動コンフルエンス決定とオブジェクトカウントが可能です (A および B)。それぞれ、透過光または蛍光イメージングチャンネルを用いて実行できます。セカンダリ細胞解析機能により、一次マスクの周囲に二次領域をマスクして、対象オブジェクト固有の追加情報を得ることができます (C および D)。これは、シグナルトランスロケーション、DNA 損傷、腫瘍浸潤、細胞質構造の評価などのアッセイにおいて重要になります。



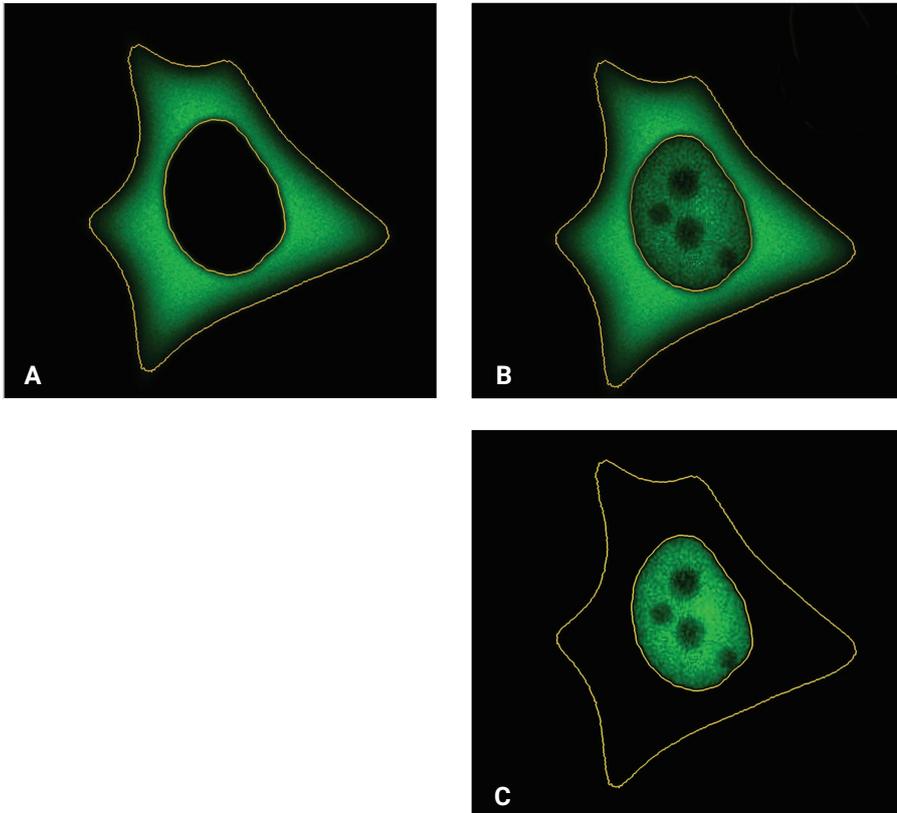
サブポピュレーション解析

細胞集団のレスポンスが均一であることはほとんどありません。サブポピュレーション解析を使用すると、細胞集団内のさまざまなレスポンスレベルや外れ値を特定できます。一般的なアプリケーションには、レアイベント検出、トランスフェクション効率の計算、ウイルス感染などが含まれます。

元の画像

マスクを適用した画像

解析



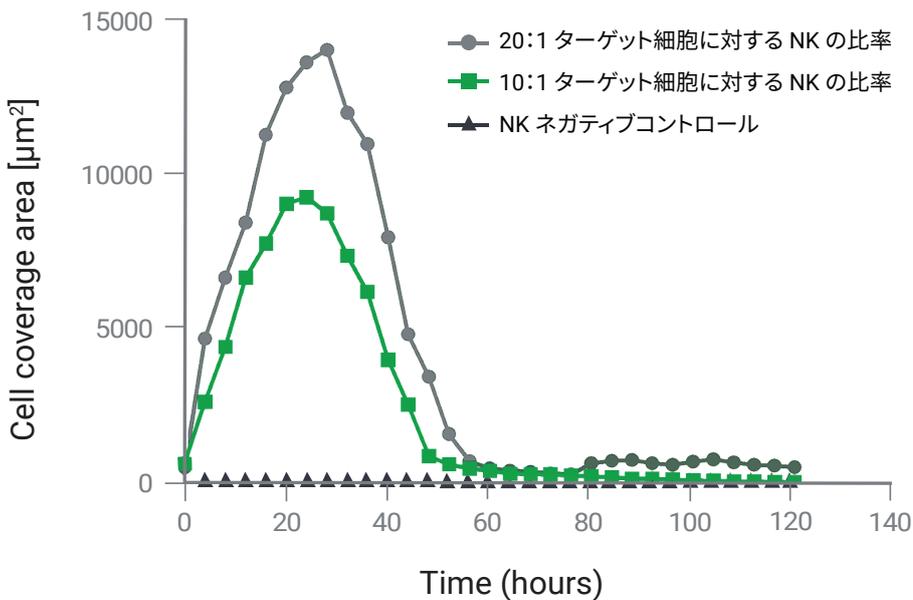
シグナルトランスロケーション

(一般的にトランスロケーションと呼ばれる) 細胞内構成物間の分子移動のモニタリングには高度な細胞解析ツールが必要です。この現象は上の図のように、転写因子の活性化やカスパーゼカスケード事象 (アポトーシス) などの多くのアッセイで見られます。Gen5 では核マスクと細胞質マスクを使用して、トランスロケーションを自動的に定量します。

A. 細胞質内の静止状態のタンパク質 (カスパーゼ-3)

B. 活性化したカスパーゼ-3 が、核への転移を開始

C. カスパーゼ-3 の転移が完全に完了し、アポトーシスなどの目的の細胞効果を誘発



カイネティクス解析

細胞測定を経時的にプロットすることで、細胞動態をリアルタイムかつ視覚的に把握できます。

カイネティクスの計算には、セルカウント、変化率、最小/最大シグナル、遅延時間、ピーク応答などが含まれます。

高度な Gen5 画像解析モジュール

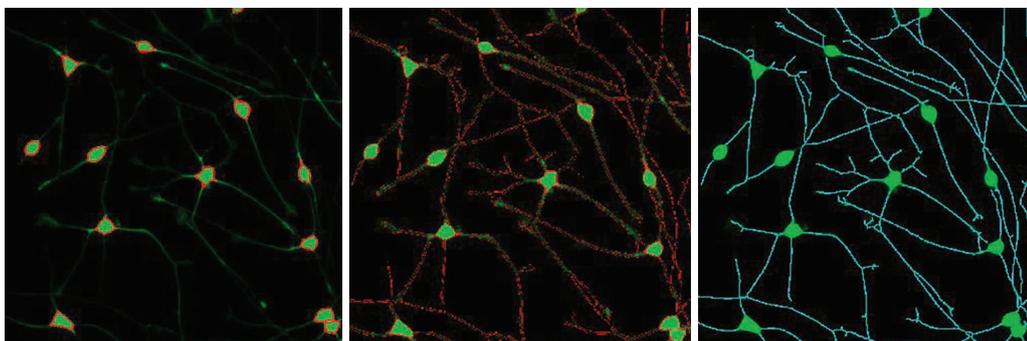
Gen5 ソフトウェアは標準搭載の強力な解析機能だけでなく、専用のアドオンモジュールにより、アプリケーションに特化した解析機能を拡張して、プロセスの自動化と高度な指標の生成が可能です。

神経突起伸長

Agilent BioTek Gen5 ソフトウェアの神経突起伸長モジュールでは、蛍光またはラベルフリーメソッドを用いて、神経細胞の指標と成長を解析できます。Gen5 モジュール内の神経突起伸長解析機能は、正常な発生と再生、神経毒性、神経障害の研究を促進します。

神経突起伸長の評価

Agilent BioTek Gen5 神経突起伸長モジュールは、細線化した画像とともに、神経細胞の指標を正確に定量し、細胞体マスクおよび神経突起マスクを含むマスキングオプションを提供します。計算される指標には、細胞体および神経突起のカウント、神経突起の全長、神経突起の厚さ、神経突起の総面積、および神経突起の総分岐などがあります。



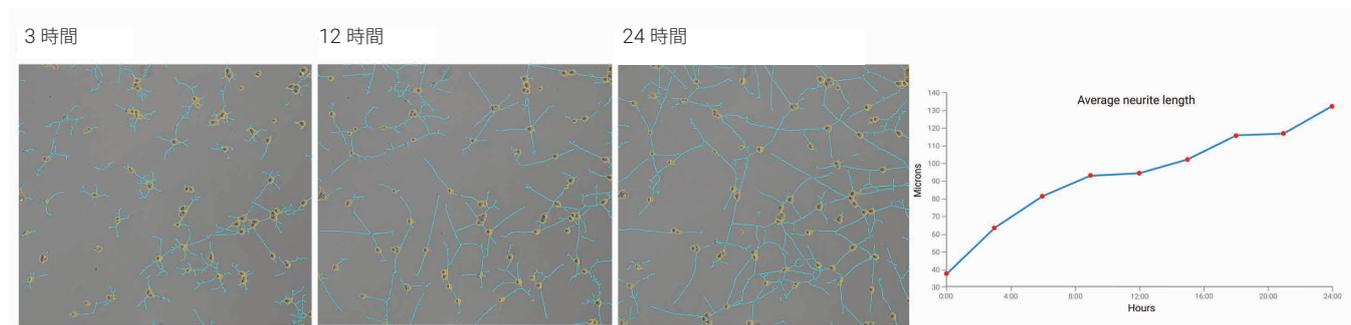
細胞体マスク

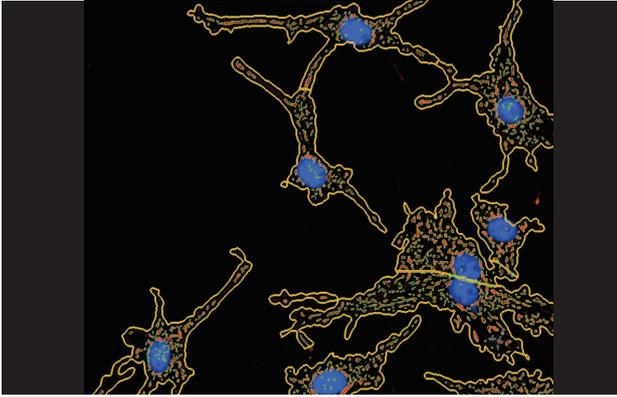
神経突起マスク

神経突起の概要を示す画像

ラベルフリー動態神経突起伸長

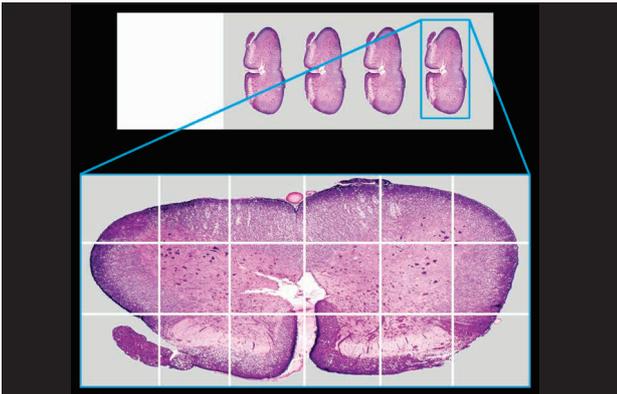
Gen5 神経突起伸長モジュールは、カインेटイクス撮影された非染色のライブセルの神経突起伸長を正確に検出します。下の画像は、iPSC 由来のニューロン培養における iCell GlutaNeurons を示しています。細胞を 24 時間プレート培養した後、広視野で 20 倍の倍率の位相差でイメージングしました。左から右に、3 時間、12 時間、24 時間のタイムポイントの画像を示しています。





スポットカウンティング

ユーザーは Agilent BioTek Gen5 スポットカウンティングモジュールを用いて、核や細胞質の内部、または周囲にあるスポット状のオブジェクトに関する一連の情報を取得できます。



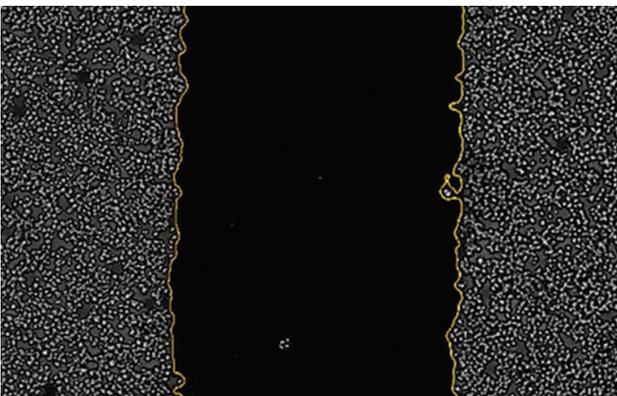
自動関心領域

自動関心領域 (AutoROI) モジュールは、余分なイメージの取り込みを排除する 3 段階のプロセスです。低倍率ステップでは、領域全体を素早くイメージングします。関心領域を自動的に判別し、その領域の高倍率イメージングが実行されます。



シングルセルオブジェクトトラッキング

Agilent BioTek Gen5 オブジェクトトラッキングモジュールを用いれば、単一のオブジェクトを経時的に追跡することができます。相対的な運動性を、画像内の単一細胞または集団全体を選択することで視覚化できます。計算される指標には、合計距離、ユークリッド距離、平均速度、中央値速度、最大オブジェクト速度などがあります。

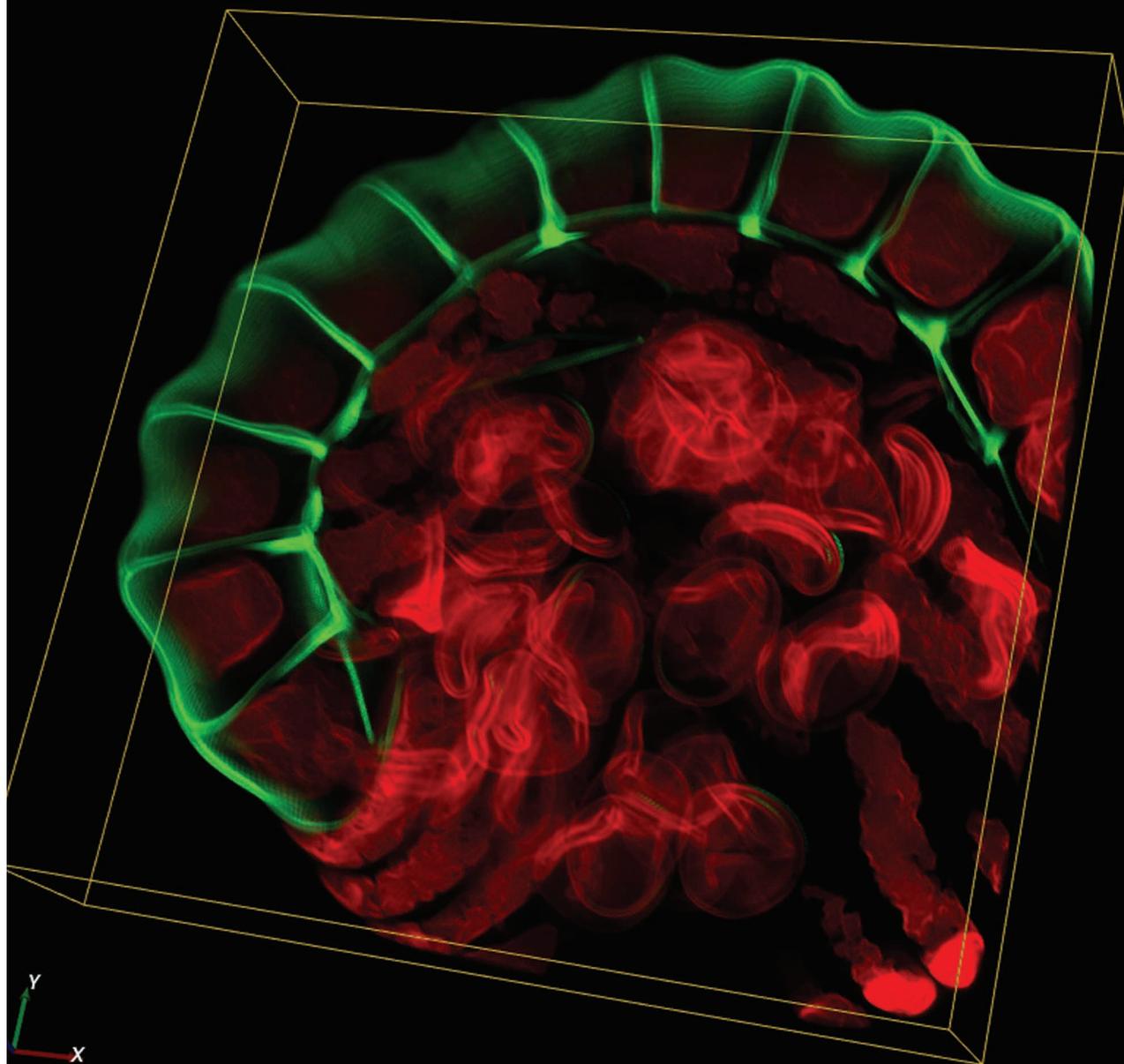


スクラッチ創傷治癒アッセイ

Agilent BioTek Scratch Assay アプリは、2D のスクラッチ創傷治癒アッセイの画像をキャプチャして処理し、分析する統合ワークフローを提供します。24 ウェルおよび 96 ウェルプレート用に事前定義されたプロトコルには、平均創傷幅・創傷合流率・最大創傷治癒率を計算するための自動処理と解析が含まれます。

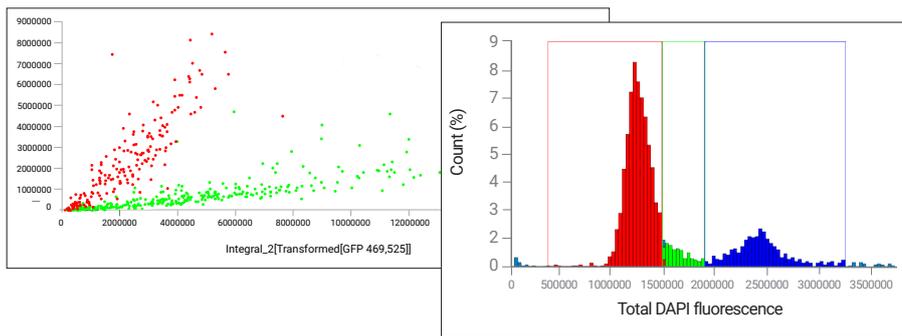
出力

Agilent BioTek Augmented Microscopy ツールには、Gen5 ソフトウェアの機能を用いて論文レベルの画像、グラフ、データを作成できる機能があります。外部ソフトウェアに画像やデータをエクスポートする必要はありません。



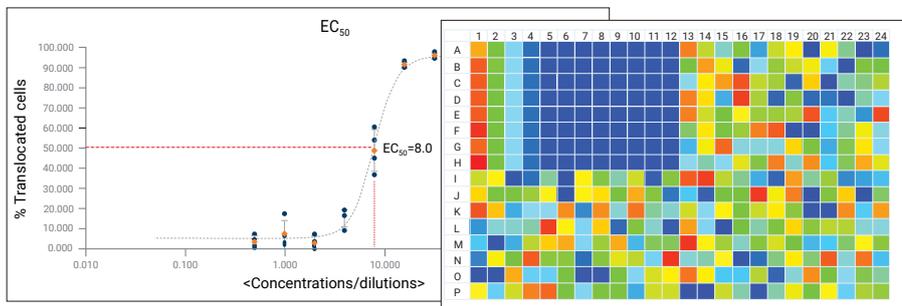
Agilent BioTek Gen5 ソフトウェア 3D ビューワに表示された、Cytation C10 共焦点イメージングリーダーによる撮影のシダ胞子嚢

出力



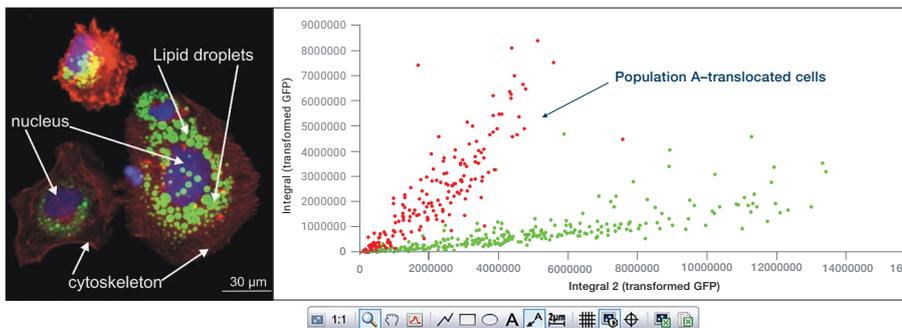
散布図とヒストグラム

フローサイトメトリで一般的に使用される散布図は、大きい細胞集団内の差異を視覚化できる強力なツールです。この散布図では2つの別々の集団について、レスポnderを赤、通常の集団を緑で示したものです。ヒストグラムは、対象物質の DAPI 蛍光全体のサブポピュレーションを示しています。



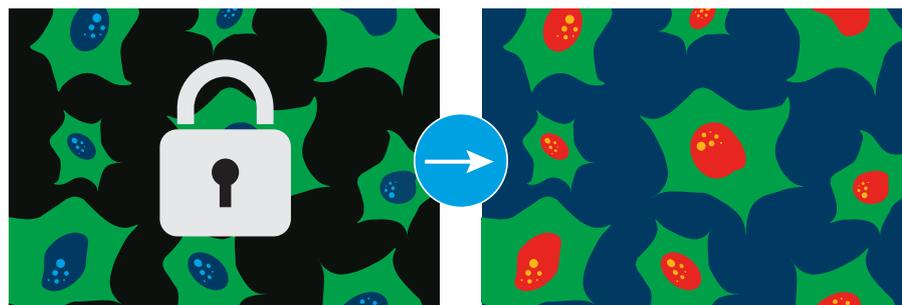
データ解析

Gen5 ソフトウェアには、サードパーティソフトウェアと統合できる、データ解析ツールが含まれており、1つのプラットフォーム内でワークフローを完了できます。Gen5 には、EC₅₀、Parallel Line 解析、統計解析、ヒートマップ、カスタム計算などの高度な解析機能がすべて組み込まれています。



画像とグラフのアノテーション

Gen5 のアノテーションツールを使用して、画像やグラフの重要要素を強調表示できます。テキスト、スケールバー、吹き出し、形状、グリッドを画像に追加し、画像や動画と一緒に保存して出力時に使用できます。



未加工画像の保持

Gen5 では、画像を処理または解析する際に、未加工データのコピーとして作成されます。そのためこの未加工データは別ファイルとして保持されます。Gen5 では未加工画像が保護されるため、未加工画像から加工済み画像へのトレーサビリティを確保できます。

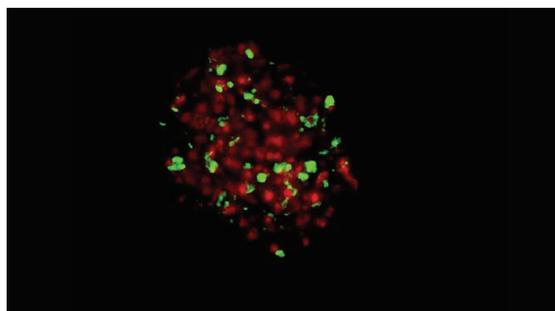
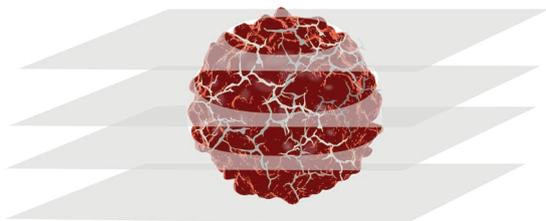
アプリケーション例

Agilent BioTek イメージングおよび顕微鏡機器と Gen5 ソフトウェアを組み合わせれば、さまざまなアプリケーションワークフローを自動化できます。Augmented Microscopy ツールを使用すれば、幅広いアプリケーションで顕微鏡法の主要な 4 つのステップ（撮影、画像処理、解析、出力）を段階的に実施できます。このセクションでは、Agilent BioTek イメージャーと Gen5 ソフトウェアで簡単に管理できる重要アプリケーションの例をいくつか紹介します。



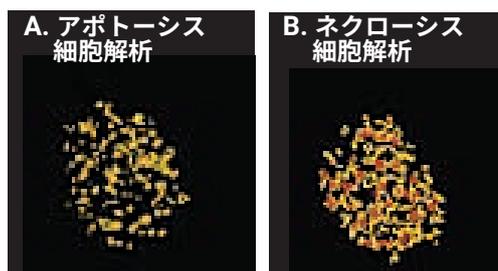
1. 三次元ナチュラルキラー細胞の傷害活性

がん細胞をヒドロゲルで懸濁し、増殖させ 3D チューモロイドを形成します。次にナチュラルキラー細胞を導入し、がん細胞内でのアポトーシスとネクローシスの誘起を 120 時間測定します。

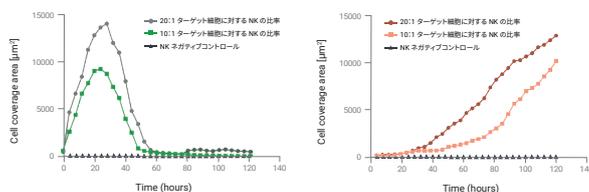


撮影 → 各ウェルのチューモロイドの 3 つの Z スタックカラー画像を撮影します。

画像処理 → 各 Z スタック画像セットが、アポトーシス（緑色の蛍光）またはネクローシス（赤色の蛍光）の解析のタイムポイントごとに Z プロジェクションされます。



解析 → 画像解析によりアポトーシス（緑色の蛍光）とネクローシス（赤色の蛍光）が定量されます。

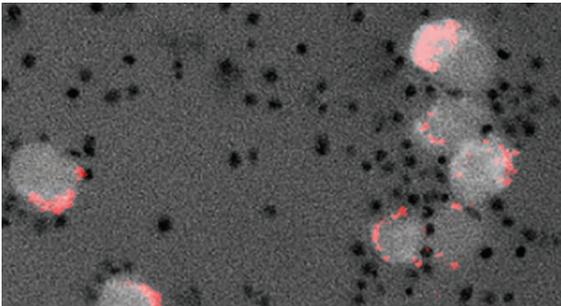


出力 → アポトーシスと壊死の誘起が、条件ごとに経時的にプロットされます。

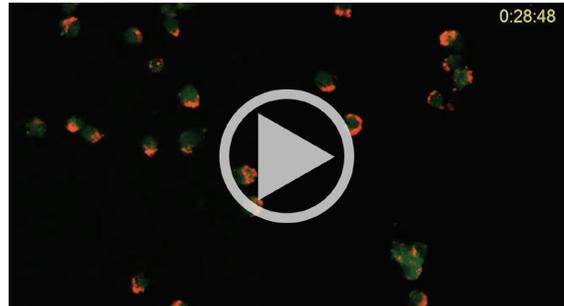
アプリケーション例

2. ファゴサイトーシスアッセイ

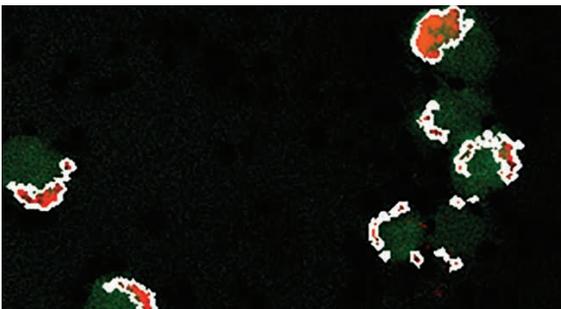
マクロファージは、ファゴサイトーシスによって異物を消費および分解する特殊な細胞です。pH 感度の高い生体粒子をファゴリソソームの酸性環境に反応する粒子蛍光として使用することで、ファゴサイトーシスを研究できます。細胞アクチンによって、ファゴサイトーシスに必要な独自の物理的変化を起こすことができます。以下のアッセイでは、細胞のアクチン破壊が生体粒子のファゴサイトーシスに及ぼす影響を分析しました。



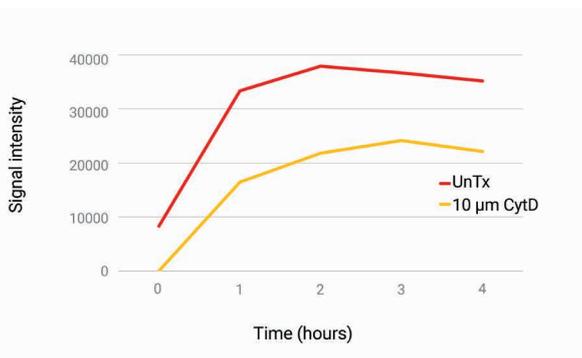
撮影 → あるカイネティクスタイムポイントの明視野+RFP画像では、黒い細胞外の生体粒子と、貪食された赤色蛍光(赤色)を発する生体粒子が示されています。



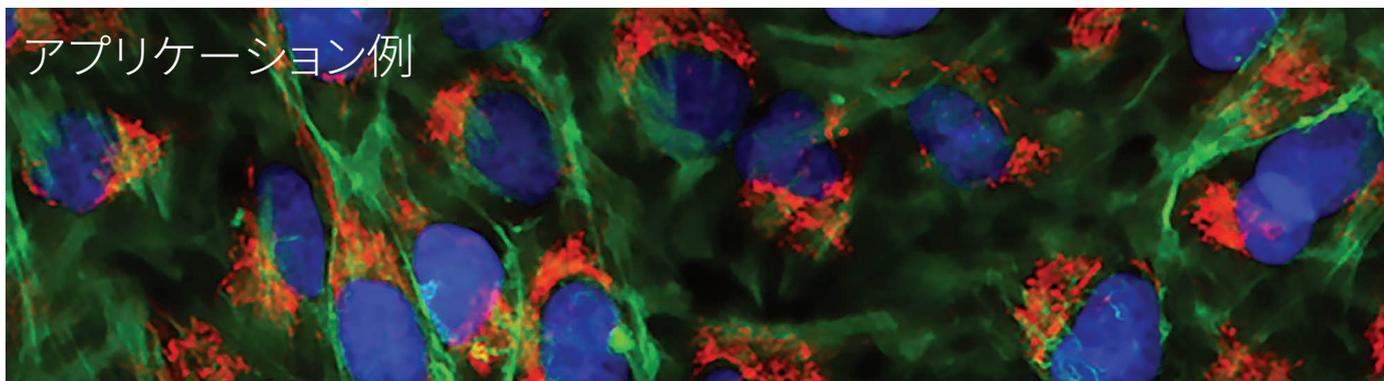
画像処理 → 静止画像のタイムスタンプ付き動画を生成することで、生体粒子のファゴサイトーシスの経時的な増加(オレンジ色)を把握できます。



解析 → 取り込まれた生体粒子を認識する一次マスクを、すべてのカイネティクス画像に適用します。

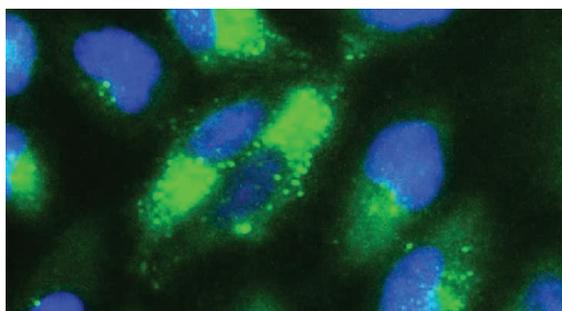


出力 → 未処理のマクロファージ(赤色)と比較すると、アクチンが破壊された細胞では、生体粒子のファゴサイトーシスが低下したことがわかります(黄色)。

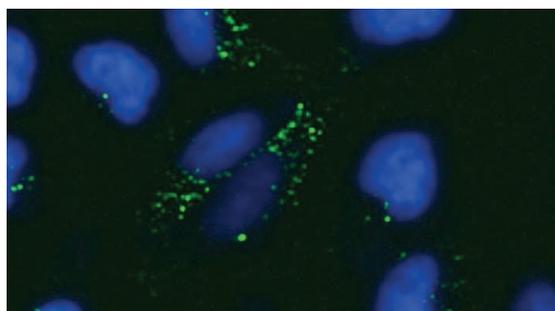


3. オートファジー (スポットカウント)

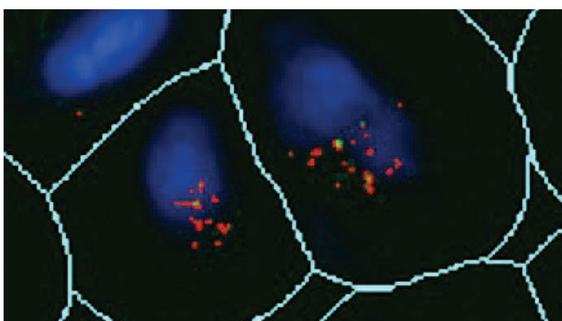
細胞はオートファジーを誘起する化合物で処理されます。CYTO-ID 色素と対象物質ベースの自動スポットカウントの組み合わせを用いて、細胞ごとのオートファゴソームのサイズと数を測定し、オートファジーに対する飢餓とラバマイシンの効果を定量的に評価します。



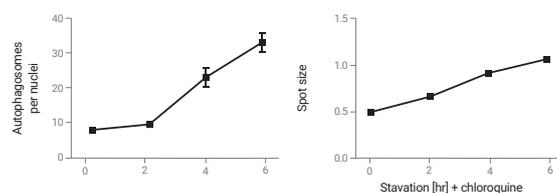
撮影 → 各ウェルは自動的に 20 倍でイメージングされます。



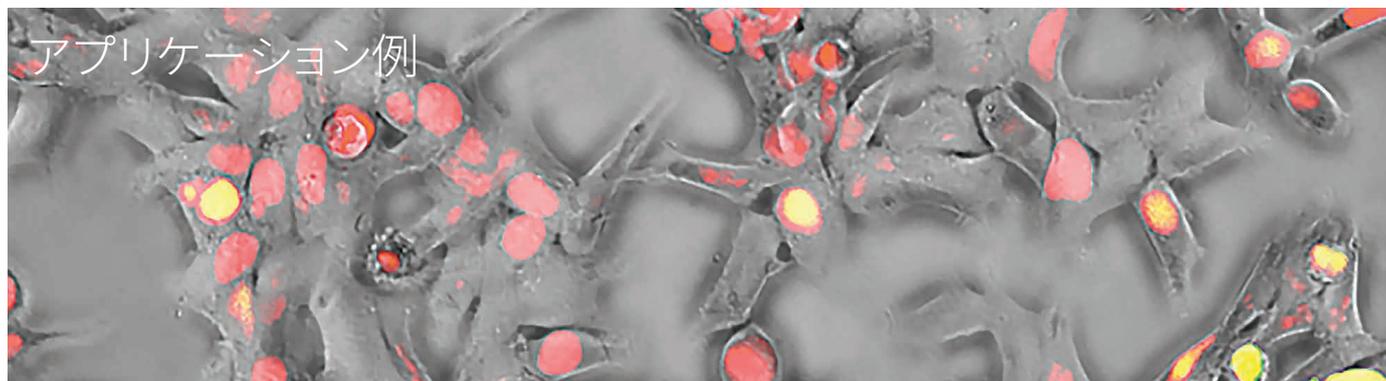
画像処理 → 画像を処理して、個々のオートファゴソームをさらに分離します。



解析 → 処理済みの画像を解析し、個々の各オートファゴソームを細胞単位のオブジェクトとしてカウントします。

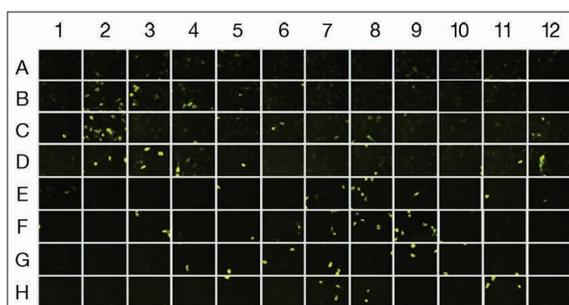


出力 → 細胞ごとのスポット数 (左) とスポットサイズ (右) を、一貫性のある方法で正確に測定します。



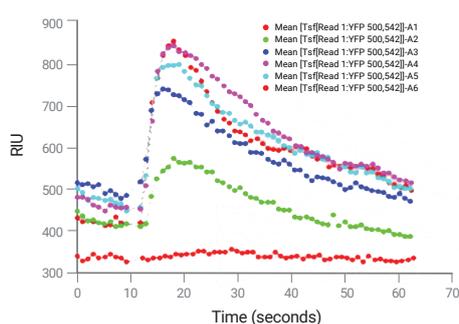
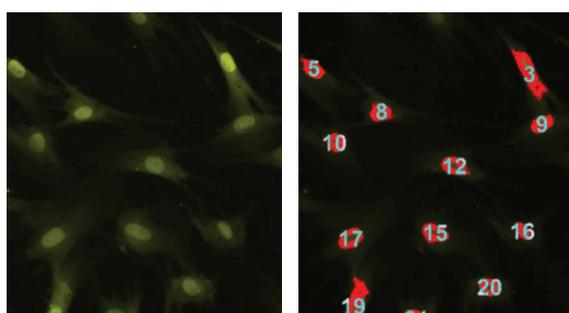
4. カルシウムアッセイ

カルシウムは、細胞内の信号伝達に果たす役割が高く評価されるようになってきました。高度な顕微鏡メソッドにより、カルシウムの放出をリアルタイムに視覚化できます。細胞はサブコンフルエントに播種され、カルシウム染色色素（Fluo-4）を加えています。ヒスタミンによってカルシウム放出を刺激することで、Fluo-4 応答を可視化しました。



撮影 → 96 ウェルプレートの各ウェルのカインेटクス画像を、秒単位で2分間撮影します。

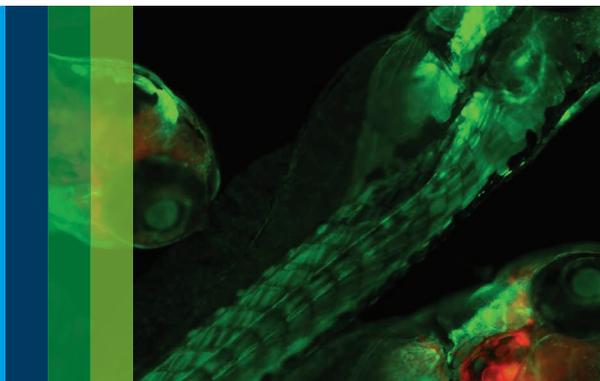
画像処理 → これらの画像から、カルシウムの放出と回復を示すタイムスタンプ付きの動画が生成されます。



解析 → データ正規化のため、セルカウントはピーク信号のタイムポイントで実行されます。

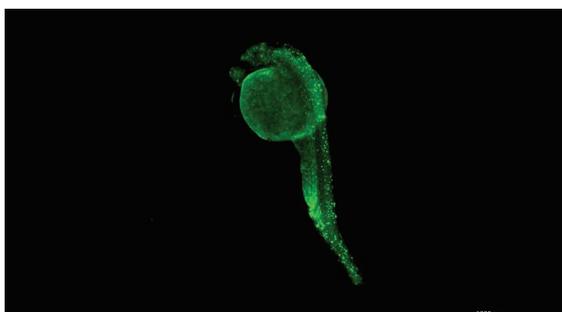
出力 → カインेटクス曲線の重ね合わせ表示により、カルシウム放出の阻害剤濃度に応じた影響を把握できます。

アプリケーション例

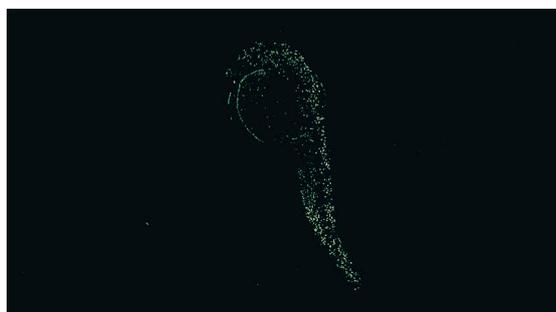


5. エタノールで処理したゼブラフィッシュのアポトーシスの測定

ゼブラフィッシュの胚を成長時の最初の 24 時間エタノールで処理し、アクリジンオレンジ染色（緑色の発光）を用いて細胞死に対するエタノール処理の効果を評価します。胚は 96 ウェルの丸底プレートで 2 倍の対物レンズを使用し、明視野および GFP チャネルで Z スタックとしてイメージングしました。



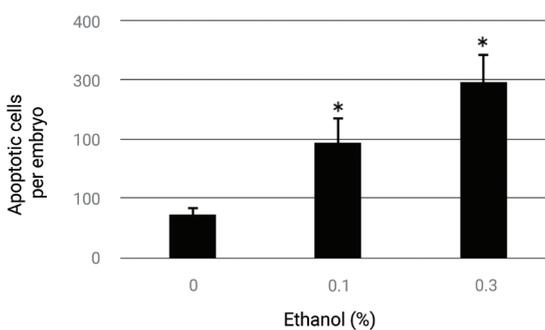
撮影 → 各ウェルを 2 倍レンズで自動的に Z スタックとしてイメージングします。



画像処理 → 画像は Z プロジェクションされてから前処理されます。これは個々の陽性細胞をさらに分離するためです。



解析 → 前処理した画像を解析。自動的に個々の GFP -陽性細胞ごとに同定およびカウントされます。



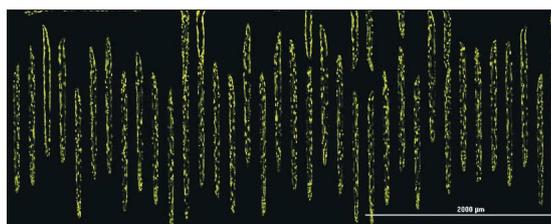
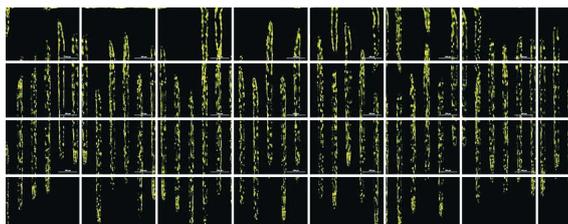
出力 → エタノール処理の効果を、胚ごとのアポトーシス細胞の数としてグラフ化して出力します。

アプリケーション例



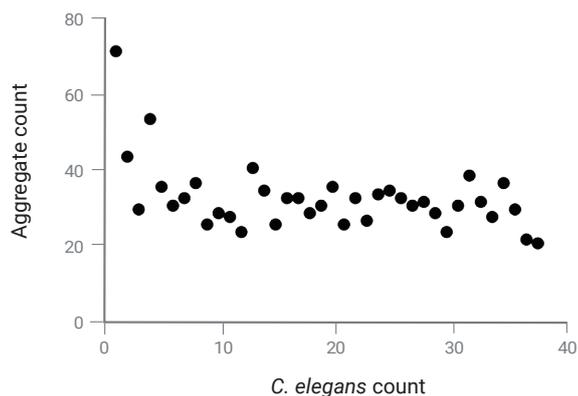
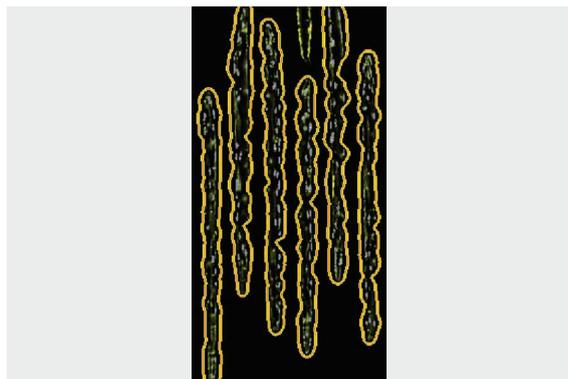
6. vivoChip を用いた 線虫のポリグルタミン凝集体の定量

生物全体ベースのハイスループットスクリーニングのツールとして線虫が浮上しています。この生物は、in vitro で再現が難しい複雑なヒト疾患をモデル化できるからです。ここでは、ポリグルタミン凝集体 (PolyQ35:YFP) で構成されるハンチントン病のモデルを使用しています。線虫を vivoChip プラットフォーム (Newormics 社製) にロードし、YFP チャンネルでイメージングしました。線虫の輪郭を Gen5 ソフトウェアで同定し、二次マスク機能を用いて線虫ごとに凝集体をカウントしました。



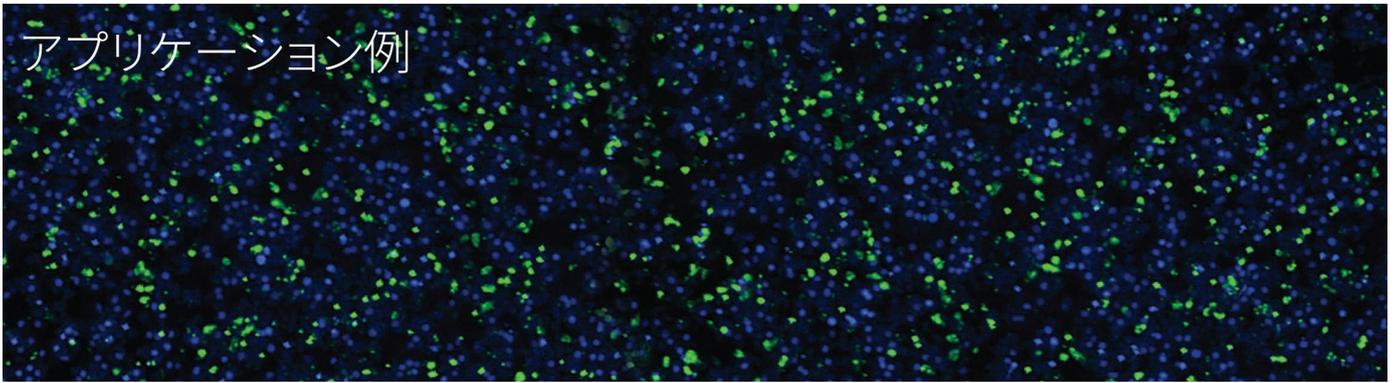
撮影 → 各 vivoChip は 10 倍の対物レンズで、明視野および YFP チャンネルで 4 x 8 のモニタージェおよび Z スタックとして自動的にイメージングします。

画像処理 → 画像タイルをスティッチングしてから、Z プロジェクションとバックグラウンドの平坦化を適用します。



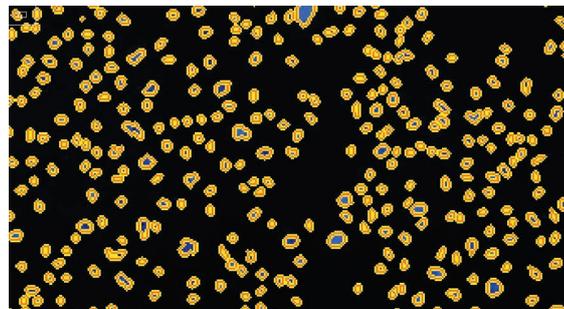
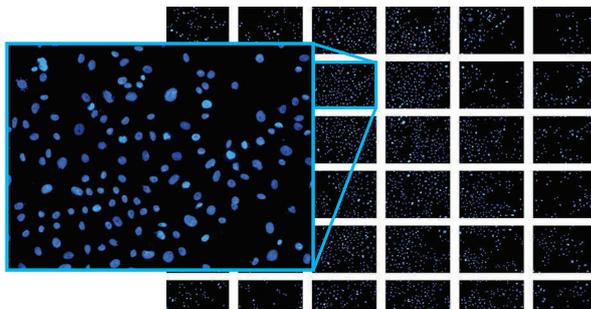
解析 → Gen5 の一次マスク機能で個々の線虫ごとに同定し、**出力** → 凝集体の数を定量して出力できます。二次マスク機能で線虫ごとの polyQ 凝集体を同定します。

アプリケーション例



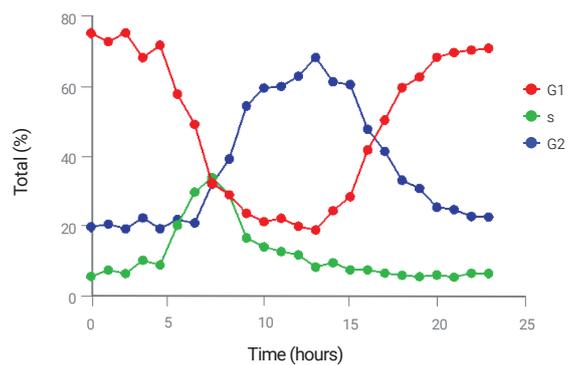
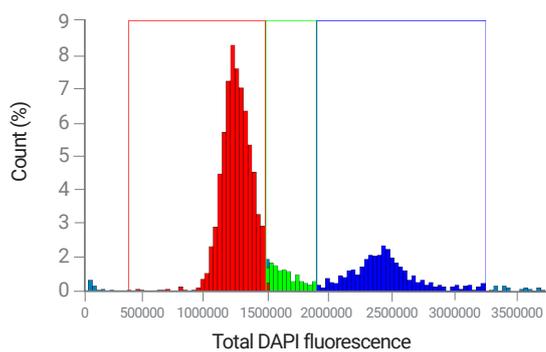
7. 核染色を用いた細胞周期解析

細胞周期の進行は、細胞分裂前の核 DNA 含量の複製を含む、厳密に制御されたプロセスです。DAPI などの核染色を使用すると、このプロセスを定量できます。細胞が G1 フェーズから G2 フェーズに進むときに、蛍光強度が増増するためです。



撮影 → 10 倍の対物レンズで撮影した DAPI モンタージュ (6 x 6) 画像 (1 つのタイルを拡大)

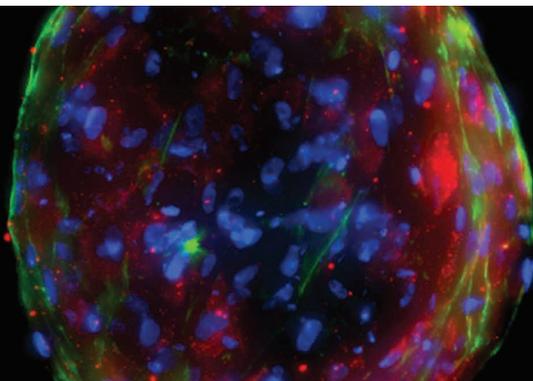
処理および解析 → ステッチングおよびバックグラウンド減算後に、細胞核を同定したモンタージュ画像 (拡大表示。最終モンタージュのウェルあたりの細胞数は約 3,000 個)



解析 → オブジェクトの全 DAPI 蛍光強度を横軸としたヒストグラム解析から、G1、S、および G2 サブポピュレーションを同定

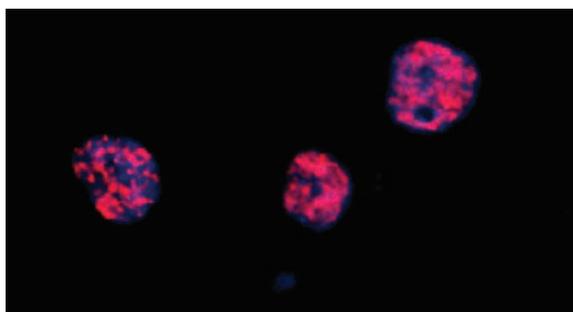
出力 → 薬剤処理により同期された PC-3 細胞群の細胞サイクルの進行をグラフ化

アプリケーション例

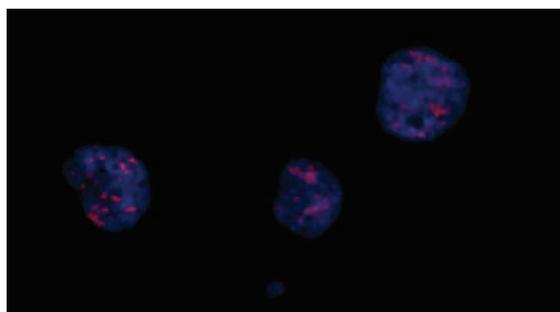


8. 遺伝毒性の評価指標である γ H2AX foci のスポットカウント

二重鎖 DNA の損傷は、DNA 修復プロセスの一部としてヒストン 2AX (H2AX) がリン酸化して γ H2AX になるという、重要な遺伝毒性効果の形で出現します。免疫染色の後に、自動蛍光イメージングおよびデュアルマスクスポットカウントを実行して、薬物治療後に標識化された病巣 (foci) を核ごとに定量します。



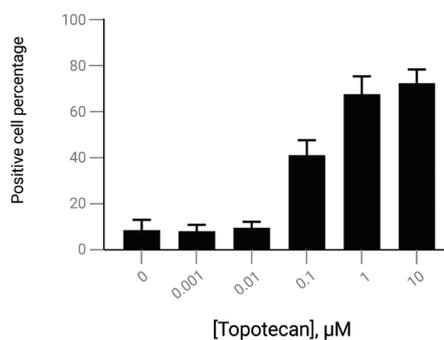
撮影 → DAPI 染色された核および蛍光抗体標識化された γ H2AX 信号を撮影した画像。



画像処理 → 前処理によりバックグラウンド信号を除去し、実際に標識化された γ H2AX スポットを明示できます。

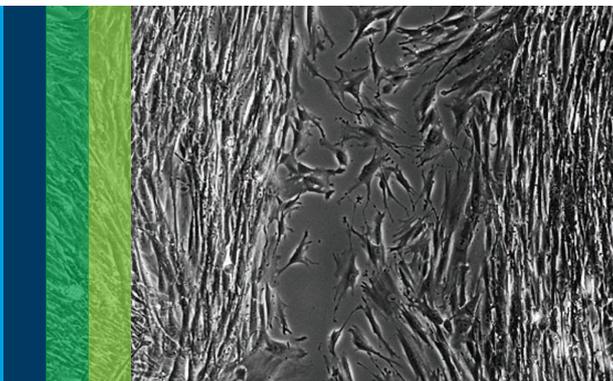


解析 → 二次マスク内に対してスポットカウント。核ごとのスポットを定量できます。



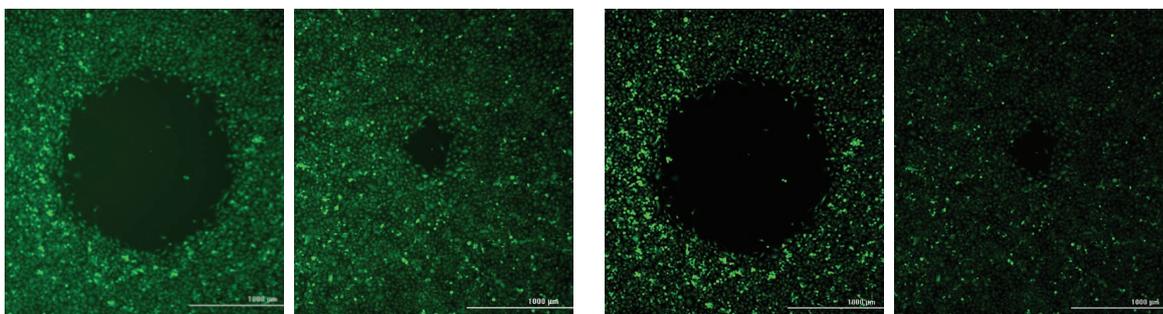
出力 → 核あたりの最小スポットの統計的判断により、処理あたりの陽性 γ H2AX 細胞の比率を計算できます。

アプリケーション例



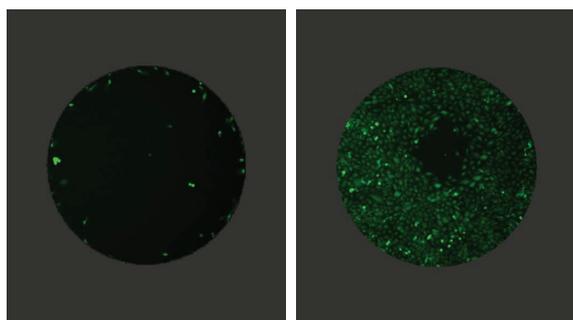
9. ハイスループットの細胞遊走アッセイ

Oris Pro は、384 ウェル形式で実施される細胞遊走アッセイです。生体適合性ゲルを使用して、培地/細胞の添加後にセルフフリーゾーンを作ります。コンフルエント率の画像解析を用いて、遊走阻害物質の効果を定量します。

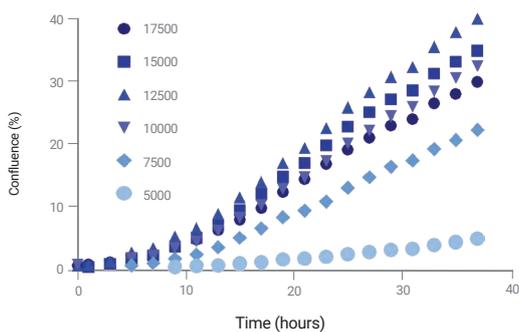


撮影 → 検出ゾーンへの細胞遊走をカインेटクスにモニタリングします。

画像処理 → バックグラウンドの平坦化を適用して、画像を解析しやすくします。



解析 → ディスク状の「プラグ」を適用して、セルフフリーゾーン内のコンフルエント率を測定します。



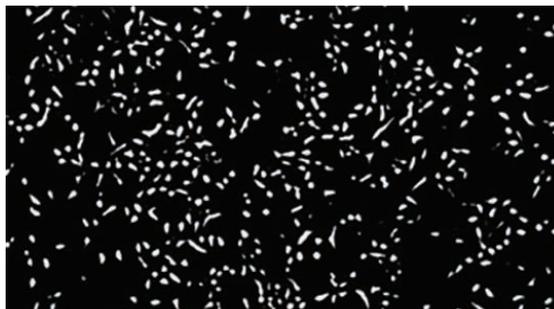
出力 → カインेटクスおよびエンドポイントの用量反応によって、遊走阻害物質の効果を定量できます。

アプリケーション例



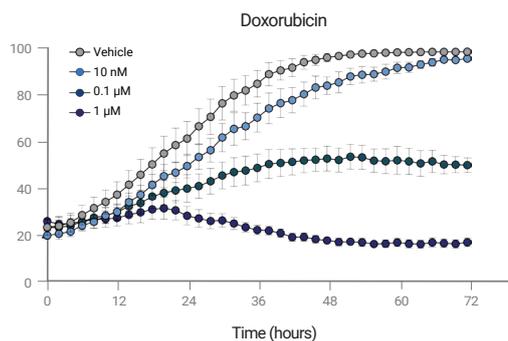
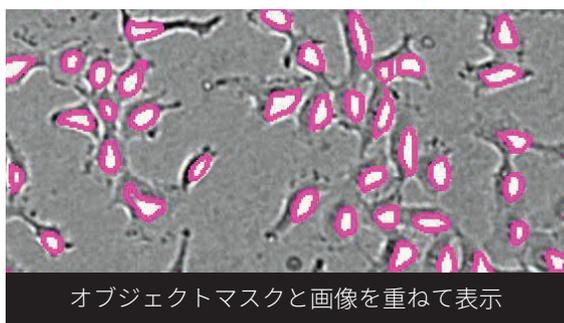
10. ラベルフリーの細胞増殖

96 ウェルのマイクロプレートに、ウェルごとの細胞が 2000 個になるように細胞を植え付けます。Agilent BioTek BioSpa 8 全自動インキュベーターを用い、温度 (37 °C)、ガス (5 % の CO₂)、湿度 (90 %) などの環境条件を維持して 5 日間インキュベーションします。増殖または薬物による増殖抑制は、ハイコントラスト明視野を用いたラベルフリー細胞カウントによって検出されます。



撮影 → 各ウェルを経時的に 2 時間おきに、ハイ-コントラスト明視野で撮影してモニタリングします。

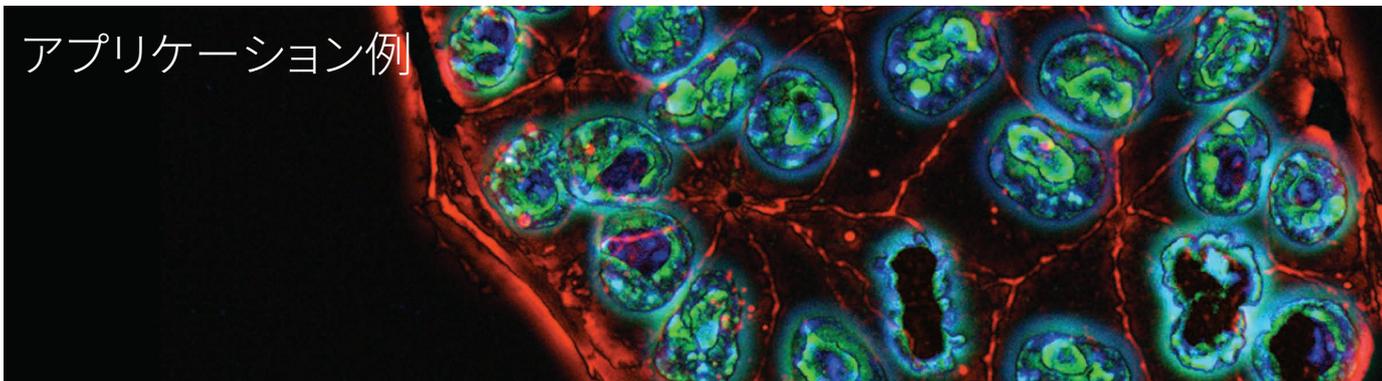
画像処理 → すべての画像を処理し、バックグラウンドに対する細胞のコントラストを最大化します。



解析 → 処理した画像を解析し、強度とサイズの閾値によって細胞とみなしたオブジェクトが同定されます。

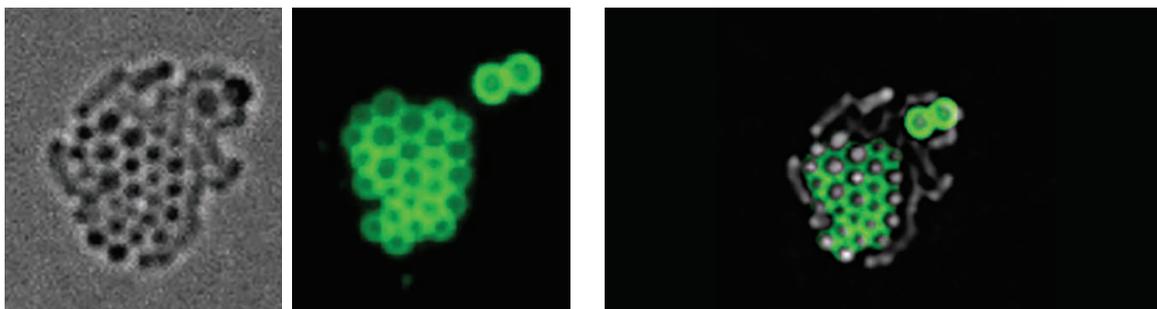
出力 → 抗増殖剤の薬理作用を出力できます。

アプリケーション例



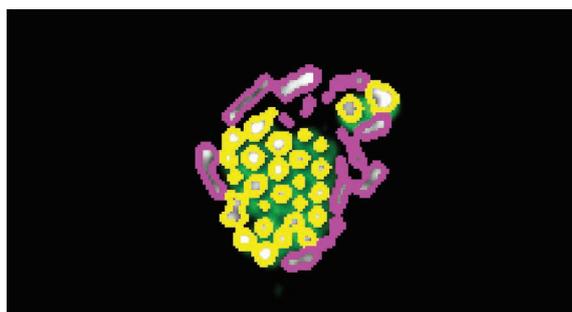
11. グラム染色のイメージング

グラム染色では、バクテリア株をその細胞壁の違いに基づいて分類します。細菌性ペプチドグリカン内で CF 488A-小麦胚芽凝集素 (WGA) が N-アセチルグルコサミンと結合すると、蛍光の結果が緑色になります。グラム-陽性菌は厚いペプチドグリカン層が露出しているため、明るい緑色で表示されます。外膜と薄いペプチドグリカン層によって、グラム-陰性菌の信号が制限されます。

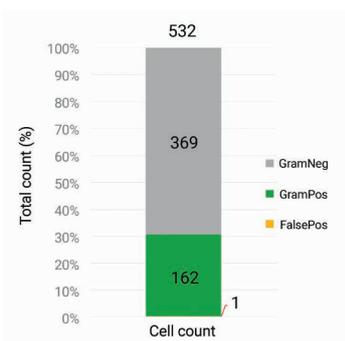


撮影 → 未加工の画像は、明視野および GFP で 60 倍（油浸）で撮影されています。画像は混合細菌性クラスターを拡大したものです。

画像処理 → バックグラウンドの平坦化とスムージングを用いて、明視野画像にデジタル位相差像が適用されます。

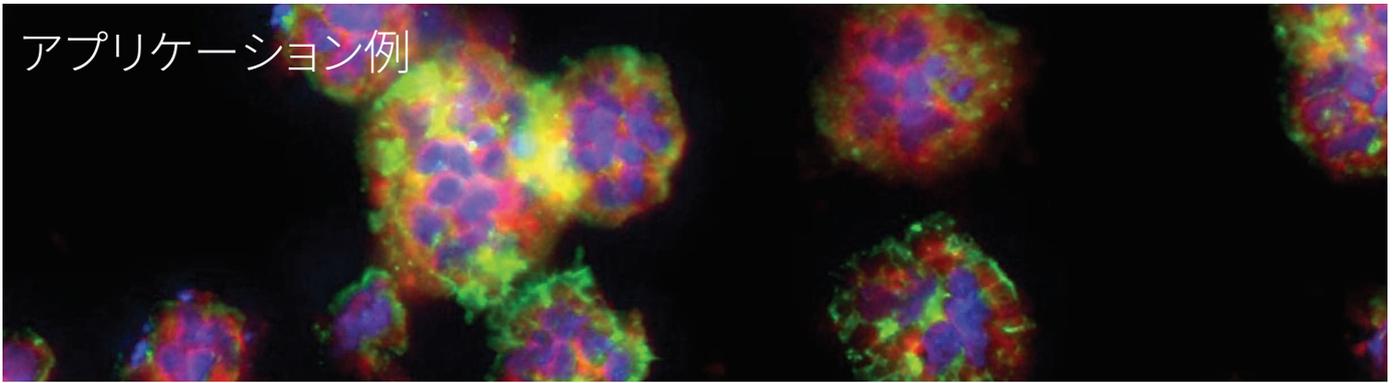


解析 → サブポピュレーション基準によって、グラム陽性細胞（黄色）とグラム陰性細胞（ピンク）が区別されます。



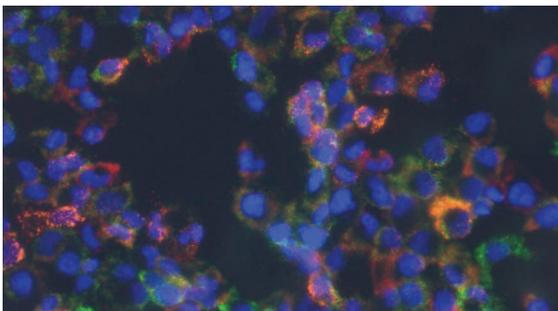
出力 → CF 488A-WGA グラム染色メソッドにイメージングおよび分析パラメータを適用することで、細菌を識別するための特異性が 99.8 % となります。

アプリケーション例

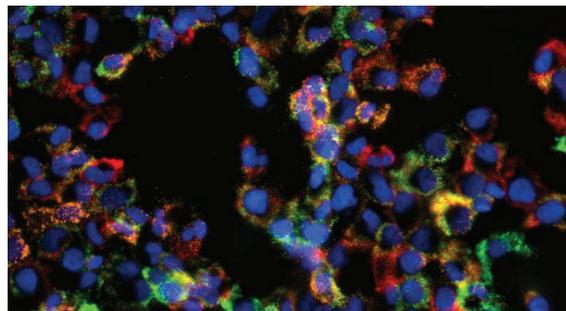


12. RNA FISH を用いたがんバイオマーカーの遺伝子発現の定量

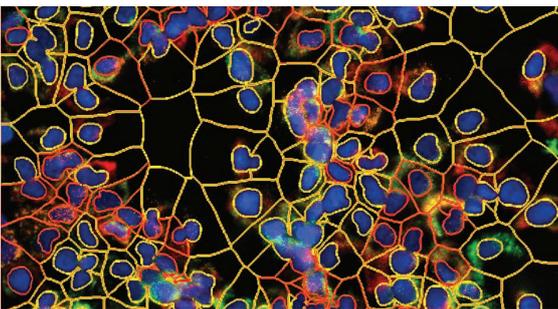
RNA 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法 (RNA FISH) は遺伝子発現を定量するための一般的なメソッドであり、がん研究でよく使用されています。特異性の高いプローブおよび増幅システムにより、関連する RNA 出現を画像ベースで定量できます。また核染色による対比染色により、細胞数に対する発現を正規化できます。



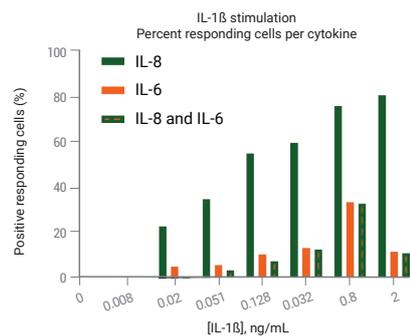
撮影 → DAPI 染色した核とハイブリダイゼーションし、増幅、蛍光標識化した RNA ターゲットを撮影した画像です。



画像 → 事前処理によってバックグラウンド信号を除去し、標識化された RNA 分子からの実際の信号が明示されるようにします。

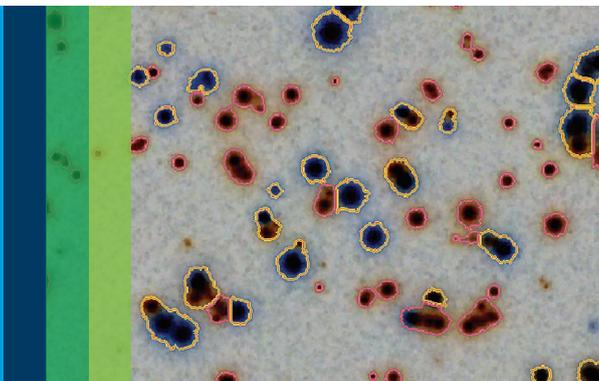


解析 → 二次マスクにより、標識化したターゲットからの平均蛍光信号を定量します。サブpopulation解析により、治療薬に反応する細胞を特定します。



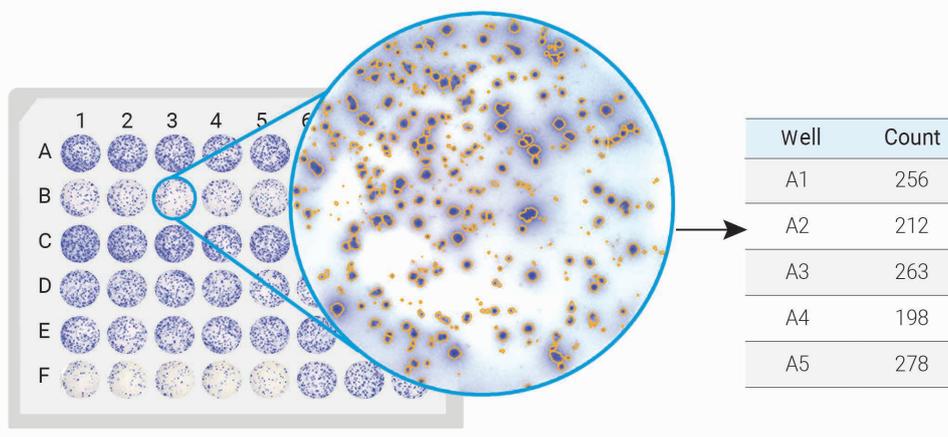
出力 → 細胞の総数に対する反応細胞の数を正規化することで、RNA 発現による反応率を治療ごとに計算できます。

アプリケーション例



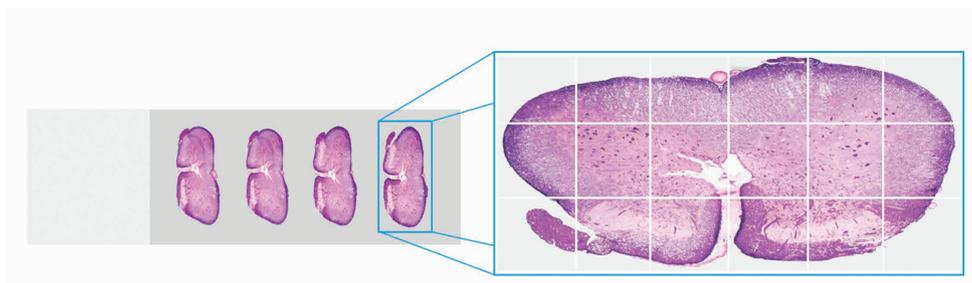
13. ELISpot イメージング

Cytation の正立顕微鏡モジュールは発色反応を利用した細胞分泌物を可視化するような ELISpot 解析が可能です。Cytation では、画像の取り込み、処理、解析、および対象物質のカウントを完全に自動化できます。



14. AutoROI 同定機能

Gen5 の AutoROI 機能では、低倍率で ROI を同定してから高倍率で ROI を自動的にイメージングします。



A 低倍率のスキャンと ROI 同定

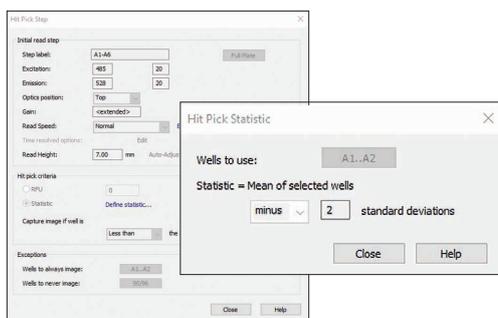
B 高倍率イメージング

アプリケーション例



15. ヒットピッキング

ヒットピッキングでは、Cytation 細胞イメージングリーダーのジョイント読み取りとイメージングベースの検出機能が統合されています。高速の PMT ベース検出によりコントロールとテストウェルが測定されます。その後、事前に定義され、統計的に導出された「ヒットピック」PMT ベースのシグナル基準を満たすテストウェルで自動イメージングが実行されます。統合されたプロセスにより、合計のイメージング時間と、取得画像を保存するために必要な容量が削減されます。

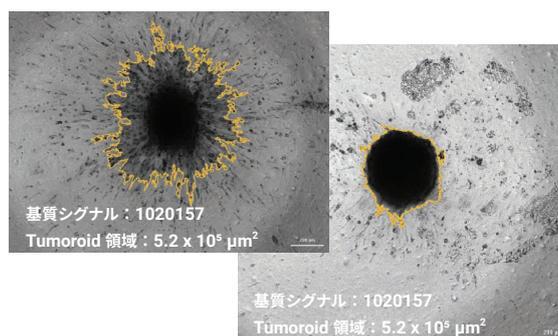


7	8	9	10	11	12
1020157	890988	603427	578530	783837	869024

基準を設定 → テストウェルのイメージングをトリガーするヒットピック基準を定義します。

読み取り → PMT ベース検出を使用して、すべてのコントロールとテストウェルの読み取りが実行されます。

コントロール	阻害剤 1	阻害剤 2			
1020157	890988	603427	578530	783837	869024



ターゲットイメージング → ヒットピック PMT ベース検出カットオフ基準を満たすテストウェルのみが撮影されます。

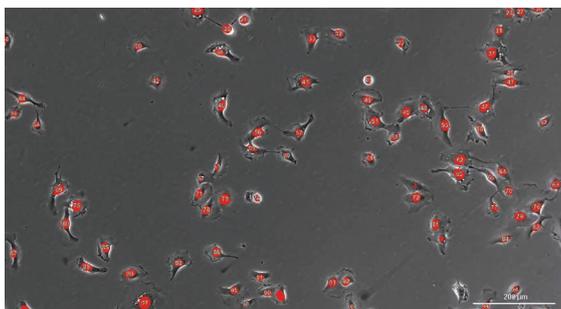
解析 → 細胞解析を実施して、「ヒット」ウェルの画像ベースの結果が PMT ベース結果と適合することを確認します。

アプリケーション例

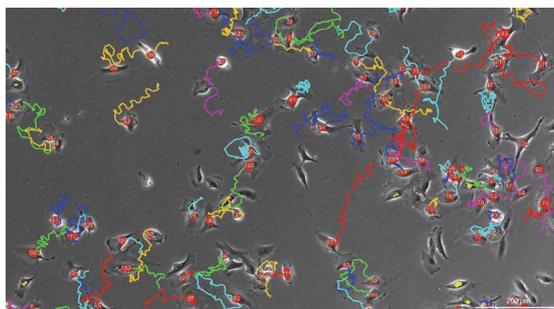


16. シングルセルオブジェクトトラッキング

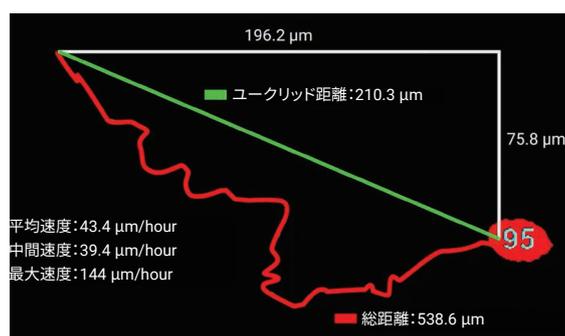
Gen5 オブジェクトトラッキングモジュールは、長期にわたる単一オブジェクトの追跡を自動化します。オブジェクトはプライマリ細胞解析指標を使用して特定されます。単一オブジェクトまたは集団を選択し、カイネティクストラッキングが開始します。移動した総距離、ユークリッド距離、平均速度、中央値速度、最高移動速度など、複数の指標を計算できます。



特定 → マスクを適用し、トラッキングする画像内のオブジェクトを選択します。



追跡 → カイネティクス実験を通じて、オブジェクトが追跡されます。



定量 → トラッキング指標が自動で生成され、細胞あたり、または集団レベルで返されます。

関連機器とアクセサリ

大量処理や長期のワークフローを対象に、Cytation 細胞イメージングリーダーは Agilent 自動化ソリューションと統合できます。



Cytation C10 と BioStack の統合

Agilent BioTek BioStack マイクロプレートスタッカーは最大 50 枚のマイクロプレートを搭載し、イメージングやマルチモードリーディングを自動化します。セルベースアッセイに用いられるマイクロプレートの蓋の着脱も可能です。

BenchCel マイクロプレートハンドラー

Agilent BenchCel マイクロプレートハンドラーは、さまざまな Agilent BioTek 機器と統合可能なコンパクトな自動化システムです。分注には、Agilent BioTek MultiFlo FX マルチモードディスペンサー、406 FX および EL406 ウォッシャー・ディスペンサー、405 TS および LS ウォッシャー、ELx405 Select ディープウェルプレートウォッシャーが対応します。Cytation 5 細胞イメージングマルチモードプレートリーダー、Synergy Neo2 ハイブリッドマルチモードプレートリーダー、Synergy H1 マルチモードプレートリーダー、Epoch 2 マイクロプレート分光光度計などの Agilent BioTek 検出機器も追加できます。さらに BenchCel は、ディープウェルプレートを含む広範なマイクロプレートに対応しています。自動化ワークフローにより、さまざまなアプリケーションを実現できます。



関連アクセサリおよび技術



BioSpa 8 全自動インキュベーター

BioSpa 8 自動インキュベーターは、環境制御とラボウェア操作の機能を備えています。このため、最大 8 枚のマイクロプレートで、長期間の生細胞カイネティクスイメージング処理を簡単に実行できます。



406 FX ウォッシャー・ディスペンサー

406 FX ウォッシャー・ディスペンサーは、1 台の機器で、プレート洗浄と試薬分注の多数のステップを自動で実行します。406 FX は、セルベース、ELISA、マルチプレックスアッセイ、その他多数のプロトコルに最適です。Agilent BioTek Dual-Action マニホールドとアジレント独自の Agilent BioTek Ultrasonic Advantage により、優れた洗浄性能が確保され、簡単にメンテナンスを実施できます。



AutoScratch スクラッチアッセイ用サンプル調製装置

AutoScratch スクラッチアッセイ用サンプル調製装置では、24 ウェルまたは 96 ウェルのマイクロプレートで培養した細胞単層への再現性のある創傷が可能であるため、細胞の遊走や浸潤の研究に便利です。

関連アクセサリおよび技術

CO₂/O₂ ガスコントローラー および試薬インジェクター



生細胞アッセイに適した CO₂ および O₂ 濃度を維持できるように制御する、コンパクトなガスコントローラーです。このガスコントローラーは、Lionheart FX および Cytation システムで使用できます。

デュアル試薬インジェクター モジュール



Lionheart FX および Cytation のデュアル試薬インジェクターモジュールにより、高速な細胞反応のイメージングや検出が可能です。

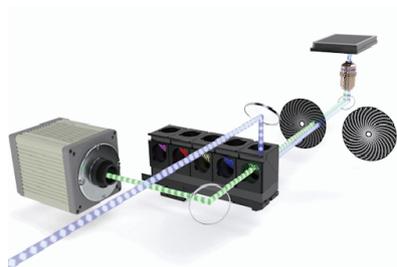
イメージングキューブ



Cytation C10 の共焦点キューブでは 6 ラインのレーザー光源を使用しており、ディープブロッキングフィルターによって輝度と画像解像度を最適化できます。

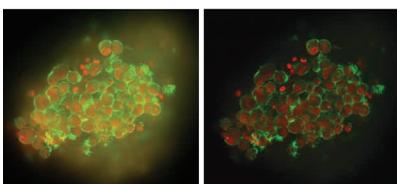
広視野イメージング用のフィルター /LED キューブでは、高出力かつメンテナンスの手間のかからない LED を使用しており、光強度を完全に制御して光毒性を軽減できます。

共焦点ハードウェア



Cytation C10 共焦点顕微鏡は、浜松ホトニクス製 sCMOS カメラと 60 μm および 40 μm のニポウスピンニングディスクを搭載しています。ディープセクショニングスピニングディスク (DSD) は、組織およびスフェロイドのような厚みのある生体サンプルの、より深い部分の観察を可能にします。

ディープセクショニング スピニングディスク



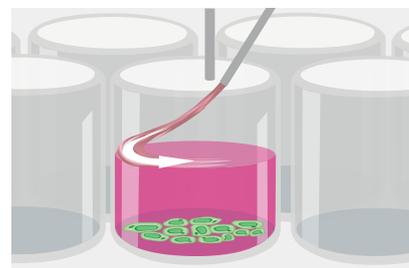
ディープセクショニングスピニングディスク (DSD) は厚いサンプル中のクロストークを減らすため、厚みのある組織サンプルやスフェロイド内の鮮明な観察を可能にします。観察困難なサンプルタイプの深部から、より詳細なデータを収集します。スフェロイドの Z スライスを、標準 60 μm ディスク (左) と 60 μm DSD (右) を使用して撮影した映像です。

ラボウェアアダプター



Agilent BioTek は顕微鏡スライド、細胞培養ディッシュおよびチャンバースライドからマイクロプレート、T75 フラスコおよび血球計算盤まで幅広いラボウェアアダプターを用意しており、多くのイメージングワークフローをサポートしています。

角度付きインジェクターチップ



角度付きの分注ノズルの先端は、分注時のせん断応力から細胞単層を保護します。

高品質な対物レンズ



Agilent BioTek では、オリンパスの対物レンズを含む高品質な光学部品を使用しています。ドライ対物レンズはすべての Cytation および Lionheart イメージャーで使用できます。油浸対物レンズは Lionheart で、水浸対物レンズは Cytation C10 で使用できます。

湿度制御



Lionheart FX には独自の湿度チャンバーが搭載されており、カイネティクスイメージングセッション中に細胞生存率を維持できます。

Agilent BioTek

イメージングおよび顕微鏡



Lionheart FX
全自動顕微鏡



Lionheart LX
全自動顕微鏡



Cytation C10
共焦点イメージング・プレートリーダー



Cytation 7
細胞イメージング・マルチモードプレート
リーダー



Cytation 5
細胞イメージング・マルチモードプレート
リーダー



Cytation 1
細胞イメージング・マルチモードプレート
リーダー

機器の比較



	Lionheart FX	Lionheart LX	Cytation C10	Cytation 7	Cytation 5	Cytation 1
全般						
マイクロプレートタイプ	6 ~ 1536 ウェルプレート					
その他のラボウェア	スライド、細胞培養ディッシュおよびフラスコ、血球計算盤、チャンバースライド					
インキュベーション	40 °C まで		45 °C まで	45 °C まで	65 °C まで	45 °C まで
ジョイスティックコントローラー	•	•	•	•	•	
BioStack 対応			•	•	•	•
BioSpa 8 対応			•	•	•	•
BenchCel 対応				•	•	•
マルチモードプレート測定			•	•	•	•
イメージング						
広視野蛍光	•	•	•	•	•	•
共焦点蛍光			•			
ハイコントラスト明視野	•	•	•	•	•	•
明視野	•	•	•	•	•	
カラー明視野	•	•	•	•	•	
位相差像	•	•	•		•	
倍率 - ドライ	1.25 倍、2.5 倍、4 倍、10 倍、20 倍、40 倍、60 倍					
倍率 - 油浸	60 倍、100 倍					
倍率 - 浸水	40 倍、60 倍					
倒立顕微鏡	•	•	•	•	•	•
正立顕微鏡				•		

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

RA45211.329375

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022, 2023, 2024

Printed in Japan, March 22, 2024

5994-2409JAJP

