

使用从宏观到微观自动成像对3D癌症球体进行药物活性试验

简介

显微镜观察是评估抗癌药物对球体或类器官药物疗效的一种有效方法。然而，成像工作流程可能很耗时，因为需要在显微镜前花大量时间定位您的样品并进行成像。

我们开发了从宏观到微观自动成像功能，这是一个创新型成像模块，极大地提高了这项工作的效率。从宏观到微观自动成像功能使用自动成像和目标检测代替手动显微镜操作。在本应用说明中，我们介绍了一个关于使用从宏观到微观自动成像观察3D癌症球体的药物活性试验的案例研究。

材料和方法：样品制备

以2000个细胞/孔的密度将人乳腺癌细胞系MCF-7细胞接种到96孔U型板（PrimeSurface，住友电工）。在培养的第三天，添加不同浓度的抗癌药物（紫杉醇、5-FU、顺铂）。培养24小时后，加入Hoechst 33342、碘化丙啶（PI）和Calcein-AM，并培养一小时。使用Hoechst33342对所有细胞的细胞核染色，使用PI对死细胞的细胞核染色，使用Calcein-AM对活细胞染色。然后，使用奥林巴斯FV3000共聚焦激光扫描显微镜的从宏观到微观自动成像软件模块观察细胞。

从宏观到微观自动成像是如何工作的？

使用从宏观到微观自动成像时，只需提前设置好观察方法，就可以自动进行以下操作。

首先，从宏观到微观自动成像功能使用低倍率物镜（1.25倍至4倍物镜）拍摄整个孔的概览图（包括Z轴）。根据获得的图像（宏观图像），自动检测每个孔中样品的位置和厚度。然后，计算出最佳成像位置（XYZ），用高倍率物镜对样品进行精细成像（微观图像）。如果样品尺寸超出用于微观成像的物镜的视场，系统可自动将多幅图像拼接在一起（图1）。

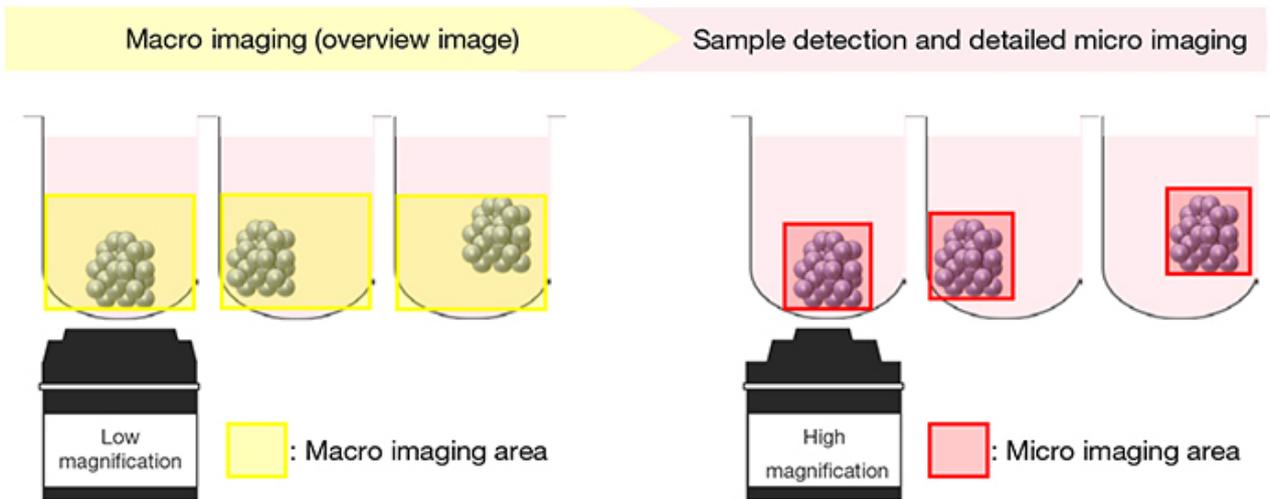
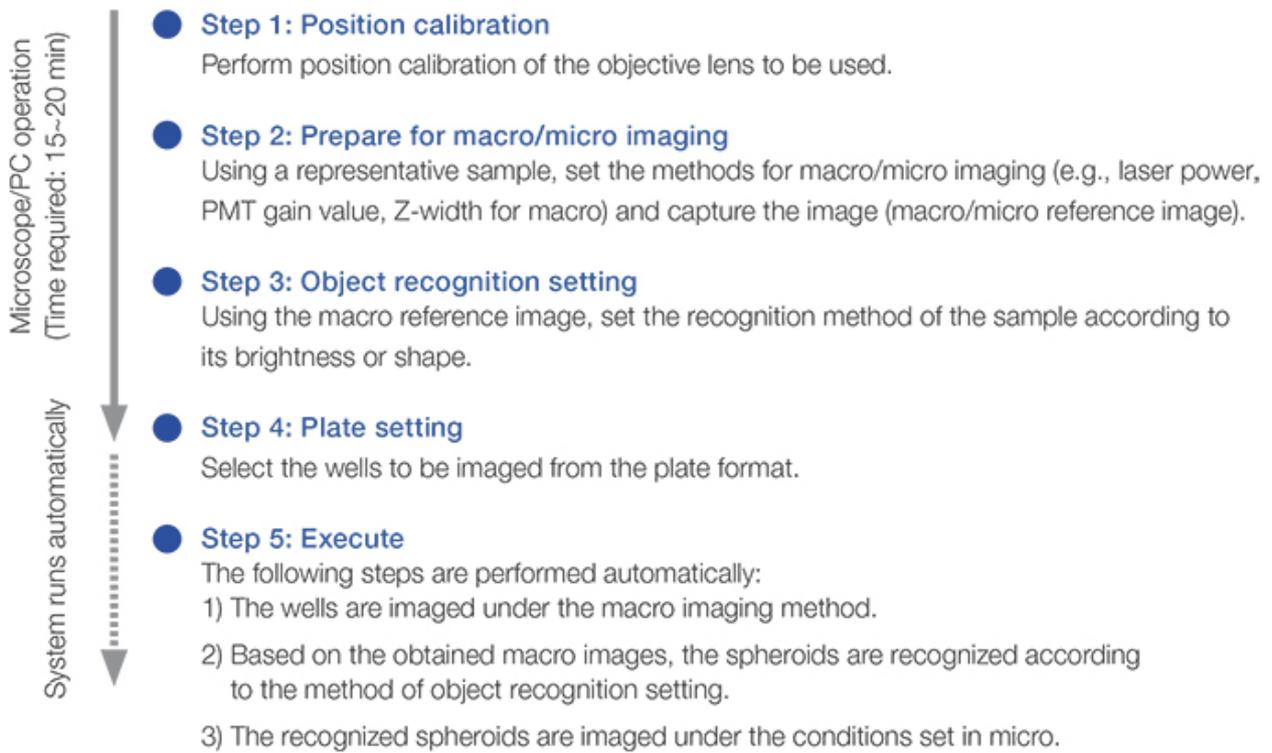


图1.从宏观到微观示意图

显微镜操作大约需要15-20分钟，只有在设定了最初观察方法后才需要。执行从宏观到微观自动成像功能后，用户可让显微镜和计算机在完成成像后自动执行其他任务。因此，花费在显微镜操作上的时间将大幅减少。此外，即使各个孔之间样品的厚度或位置存在差异，系统仍能以理想的Z范围为每个样品进行成像。这加快了成像时间，减少了成像数据量。

从宏观到微观成像步骤



成像结果

经各种抗癌药物处理过的MCF7球体使用Calcein-AM和PI进行染色，以观察其活性。通过使用FV3000共聚焦显微镜的从宏观到微观自动成像模块，可以快速获得在适当位置采集的60个孔的高分辨率图像。显微镜操作只需要15分钟（图2）。

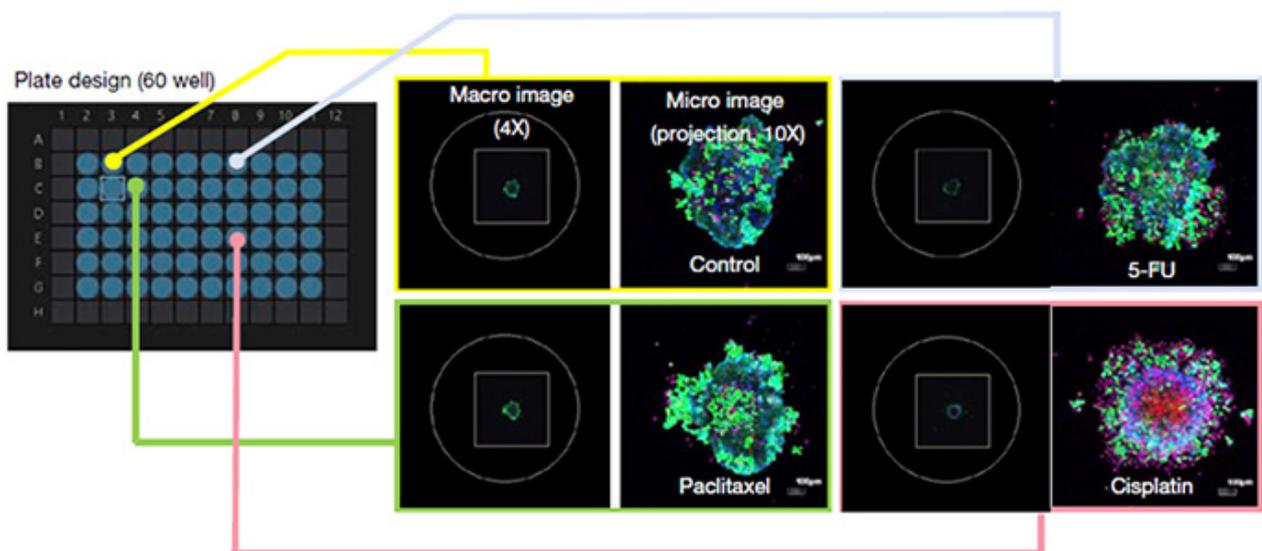


图2.使用从宏观到微观自动成像模块进行抗癌药物的活性试验

在传统的观察工作流程中，每次都需要针对单个孔指定样品位置，以获得适当的成像条件。使用从宏观到微观自动

成像模块时，可省去这一步骤。而且，省下来的时间可用于处理其他任务，从而提高工作效率。

分析结果

使用NoviSight 3D细胞分析软件打开从宏观到微观自动成像功能采集的图像文件后，可以一次性对多孔图像进行3D分析。

根据MCF7 Hoechst33342的染色程度识别所有细胞核。根据Calcein-AM和PI的染色程度，对识别的细胞核是活细胞还是死细胞进行分类，以评估活性。结果证明，我们成功在单细胞层面评估了每种抗癌药物的活性，与已有的报告一致（图3和图4）。

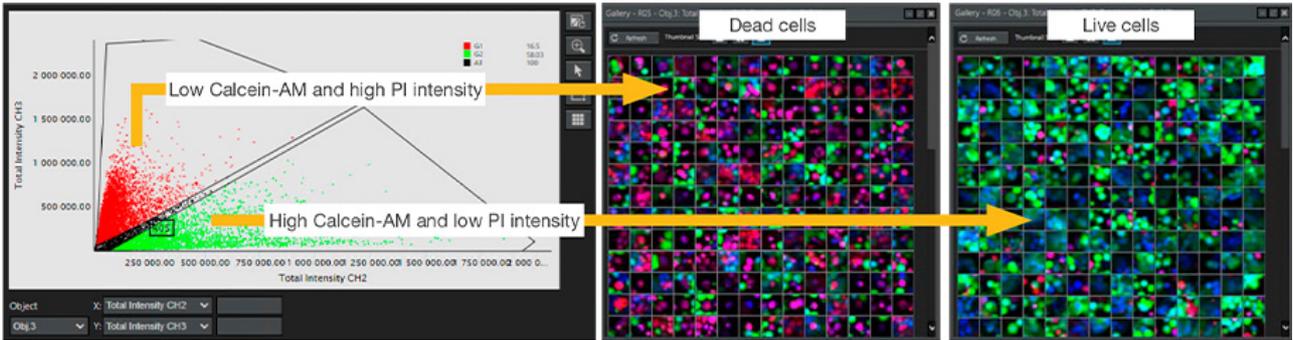


图3.根据Calcein-AM/PI染色程度进行活/死分类的NoviSight分析

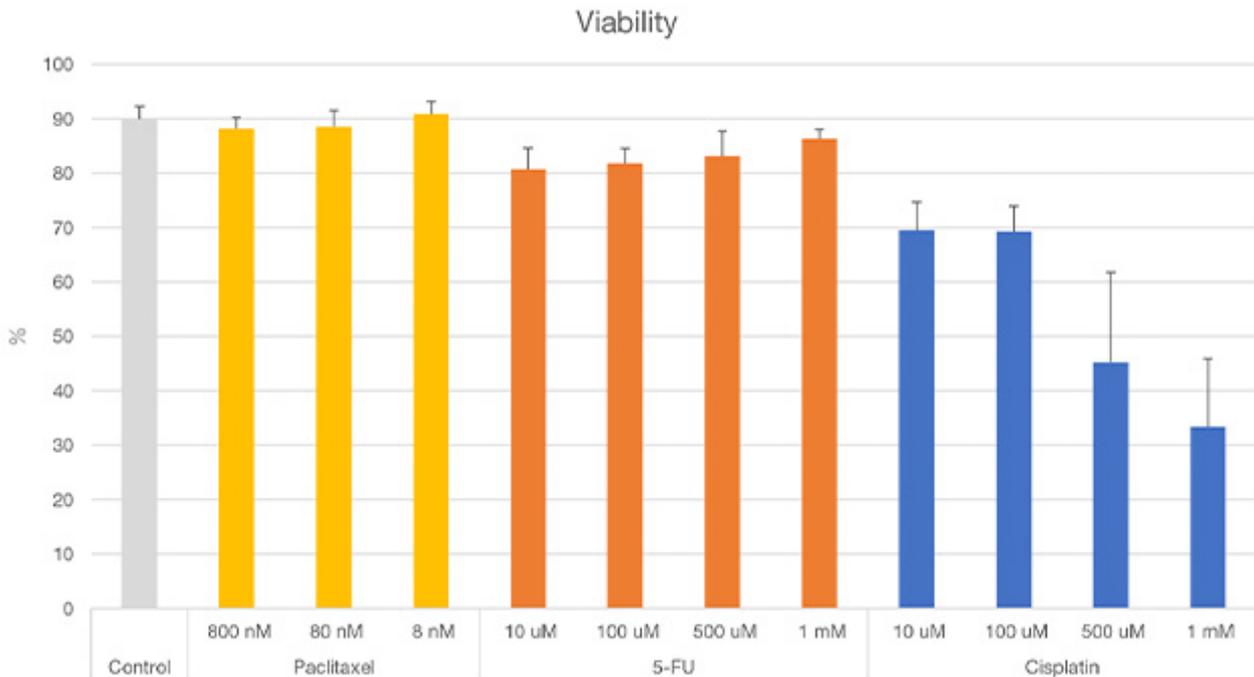


图4.使用NoviSight分析的球体活性结果

结语

通过使用从宏观到微观自动成像模块，只需花大约15分钟的时间操作显微镜和计算机，便可在适当的图像位置对微孔板的60个孔成像。

据估计，如果每次对一个孔进行手动成像，则需要在显微镜和计算机前间歇性地操作6个多小时，包括成像时间。有了自动成像模块，您只需要花大约15分钟的时间操作显微镜和计算机，完成成像后，还可以灵活执行其他任务。

此外，通过结合从宏观到微观自动成像和NoviSight软件，可以分批对多孔图像进行分析。这种设置实现了从图像采集到多孔球体样品分析工作流程的无缝衔接。

Mayu Ogawa

奥林巴斯公司研发部研究员

相关产品



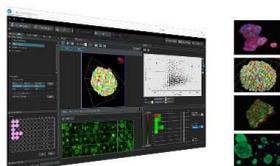
激光扫描共焦显微镜

FV4000

- 改变了游戏规则的大动态范围，实现从宏观尺度到亚细胞结构的成像
- 采用TruSpectral技术可扩展多达6个通道的同步多色成像能力
- 重新设计的高速、高分辨率扫描单元，可进行固定细胞和活细胞的高效成像
- 凭借出色的近红外（NIR）功能和高品质光学器件，提供优异的成像深度和灵敏度
- 可靠、可重复的SiVIR探测器让研究者安枕无忧
- 业界出色的*10条激光谱线，提供从405 nm到785 nm的更广光谱范围

*截至2023年10月。

学习更多内容 ▶ <https://www.olympus-lifescience.com/laser-scanning/fv4000/>



3D细胞分析软件

NoviSight

NoviSight 3D细胞分析软件可在基于微孔板的实验中提供细胞球和3D对象的统计数据。使用它可以3D方式量化细胞活性，轻松捕获罕见细胞事件，获得准确的细胞计数，并提高检测灵敏度。NoviSight软件采用一系列成像技术，包括点扫描共焦成像、双光子成像、转盘

共聚焦成像和超分辨率活细胞成像。

- 从整个结构到亚细胞特征的快速3D图像识别
- 准确的统计分析
- 配备各种即用型默认测定或轻松设计您自己的测定

学习更多内容 ▶ <https://www.olympus-lifescience.com/software/novisight>