



CL-Quant アドオンモジュール

# 「hPSCコロニー数」を用いた iPS細胞のコロニー数計測

<BioStation CT 使用例 >

## はじめに

- CL-Quant アドオンモジュール「hPSCコロニー数」は、画像解析ソフトウェアCL-Quantと組み合わせて使用することにより、培養中のiPS細胞のコロニー数をカウントすることが可能です。
- コロニーカウントという手間のかかる作業を自動計測することにより、作業者の業務負担を軽減します。また、画像をエビデンスとして記録保存し回顧的検証に役立てることもできます。

## 観察装置

- BioStation CT (Nikon, MLA10000)

## 画像解析ソフトウェア

- CL-Quant ver. 5.02 (Nikon, MLS21000)

## CL-Quant アドオンモジュール

- hPSCコロニー数 MA-PC-4X-CO01 (Nikon, MLS30101)

## 細胞

- ヒトiPS細胞Tic-FX (JCRB細胞バンク, JCRB1331.01, MRC-5由来, フィーダーフリー培養に適応させたTic細胞(JCRB1331)の垂株)

## 試薬及び材料

- TeSR™-E8™ Kit for hESC/hiPSC Maintenance (STEMCELL Technologies, 05990)
- Fibronectin bovine plasma (Merck, F1141)
- StemPro™ EZPassage™ Disposable Stem Cell Passaging Tool (Thermo Fisher Scientific, 23181010)
- Cell Scraper S (Sumitomo Bakelite, MS-93100)
- Costar® 6-well Clear TC-treated Multiple Well Plates(Corning, 3516)

## 方法

TeSR™-E8™培地で維持培養したTic-FX細胞をEzpassage™とCell Scraper Sを用いて剥離分散し、Fibronectinでコートした6ウェルプレートの各ウェルにクランプで播種しました。播種した細胞は、BioStation CTで37℃、5%CO<sub>2</sub>環境下で3日間培養しました。

播種3日後から12時間毎に4倍の対物レンズで、ウェル中心部の8×8視野(約16.0 mm×16.0 mm)を撮影しました。撮影は、ウェルごとに一番初めの視野でオートフォーカス調整したのち、その設定値を用いて同一ウェル内を撮影しました。

得られた画像データは、CL-Quantとアドオンモジュール「hPSCコロニー数」を用いて解析し、「Colony Count」を自動計測しました。操作画面上でiPS細胞の一つ一つのコロニーのマスク表示と計測数値を確認し、Microsoft Excel®形式で出力しました。

## 結果

iPS細胞の各コロニー領域をマスクし、ランダムにカラー表示しました。また、コロニー数をCL-Quantとアドオンモジュールにて自動計測しました(図1)。

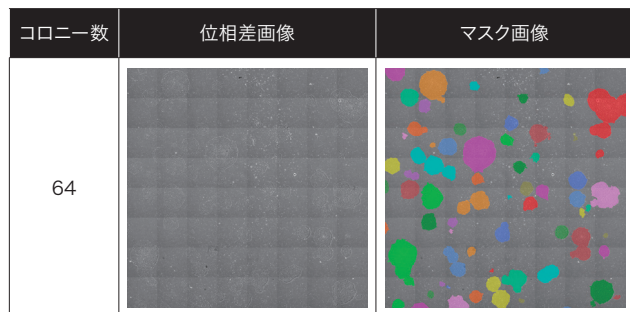


図1: iPS細胞の位相差画像(左)と各コロニー領域マスク画像(右)

位相差画像のコロニー領域をマスクし、ランダムカラーで表示した。

## まとめ

- CL-Quantとアドオンモジュール「hPSCコロニー数」を組み合わせて使用することにより、iPS細胞コロニーを一つ一つ独立した領域として認識することができます。また、認識されたコロニーの数を自動計測し、操作画面上に表示します。
- 得られた計測数値はMicrosoft Excel®形式で出力できます。

### <観察装置のご紹介>

インキュベータに内蔵した顕微鏡で細胞を長期モニタリングできるBioStation CTや、ステージを動かさずにスクリーニング可能なBioStudio-T。いずれも細胞に与えるストレスを抑え、経時変化をタイムラプス撮影できます。ニコンのライブセルイメージング機器と独自の画像解析技術を用いることにより、細胞の特性をリアルタイムで、経時的に観察・解析することが可能です。



BioStation CT



BioStudio-T

お問い合わせ先: ㈱ニコンインステック

お問い合わせ先

株式会社 **ニコンインステック**

バイオサイエンス営業本部  
140-0015 東京都品川西大井 1-6-3 (株式会社ニコン 大井ウエストビル 3F)  
Tel: 03-3773-8138

[www.microscope.healthcare.nikon.com/ja\\_JP/](http://www.microscope.healthcare.nikon.com/ja_JP/)



株式会社 **ニコン**

108-6290 東京都港区港南2-15-3 品川インターシティC棟  
[www.healthcare.nikon.com/ja/](http://www.healthcare.nikon.com/ja/)