



CL-Quantアドオンモジュール

「細胞占有面積率」を用いたHeLa細胞の細胞占有面積率の定量化

< BioStudio-mini 使用例 >

細胞占有面積率（コンフルエンス）は接着細胞の培養において増殖能の評価、継代タイミングの決定、あるいはアッセイに使うための細胞の回収タイミングの決定に必須の評価指標であるにもかかわらず、目視による定性的な評価が行われています。培養細胞の回収のタイミングが継代後の細胞の増殖能やアッセイの結果に影響することはよく知られており、再現性に影響します。70%サブコンフルエントな状態で細胞を回収と指示されていても、目視による判断では同じ作業でも再現性を担保することは困難と言えます。

画像解析ソフトウェアCL-Quantとアドオンモジュール「細胞占有面積率」を組み合わせることで、がん細胞株の細胞占有面積率を定量的にモニターできます。

ヒト子宮頸癌由来細胞株HeLaの増殖の評価を目的として、BioStudio-miniで取得した位相差画像から細胞占有面積率を測定しました。

観察装置

- BioStudio-mini BS-M04 (Nikon, MLA21000)

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

- 細胞占有面積率 MA-PC-UR-AR01 (Nikon, MLS30201)

細胞

- ヒト子宮頸癌由来細胞株HeLa RCB0007 (文部科学省/国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) ナショナルバイオリソースプロジェクト理研BRC)

試薬及び材料

- Minimum Essential Medium Eagle With Earle's salts, L-glutamine and sodium bicarbonate, liquid, sterile-filtered, suitable for cell culture (SIGMA, M4655)
- Fetal Bovine Serum, qualified, USDA-approved regions (Thermo Fisher Scientific, 10437028)
- DPBS, no calcium, no magnesium (Thermo Fisher Scientific, 14190144)
- Trypsin-EDTA (0.25%), phenol red (Thermo Fisher Scientific, 25200072)
- Corning® 25cm² Rectangular Canted Neck Cell Culture Flask with Vent Cap (Corning, 430639)

方法

HeLa細胞をDPBSで洗浄後、Trypsin-EDTAを用いて分散し、Minimum Essential Medium Eagle に10%のFetal Bovine Serumを加えた培地を使用して、25cm²フラスコに 1.8×10^4 細胞/cm²の細胞密度で播種しました。37°C、加湿した5% CO₂環境下で培養し、播種後1日目にBioStudio-miniで位相差画像を撮影しました。撮影条件は露光時間20ミリ秒とし、マニュアルフォーカスで撮影しました。撮影した画像をCL-Quantに取り込み、アドオンモジュール「細胞占有面積率」を用いて解析しました。CL-Quantによる自動計算で「CellRegion Area to Image Size Ratio」(視野全体に占める細胞存在領域の面積比)として得られた数値を細胞占有面積率としました。

結果

位相差画像をCL-Quantに取り込み、アドオンモジュール「細胞占有面積率」を用いて解析した細胞領域をマスク画像として図1に示しました。マスク画像を参照することで、細胞領域を正確に認識していることが確認できました。また、細胞占有面積率が自動で数値化され、70.7%であることがわかりました。

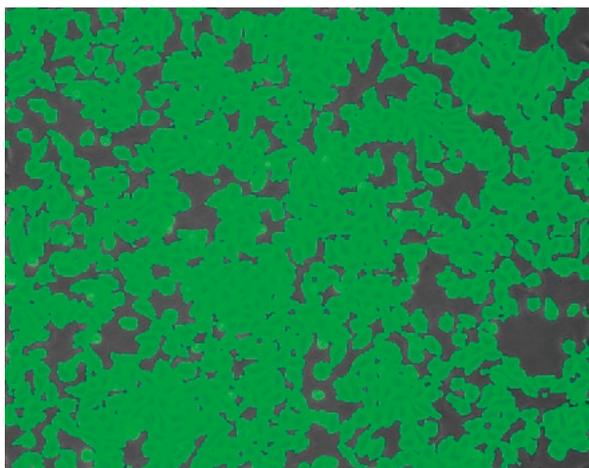
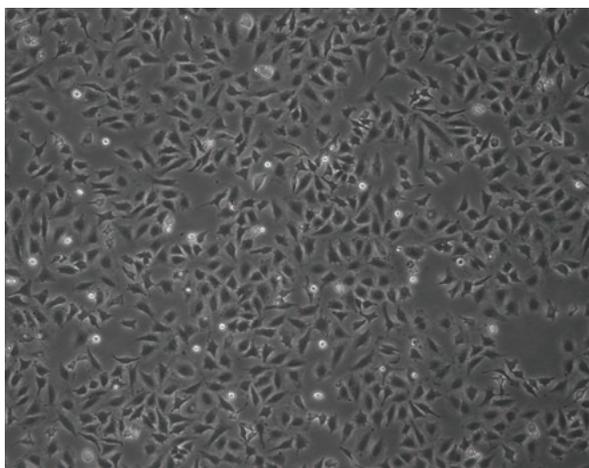


図1 HeLa細胞の細胞占有面積率の定量化

BioStudio-miniを用いてHeLa細胞の位相差画像を撮影し、細胞占有面積率を測定した。上：位相差画像 下：細胞領域を緑色マスクで表示した画像

まとめ

- HeLa細胞の位相差画像をCL-Quantで解析することにより、細胞占有面積率の自動算出が可能です。
- マスク画像を参照することで、細胞領域が正しく認識されているかどうかを簡単に確認できます。
- 培養の継続中に、培養状況をモニターしながら細胞占有面積率を評価し、アッセイや継代のタイミングを決定できます。
- CL-Quantシステムを導入することでコンフルエンスを定量化でき、従来の目視による判断を標準化することが可能です。

<観察装置のご紹介>

BioStudio-miniはコンパクトで持ち運び可能な、耐環境性に優れた位相差観察装置です。過酸化水素ガス/ホルマリン/UV照射による除染・滅菌に対応しています。感染性の疑われる試料を使用するアイソレーターやバイオセーフティキャビネットの内部でも、安心して使用することができます。



BioStudio-mini

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 東京都品川区西大井1-6-3(株式会社ニコン 大井ウエストビル3F)
Tel: (03)773-8138
https://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)
<https://www.nikon.co.jp/>