

高内涵成像分析技术在干细胞研究中的应用

前言

随着人类对生物学领域深入探索和科技创新的不断发展，目前越来越多的研究院所和生物制药公司将细胞水平的功能性研究、模型建立及药物筛选做为一个重要的研究/研发手段。而高内涵成像分析系统就为这种细胞水平的研究提供了集高分辨率、自动化、智能化及海量信息为一体的新的检测平台。干细胞（stem cells）是一类具有自我更新、高度增殖和多向分化潜能的细胞群体干细胞。正是干细胞的这种特性，为细胞生物学的研究提供了更有力的永生化的稳定细胞株。干细胞水平的研究比在普通的细胞株提供了更接近临床相关性的生理学信息；并且比原代细胞相比更容易获得，且具有更好的实验重复性。

干细胞的研究与其他细胞水平的研究有一些相似之处，但其关键的不同点在于在干细胞的研究过程中干细胞的分化。干细胞水平的实验比传统的单线性/单参数的实验具有更多的检测目标，包括其分化能力、分化过程、分化类型及不同类型的量化分析统计等。高内涵成像分析系统以其自身的高分辨率、多参数及智能化分析的特性，恰如其分的满足了干细胞研究的以上需求，而高内涵成像系统的自动化和高通量的特点又以海量的有效数据加速了该研究的过程。

利用高内涵成像分析系统可完成干细胞研究的自动化图像获取及多参数分析，目前常用的全能性干细胞分化研究主要有三类：造血细胞、神经细胞和诱导型多能干细胞（induced pluripotent stem cell, iPS）来源的心肌细胞（图 1）。

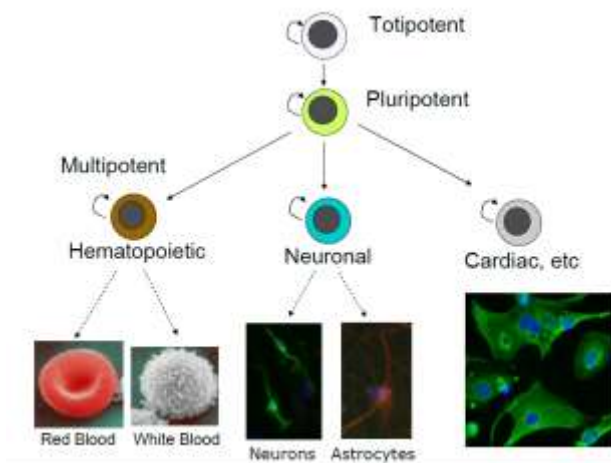


图 1：全能干细胞分化层次图

应用实例

1. 神经祖细胞向神经球分化研究

冷藏保存的神经祖细胞（StemCell Technologies, mouse Cells）培养在 6 孔板内，在培养基中加入不同的生长因子，培养 6 天后通过 ImageXpress Micro 对每孔内神经球进行无标记相差成像，并对的神经球的面积进行自动化定量分析。结果如下（图 2）：

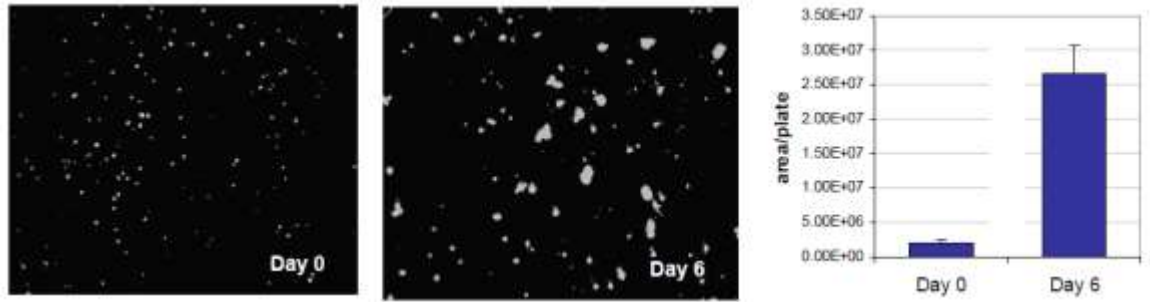


图 2：神经球无标记检测及分析（ImageXpress Micro 20X 相差物镜）

2. 神经干细胞向神经元及胶质细胞分化研究

神经干细胞在加有 EGF（表皮生长因子）和 bFGF（成纤维细胞生长因子）的培养基中培养 1-2 天，然后在分化培养基中培养 12-14 天。加入 EPO（促红细胞生成素）后，检测为神经球向神经元及胶质细胞的分化情况。ImageXpress Micro 进行自动化图像获取，运用细胞分类（Cell Scoring）模块进行神经元/胶质细胞阳性率分析，运用神经生长（Neurite Outgrowth）模块进行神经元突触长度及数量分析。结果如下（图 3）：

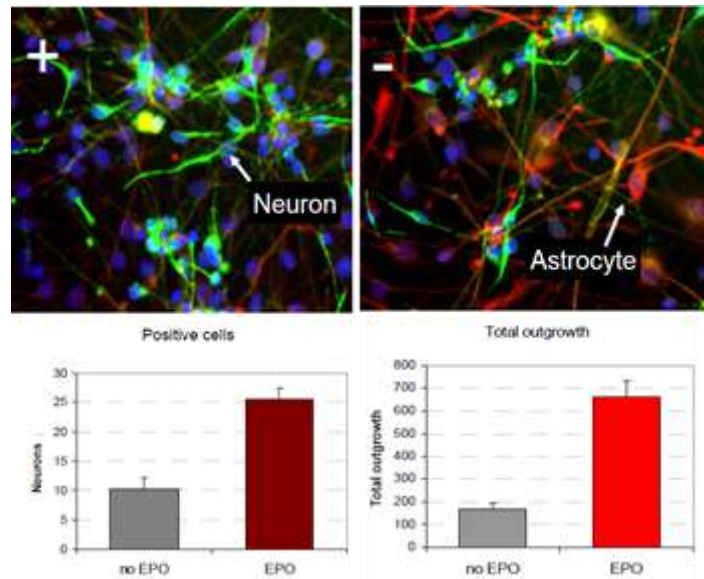


图 3：神经干细胞分化检测及分析。图（上）表示加入（左）及不加（右）神经细胞的分化图片；图（下）表示不同条件下神经元细胞的阳性率（左）及神经元突出的长度（右）。

（ImageXpress Micro 20X 物镜）

3. 造血祖细胞向骨髓细胞及血细胞分化研究

人源 CD34+造血祖细胞培养在 96 孔板中，加入多种不同的造血细胞因子组合（SCF+Flk3+TPO/SCF+IL-3+GM-SCF）后，通过检测 CD45 和 CD15 两种标记物在细胞内的表达量，统计分析不同造血细胞因子组合对造血祖细胞的自我更新能力及骨髓细胞分化能力的变化。结果如下（图 4）：

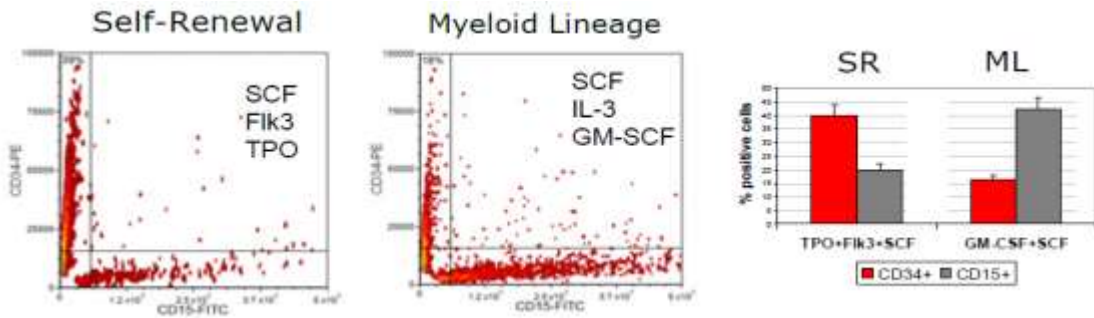


图 4: 检测细胞内 CD45 和 CD15 的阳性率, 评价造血祖细胞在不同条件下的自我更新能力及定向分化能力

4. 诱导型多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPS) 向心肌细胞分化研究

iPS 细胞 (Celprogen) 在专用培养基中培养 3-7 天, 同时检测 7 种不同标志物的表达量, 以判断心肌细胞分化及成熟的状态。下图 (图 5) 中显示 Oct4 (干细胞标志物) 和 α -Actinin (心肌细胞标志物) 在细胞内的表达情况:

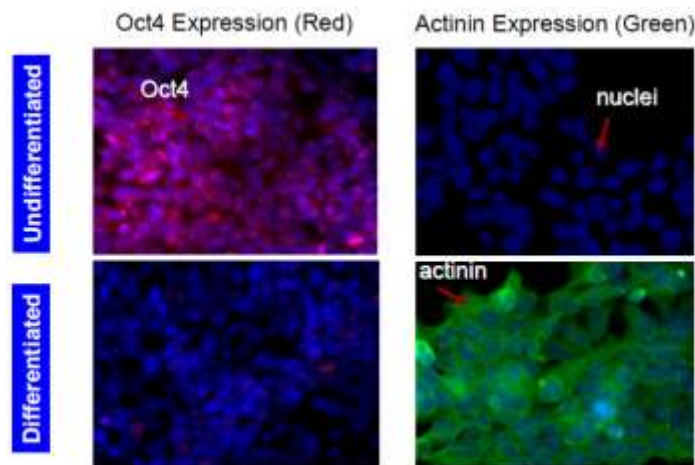


图 5: iPS 细胞分化情况 (ImageXpress Micro 20X 物镜)

5. iPS 细胞来源的心肌细胞跳动实验

临床前安全性评价是药物研发过程中非常重要的环节, 早期的心脏毒理学研究将会大大降低在进入临床研究阶段后因药物毒性带来的投入风险。iPS 细胞来源的心肌细胞跳动实验为药物心脏毒性评价提供了一个高效的体外细胞水平的检测方法。心脏跳动可通过传统电生理的方法来检测, 用高内涵成像分析系统来进行检测及分析是一个全新的挑战。Molecular Devices 公司最近一代的高内涵成像分析系统 ImageXpress Micro XL 以其最新一代的检测器 sCMOS (采样频率可达 100pfs) 和自定义模块分析功能, 完全可出色完成心肌细胞跳动实验的快速检测及分析要求。

iPS 细胞来源的心肌细胞单层培养在 96 或 384 孔板中, 心肌细胞会自发跳动同步收缩。加入 Calcein-AM 染料孵育 10min 后, 撤掉培养基, 再加入不同浓度的化合物, 置于

ImageXpress Micro XL 活细胞培养装置中，检测心肌细胞跳动频率的变化。结果如下（图 6）：

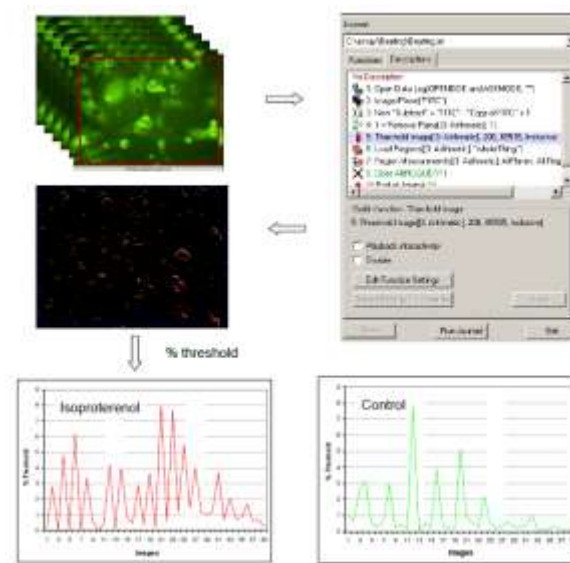


图 6: iPS 细胞来源的心肌细胞跳动实验（ImageXpress Micro XL 20X 物镜）

总结

干细胞研究作为一种复杂的细胞水平检测模型，需对干细胞的生长、增殖、分化能力、分化类型及状态等多种参数进行检测及定量分析，为疾病治疗研究及药物研发提供了更有效的研究手段。Molecular Devices 公司的 ImageXpress 高内涵系统提供了集高分辨率、自动化、智能化及海量信息为一体高内涵成像分析系统完全解决方案，可满足以上研究需求（图 7）。

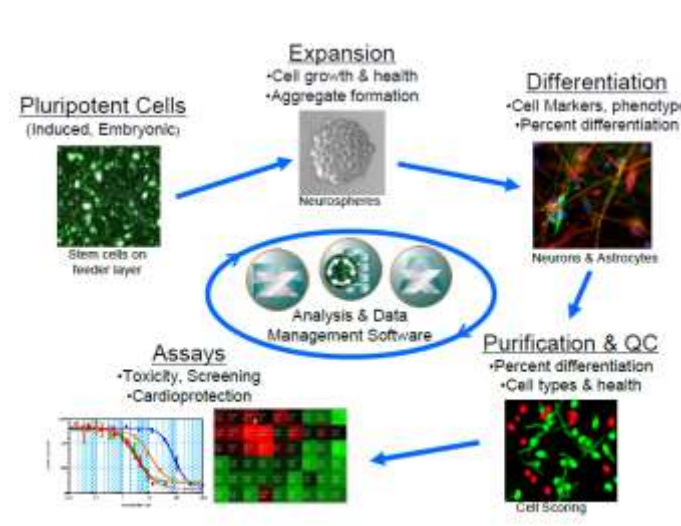


图 7: Molecular Devices 公司针对干细胞研究的高内涵成像系统完全解决方案