

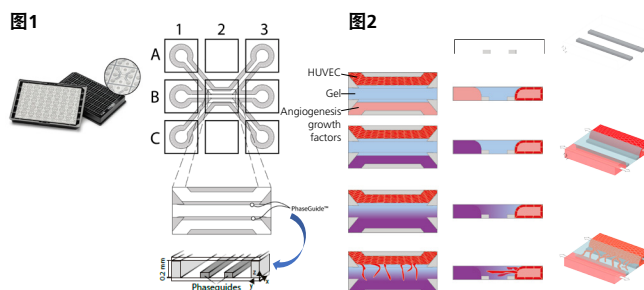
器官芯片

使用 3D 模型对血管新生诱导进行延时成像分析

众所周知，血管的稳态功能下降关系到多种疾病和病理状况的发生和发展，如癌症、动脉硬化、慢性炎症和缺血。在此背景下，了解微血管损伤和血管新生的详细机制是非常重要的。本应用手册将介绍一个3D血管新生结构（利用体外灌注血管生成模型）的详细观察和分析实例，该实验借用于MIMETAS公司的3D组织培养平台OrganoPlate®，并使用Nikon激光共聚焦显微镜AX/AX R系统采集图像。

概要

3D组织培养平台OrganoPlate®（制造商：MIMETAS）是一个基于微流控技术，实现具有管状结构的组织共培养，再现接近生物体内微环境的3D器官芯片平台。OrganoPlate® 3-lane 40，由40个组织培养芯片组成。每个芯片含一个凝胶导入通道和两个灌注通道如注入其他种类的细胞和培养基（图1）。将凝胶注入中央通道后，HUVEC（人脐静脉内皮细胞）被接种在上部通道，并在使用了OrganoFlow®灌流系统在CO₂培养箱中进行培养，以形成具有血管管状结构的血管组织。然后从下部通道加入促进血管生成的因子，并观察血管随时间的成长变化（图2）。



<https://www.mimetas.com/en/organoplate-3-lane-40/>

实验结果

为了观察血管尖端的形态及其组成细胞的定位，对肌动蛋白和CD31（血管内皮细胞的标记物）进行了染色。通过适用于培养基或凝胶中的样品的水浸式物镜来获取组织的3D图像，图像明亮清晰，可以检测出肌动蛋白和CD31定位的差异（图3b）。这表明，该方法通过使用符合观察目的的物镜，以研究参与血管生成的各种细胞，如尖端细胞（tip cell）、茎细胞（stalk cell）和方阵细胞（phalanx cell）。

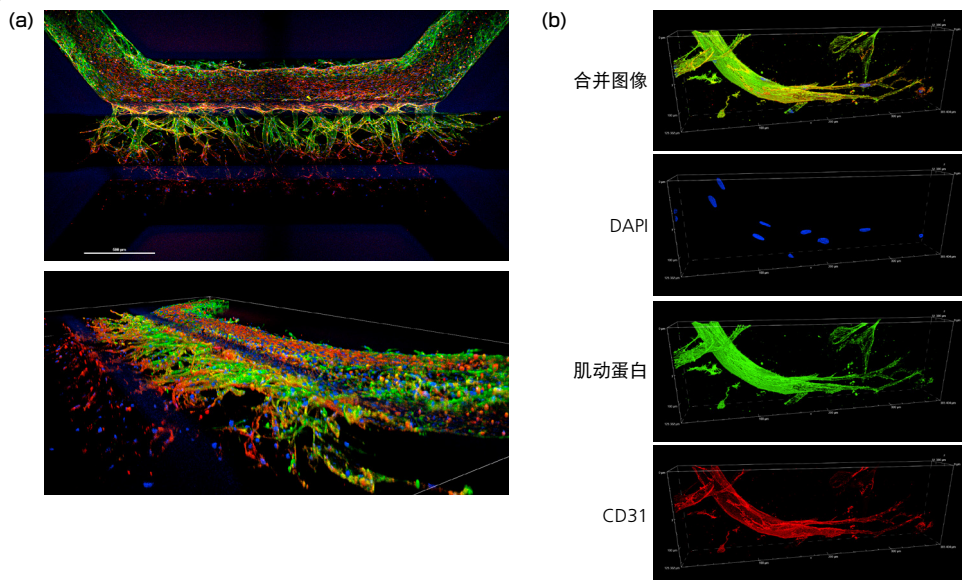
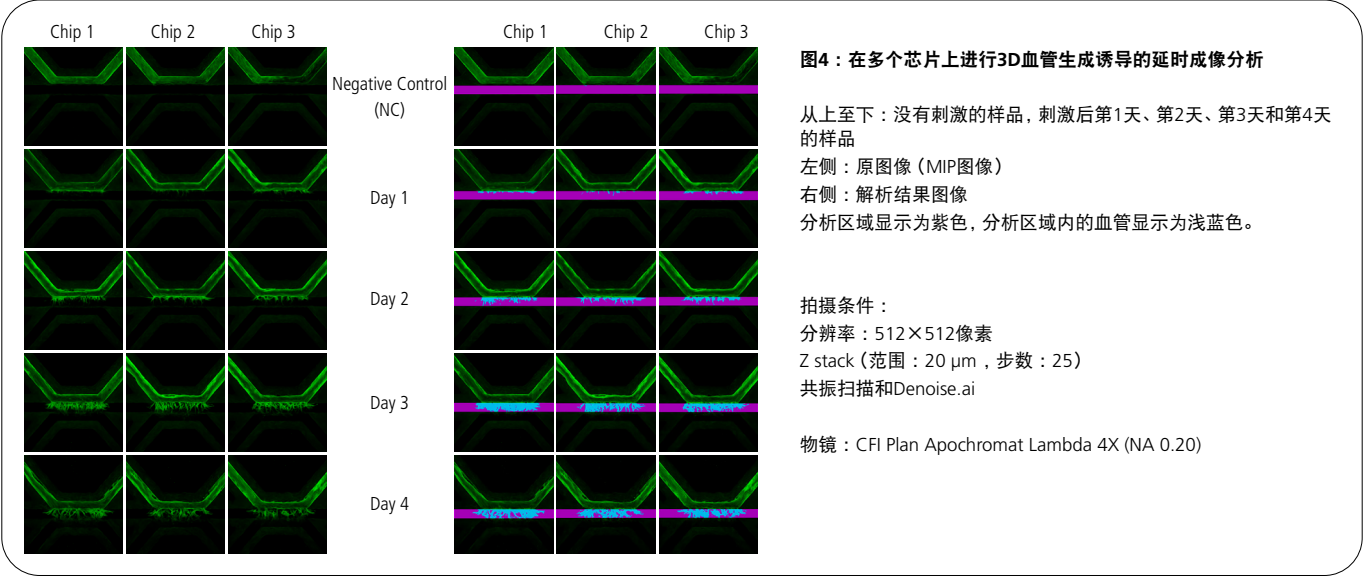


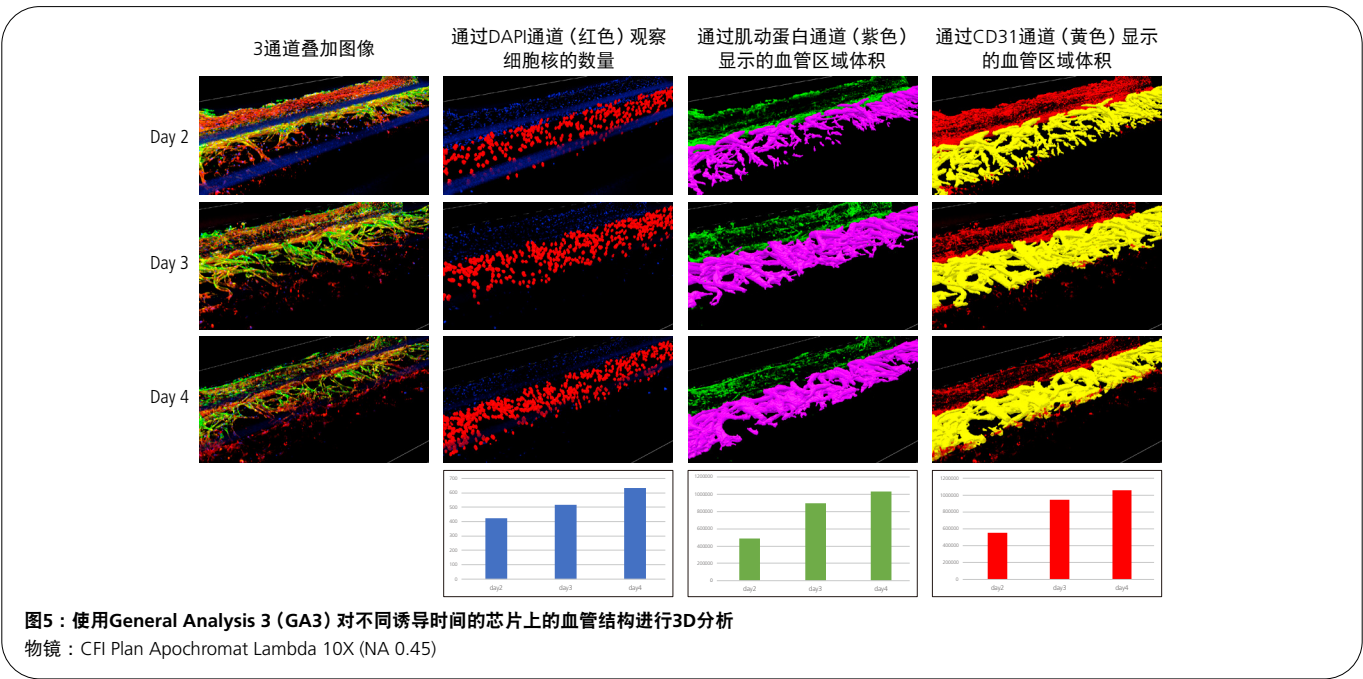
图3：在OrganoPlate® 3-lane 40上构建的血管的3D结构

(a) 用CFI Plan Apochromat Lambda 10X (NA 0.45)物镜获取的芯片的完整血管图像
(b) 用CFI Apochromat Lambda S 40XC水镜 (NA 1.25)物镜获取的一个血管的图像

高通量对于逐个芯片检测是否存在血管生成非常重要。使用4倍物镜可以通过一次拍摄来观察整个芯片(图4)。通过使用显微镜的AI模块Denoise.ai,可以在维持共振扫描的高速性的同时,获取低噪声的XY-Z图像,从而通过图像分析实现定量评估。



此外,Nikon NIS-Elements 软件可以对2D图像和3D图像进行定量分析。在图5中,使用细胞核的数量、肌动蛋白区域的体积和CD31区域的体积来分析凝胶区域的血管生成的三维分布。



总结

Nikon 激光共聚焦显微镜AX/AX R系统成像视野可达25mm（对角线），可以通过一次拍摄获取大面积的图像。同时，使用共振高速扫描仪和Denoise.ai,也可减少获取多个芯片图像的时间（图4）。并且，经证实，使用适当的物镜可以详细观察单个血管的形态和其组成细胞的3D排列（图3b）。此外，图像分析工具GA3能够对血管生成进行定量评估（图5），这些结果表明，该系统可应用于要求有高通量的、3D血管生成模型的毒性和药物疗效评估。

3D细胞培养平台

OrganoPlate® 3-lane 40

(Product no. 4004-400-B：MIMETAS)

OrganoPlate支持共培养体系中不同种类细胞之间的分层和保留细胞件凝胶基质的结构，同时无需加入任何人工膜，其更合理的模拟人体组织环境。OrganoPlate®3-lane 40具有40个独立的组织培养芯片。

每个芯片单元支持中间通道的凝胶内培养的同时也满足其他上下2个通道的灌注培养，进而灵活的构建含小管管状组织的共培养模型。

化合物和刺激物可以直接结合培养基从管状组织的顶端和基底端添加，同时也满足灌注需求并支持各种屏障完整性、运输和迁移试验。

OrganoPlate®3-lane 40的特点：

- 40个独立的组织培养芯片

- 每个芯片有3个相邻通道

- 灵活投药于管状组织腔体的顶端和基底端

MIMETAS官方主页

产品及服务咨询
销售经理微信号

产品信息

共聚焦显微镜AX/AX R

AX/AX R的图像采集分辨率可达8K×8K, 是以往型号的4倍。大视野25mm（对角线）允许一次捕获大面积的图像，减少光毒性。

AX R的共振扫描仪分辨率可达2K×2K, 可以每秒720帧（2048×16像素）

高速采集和捕捉活样本的动态变化和精细结构。

AX/AX R产品页

尼康仪器生物显微镜公众号