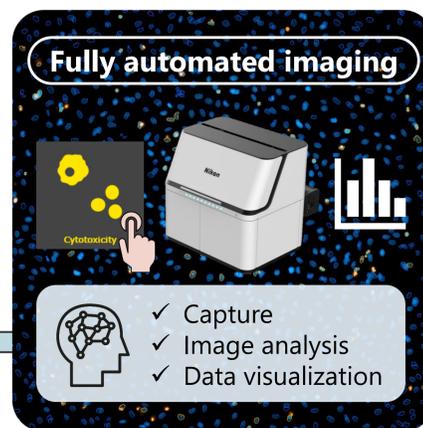
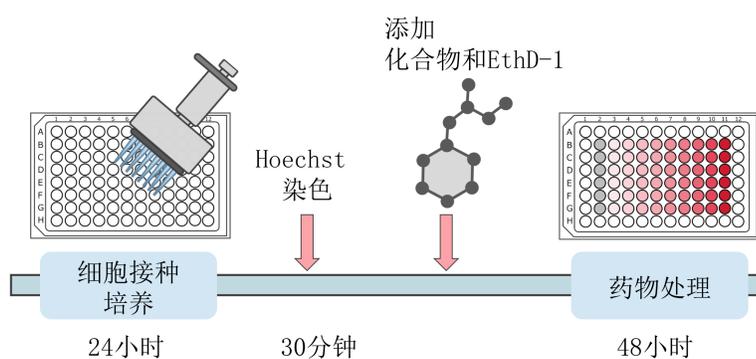


使用AI-Driven全自动智能成像系统ECLIPSE Ji 进行的细胞毒性分析

ECLIPSE Ji搭载了Smart Experiment，与显微图像处理软件NIS-Elements SE结合使用，从图像获取到分析及图表创建可自动执行。训练有素的Artificial Intelligence (AI)和预定义成像流程将自动优化图像获取和分析条件的设置，因此通过简单的操作即可获得可视化数据和EC₅₀信息。细胞毒性分析是各种细胞生物学研究中使用的通用分析方法，包括化合物和分子靶向药的药理作用、细胞培养产品的开发以及生命现象的阐明等。本应用指南中，介绍使用Smart Experiment的Cytotoxicity模块，使星形孢菌素剂量依赖性细胞死亡诱导可视化，计算出EC₅₀以量化药物效果的示例。

关键词：细胞毒性、Live / Dead、细胞存活率、自动设置、EC₅₀、剂量反应曲线

实验概要



Key features

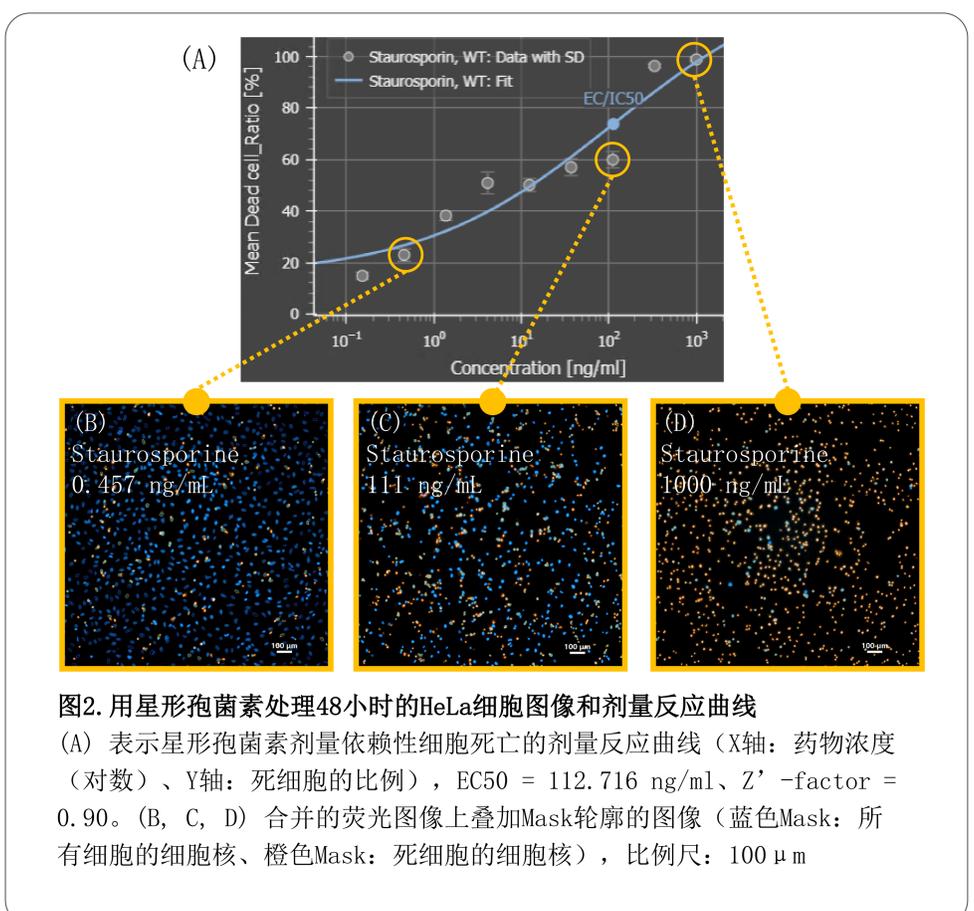
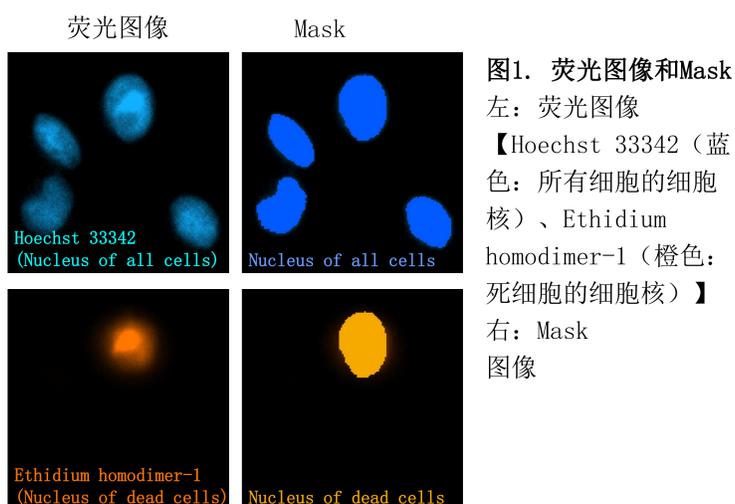
- ✓ 从图像的获取到分析及图表创建可自动执行
- ✓ 不需要繁琐的AF设置
- ✓ 测量活细胞和死细胞的比例
- ✓ 轻松量化药物反应
- ✓ 自动创建剂量反应曲线
- ✓ 自动计算EC₅₀/IC₅₀
- ✓ 自动计算Z'-factor

(1) 将HeLa细胞接种到96孔板中，培养24小时。(2) 更换为含Hoechst 33342的培养基，培养30分钟。(3) 用含有EthD-1的培养基将受试物星形孢菌素调整为10种梯度浓度，添加到各孔中，处理细胞48小时。(4) 不更换培养基，将孔板放置到ECLIPSE Ji中，选择Cytotoxicity图标，自动进行图像获取和分析。

结果

检测区域	荧光标记	Ex/Em (nm)
所有细胞的细胞核	Hoechst 33342	352/461
死细胞的细胞核	Ethidium homodimer-1	528/617
倍率	视场 (FOV)	
10X	1.76 × 1.76 mm	

表1. 检测区域、荧光标记和图像获取条件



结果

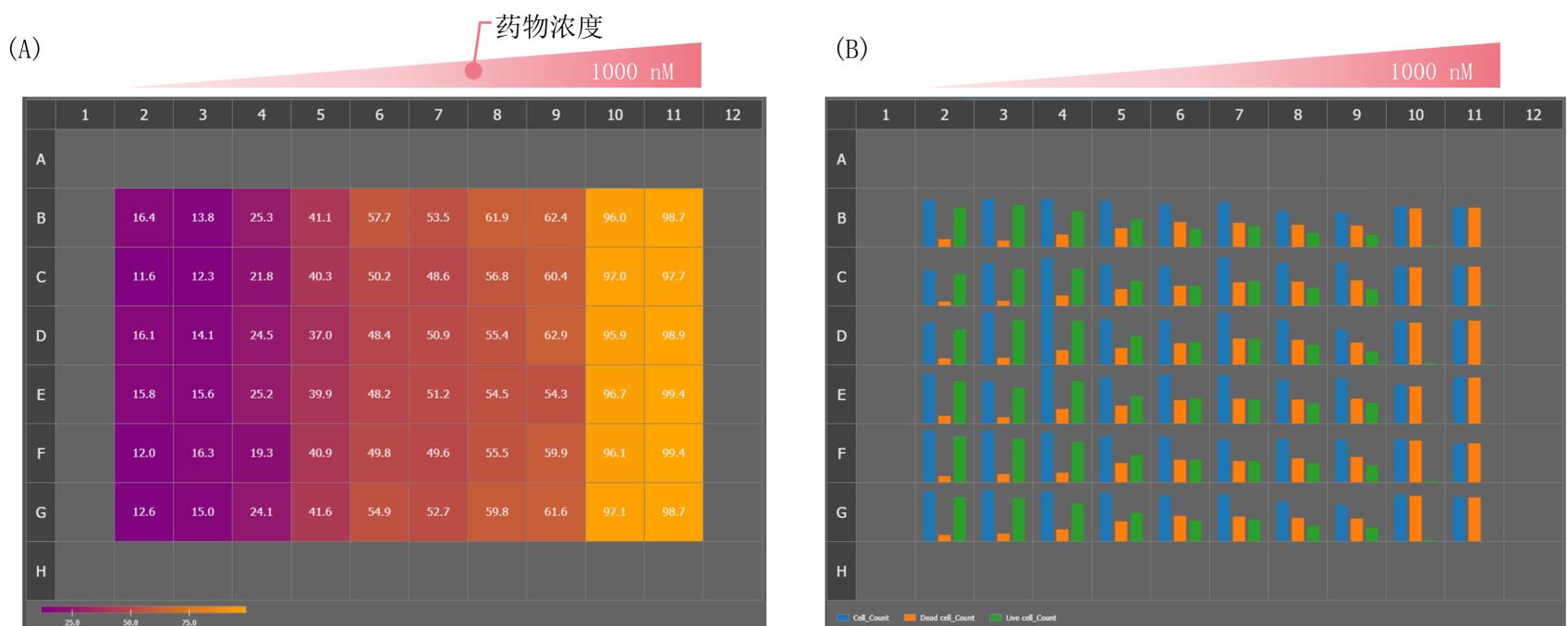
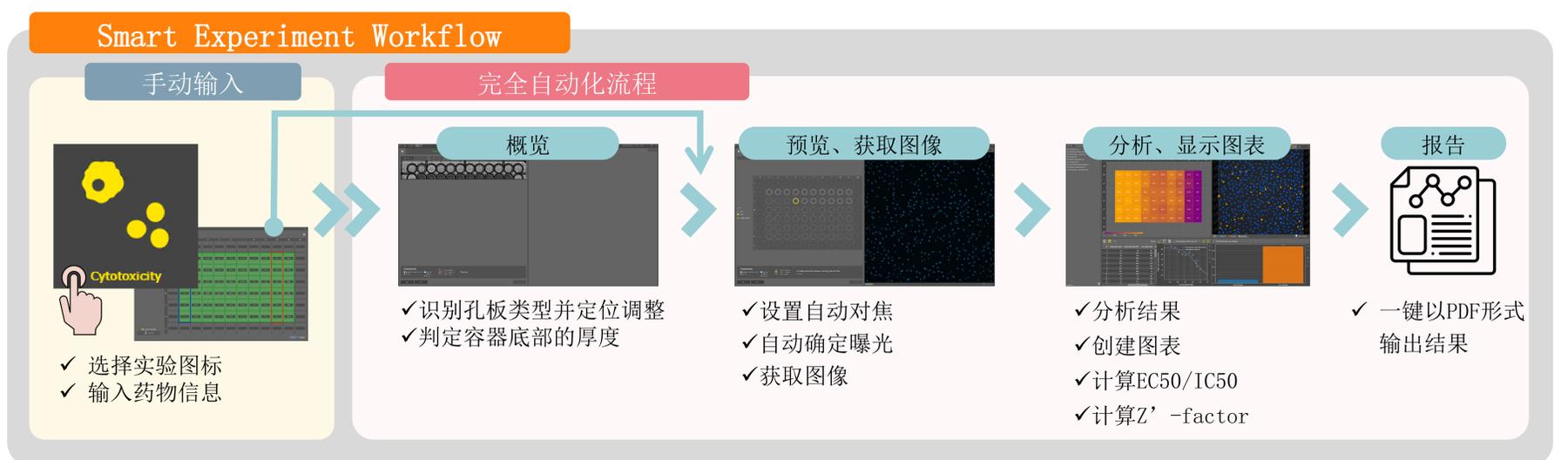
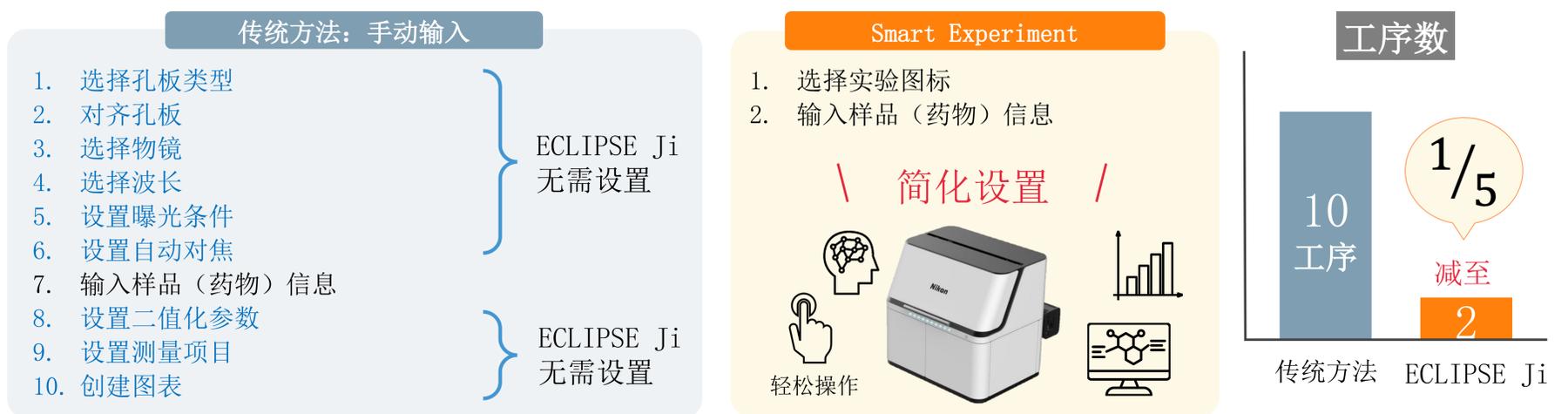


图3. 分析结果

(A) 显示死细胞数比例的热图。

(B) 通过按孔分别显示细胞数的条形图（蓝色：所有细胞数、橙色：死细胞数、绿色：活细胞数）、孔板图视图显示，可直观地确认各孔中的药物反应。

通过Smart Experiment实现实验自动化，减少工序数



总结

- ✓ 证实了星形孢菌素剂量依赖性死细胞的比例增加。
- ✓ 可测量活细胞和死细胞的比例，自动创建剂量反应曲线，计算出EC50。
- ✓ Smart Experiment从图像的获取到分析及图表创建可全自动执行。
- ✓ 操作简单，将孔板放置到ECLIPSE Ji中，选择Cytotoxicity assay图标，输入样品信息即可。在本次实验条件下，从开始拍摄到图表显示用时约20分钟。

- ✓ 即使是厚底塑料多孔板，CellFinder.ai也可自动对焦，因此无需进行复杂的自动对焦设置。
- ✓ 繁琐的设置工作交给AI，研究人员可以专注于更具有创造性的研究活动。

样品制备protocol

将HeLa细胞按照 6×10^3 cells/well的密度接种到96孔板中，在37°C、5% CO₂的培养箱内培养24小时。更换为含有Hoechst 33342 (2 μg/ml) 的培养基，在37°C、5% CO₂的培养箱内染色30分钟。用含有4 μM EthD-1的FluoroBright DMEM将星形孢菌素稀释为0 nM、0.152 nM、0.457 nM、1.41 nM、4.11 nM、12.3 nM、37 nM、111 nM、333 nM、1000 nM的浓度，分别添加到6个孔中。在37°C、5% CO₂的培养箱内用星形孢菌素处理细胞48小时。为了防止死细胞脱落，不更换培养基，将孔板安装到ECLIPSE Ji中，进行图像获取和分析。

材料和试剂

细胞培养																																																																																																																						
细胞	HeLa (RIKEN RCB0007)																																																																																																																					
增殖培养基	MEM + 10%FBS + 1%Pc/Sm																																																																																																																					
培养容器	Falcon® 96 well Clear Flat Bottom TC-treated Culture Microplate (Corning, 353072)																																																																																																																					
受试物																																																																																																																						
化合物	Staurosporin																																																																																																																					
试验浓度	Negative control: 0 nM, Positive control: 1000 nM To make a dose-response curve, design required concentration points as follows: (0) 0 nM, (1) 0.152 nM, (2) 0.457 nM, (3) 1.41 nM, (4) 4.11 nM, (5) 12.3 nM, (6) 37 nM, (7) 111 nM, (8) 333 nM, (9) 1000 nM																																																																																																																					
孔板图示例	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>8</th> <th>9</th> <th>10</th> <th>11</th> <th>12</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <th>A</th> <td>b</td> </tr> <tr> <th>B</th> <td>b</td> <td>(0)</td> <td>(1)</td> <td>(2)</td> <td>(3)</td> <td>(4)</td> <td>(5)</td> <td>(6)</td> <td>(7)</td> <td>(8)</td> <td>(9)</td> <td>b</td> </tr> <tr> <th>C</th> <td>b</td> <td>(0)</td> <td>(1)</td> <td>(2)</td> <td>(3)</td> <td>(4)</td> <td>(5)</td> <td>(6)</td> <td>(7)</td> <td>(8)</td> <td>(9)</td> <td>b</td> </tr> <tr> <th>D</th> <td>b</td> <td>(0)</td> <td>(1)</td> <td>(2)</td> <td>(3)</td> <td>(4)</td> <td>(5)</td> <td>(6)</td> <td>(7)</td> <td>(8)</td> <td>(9)</td> <td>b</td> </tr> <tr> <th>E</th> <td>b</td> <td>(0)</td> <td>(1)</td> <td>(2)</td> <td>(3)</td> <td>(4)</td> <td>(5)</td> <td>(6)</td> <td>(7)</td> <td>(8)</td> <td>(9)</td> <td>b</td> </tr> <tr> <th>F</th> <td>b</td> <td>(0)</td> <td>(1)</td> <td>(2)</td> <td>(3)</td> <td>(4)</td> <td>(5)</td> <td>(6)</td> <td>(7)</td> <td>(8)</td> <td>(9)</td> <td>b</td> </tr> <tr> <th>G</th> <td>b</td> <td>(0)</td> <td>(1)</td> <td>(2)</td> <td>(3)</td> <td>(4)</td> <td>(5)</td> <td>(6)</td> <td>(7)</td> <td>(8)</td> <td>(9)</td> <td>b</td> </tr> <tr> <th>H</th> <td>b</td> </tr> </tbody> </table> <p>“b” : blank well</p>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	A	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	B	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b	C	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b	D	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b	E	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b	F	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b	G	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b	H	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																																																																																										
A	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b																																																																																																										
B	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b																																																																																																										
C	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b																																																																																																										
D	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b																																																																																																										
E	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b																																																																																																										
F	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b																																																																																																										
G	b	(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	b																																																																																																										
H	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b																																																																																																										

Tips

Cytotoxicity assay是一种测量活细胞和死细胞比例的分析方法。一般而言，DAPI无法对活细胞核进行染色。因此不要用DAPI，请使用Hoechst 33342对所有细胞的细胞核进行染色。此外，药物处理后如果实施清洗，死细胞会从孔板底面脱落，量化分析的精度将降低。

因此，药物处理后，请直接获取图像，勿清洗或固定细胞。

试剂		
产品名称	产品编号	厂商名称
MEM (Minimum Essential Medium)	11095080	Thermo Fisher Scientific
FluoroBrite™ DMEM	A1896701	Thermo Fisher Scientific
Staurosporine from Streptomyces sp.	S5921	Sigma-Aldrich
-Cellstain®- Hoechst 33342 solution	H342	Dojindo Laboratories
LIVE/DEAD™ Viability/Cytotoxicity Kit, Ethidium homodimer-1 (EthD-1)	L3224	Thermo Fisher Scientific
Dimethyl sulfoxide (DMSO)	276855	Sigma-Aldrich

□ 适用容器*

- 24、48、96孔板

* 适用玻璃底及聚苯乙烯底的孔板。优先考虑细胞在底面的附着而非图像质量时，请使用聚苯乙烯底的孔板。

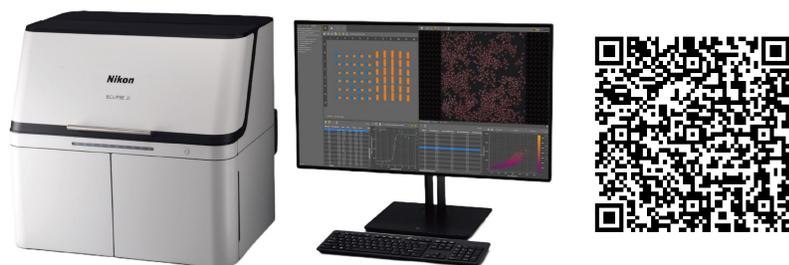
参考文献

Chae, HJ, *et al.*, Molecular mechanism of staurosporine-induced apoptosis in osteoblasts. *Pharmacol Res* 42 (4):373-81 (2000).

产品信息

Smart Imaging System ECLIPSE Ji

ECLIPSE Ji是AI-Driven全自动成像系统。与NIS-Elements SE结合使用，可使图像获取、分析及图表创建无缝自动执行。搭载CellFinder.ai，在需要人工进行精准判断的自动对焦设置中，由AI找到最佳焦平面。实装了学习多种图像获取以及分析流程方法的AI，由此大幅度削减设置和优化的工序数，任何人都能轻松获得结果。



显微图像处理软件NIS-Elements SE SmartExperiment Basic Set Cytotoxicity

- ✓ 从图像的获取到分析及图表显示可全自动执行。
- ✓ 可分析活细胞和死细胞的比例。
- ✓ 可一键创建报告，并以PDF形式输出图像、分析结果、剂量反应曲线、EC50 /IC50计算结果。
- ✓ 使细胞成像和分析更轻松、更快捷。