



NK細胞の Killing/ADCC Assay

はじめに

近年、腫瘍やウイルス感染細胞の除去や抗体依存性細胞傷害(ADCC)に主要な役割を果たすNK細胞が注目されています。NK細胞の細胞傷害活性やADCC活性を測定するKilling AssayやADCC Assayは蛍光染色試薬などを利用しますが、作業コストの増大や細胞ダメージ等の問題があります。本実験では、Cell3iMager NXとディープラーニング機能を使用することで、乳がん細胞に対するNK細胞のラベルフリー Killing AssayとADCC Assayを行いました。

Materials&Methods

使用製品

Cell3iMager NX

サンプルおよび試薬

プライマリーヒトNK細胞(日本バイオセラピー研究所)

MCF7細胞株(RIKEN)

BT474細胞株(ATCC)

NK細胞培養培地(日本バイオセラピー研究所)

DMEM(ナカライテスク)

RPMI(ナカライテスク)

FBS(Biosera)

96ウェルプレートF底(SUMILON)

96ウェルプレートU底(SUMILON)

CellTrace Far Red(Thermo)

Trastuzumab(抗HER-2抗体)

方法

CellTrace Far Redで蛍光染色したHER-2ネガティブMCF7細胞とHER-2ポジティブBT474細胞を2D/3D培養法で72時間培養した後、NK細胞と共培養し、Trastuzumabを添加しました、Cell3iMager NXで96時間後に撮像することで、Killing AssayとADCC Assayを行いました。

次に、Deep Learning機能を用いて、明視野画像中のがん細胞領域をラベリングし教師画像を作成しました。明視野画像のラベリング時に蛍光画像を参照することで、明視野画像中のがん細胞とNK細胞の区別が容易になります(図1)。

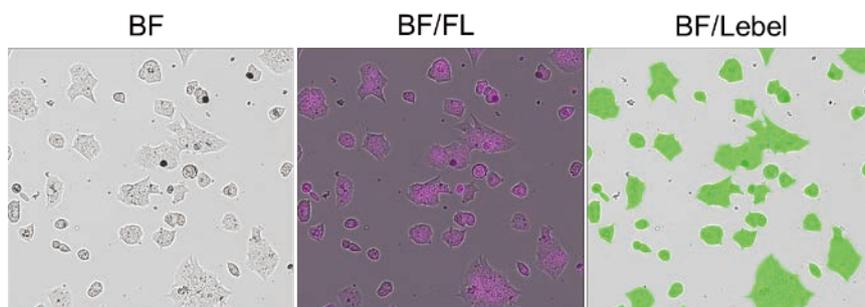


図1：教師画像の作成

作成した教師データセット(明視野画像と教師画像)を用いて3時間の学習を行うことでディープラーニングのモデルを作成しました。未知の画像に対してモデルを適用することで、明視野画像中のがん細胞をセグメンテーションし、特徴量を計測しました。

結果

2D Killing/ADCC Assay

明視野画像中のがん細胞領域をセグメンテーションし面積を定量したところ、NK細胞数依存的に面積が減少していることが分かりました。TrastuzumabはHER-2ネガティブMCF7細胞には効果がない一方(図2、図3)、HER-2ポジティブBT474細胞の面積を減少させ、NK細胞の傷害性を増強することが分かりました。(図4、図5)。

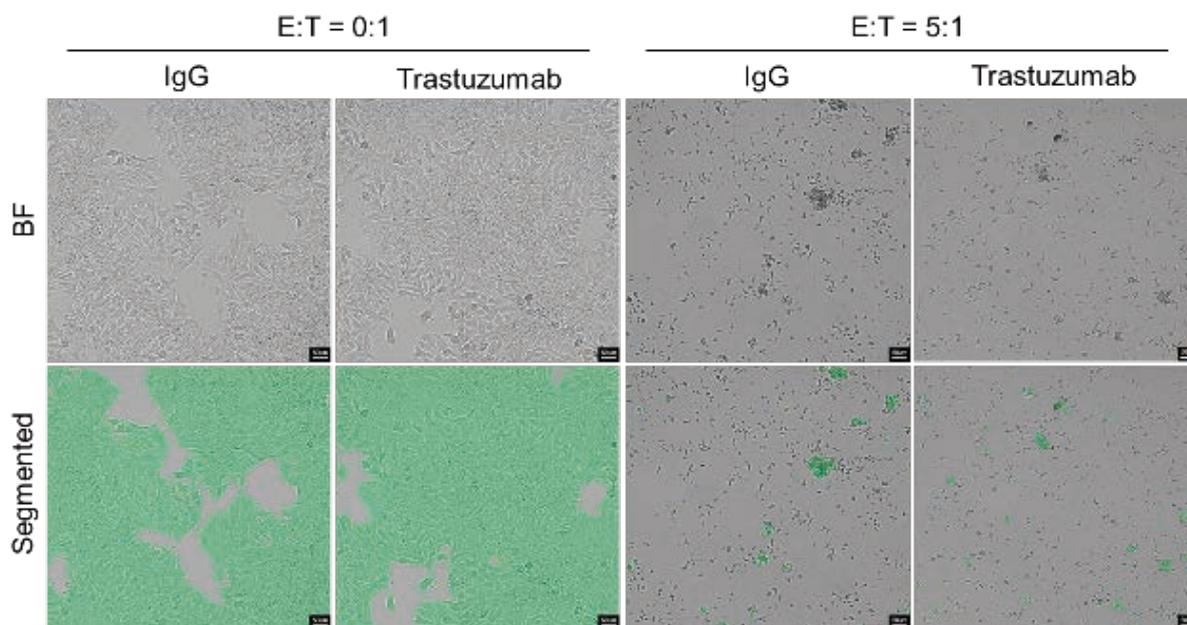


図2 : MCF7/NK細胞 (2D) の画像

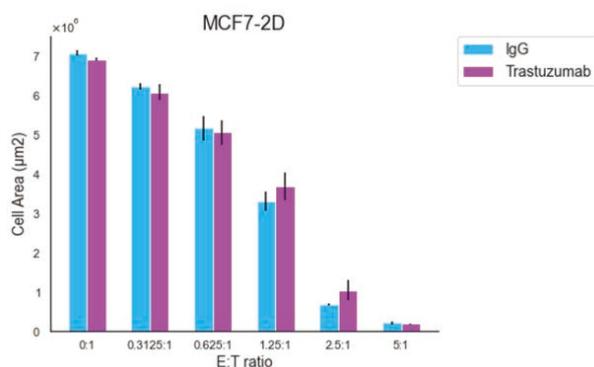


図3 : MCF7/NK細胞 (2D) の定量結果

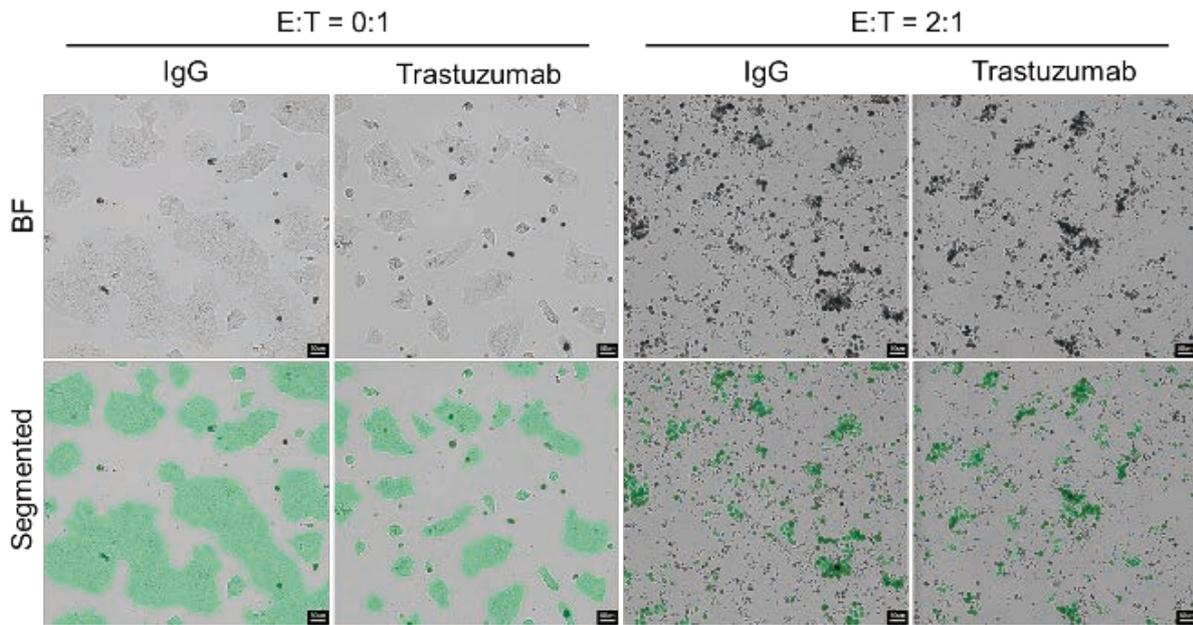


図4 : BT474/NK細胞 (2D) の画像

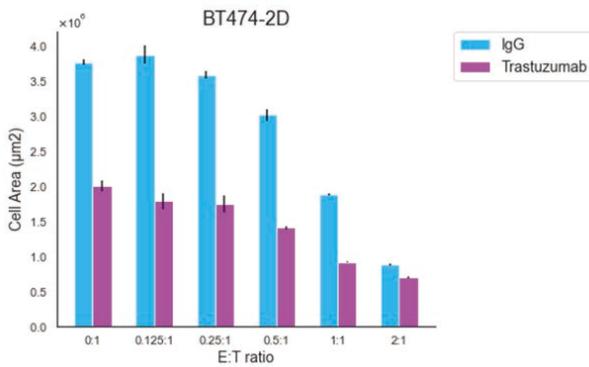


図5 : BT474/NK細胞 (2D) の定量結果

3D Killing/ADCC Assay

明視野画像中のがんスフェロイド領域をセグメンテーションし面積を定量したところ、NK細胞数依存的に面積が減少していることが分かりました。TrastuzumabはHER-2ネガティブなMCF7スフェロイドには効果がない一方(図6、図7)、HER-2ポジティブなBT474スフェロイドの面積を減少させ、NK細胞の傷害性を増強することが分かりました。(図8、図9)。

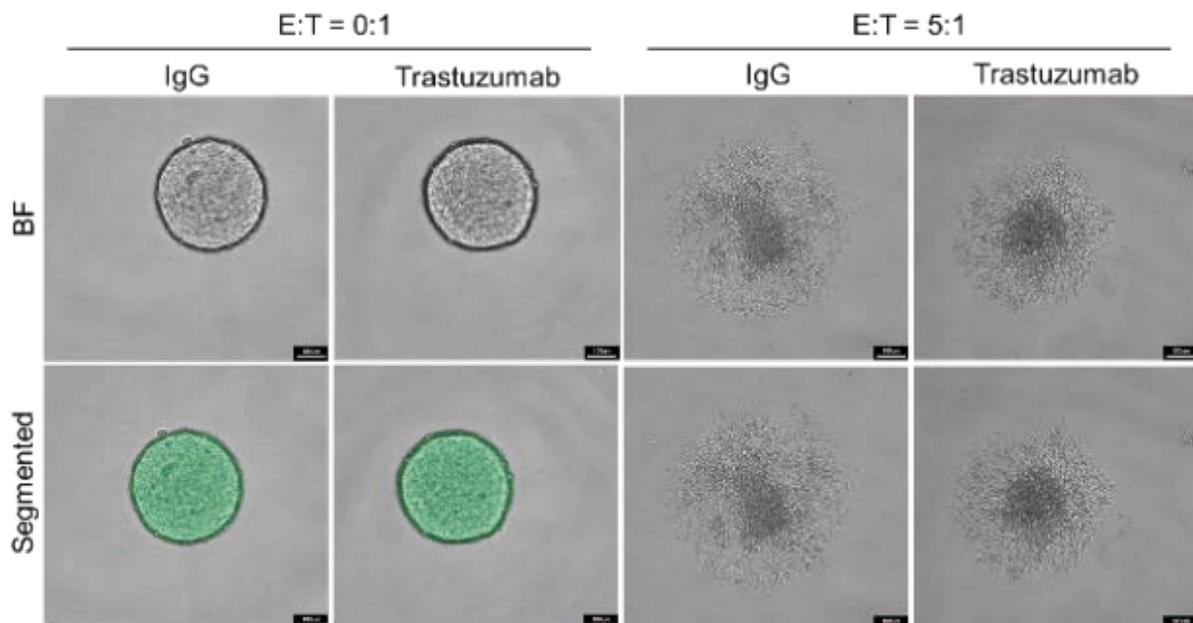


図6 : MCF7/NK細胞 (3D) の画像

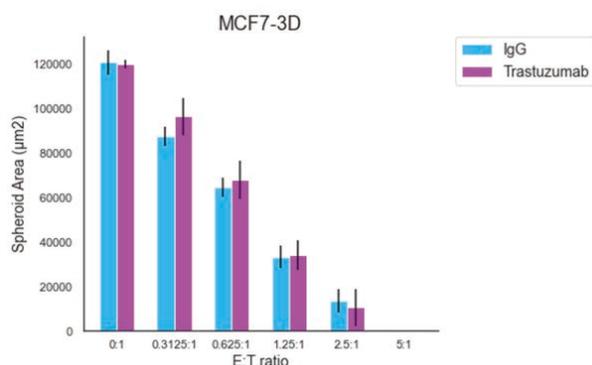


図7 : MCF7/NK細胞 (3D) の定量結果

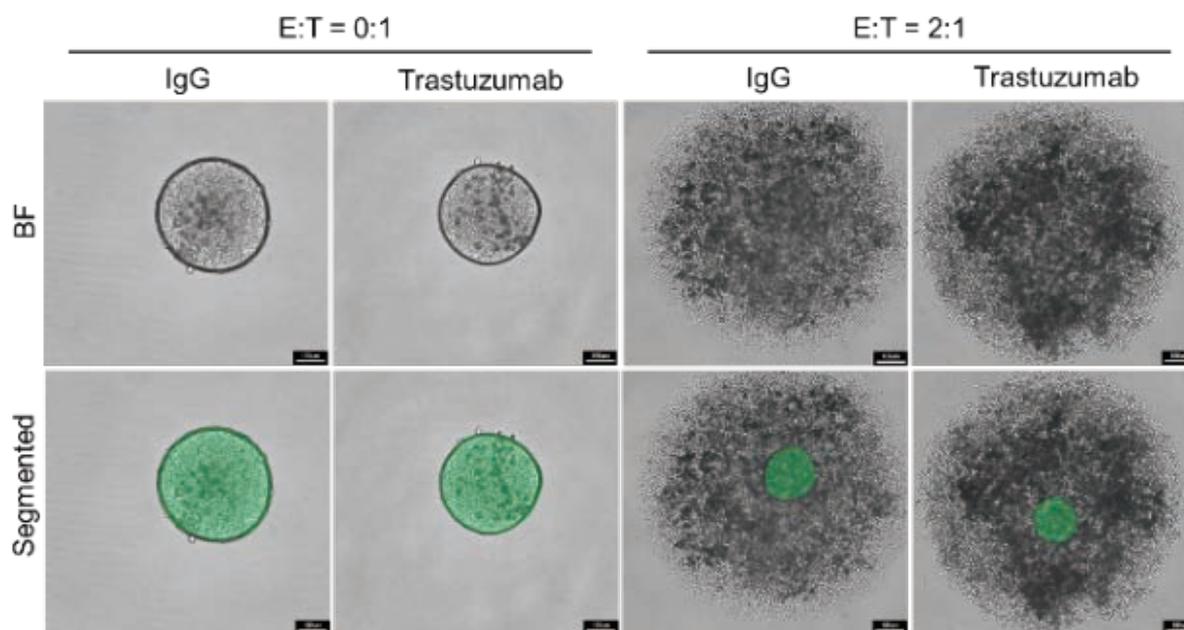


図8 : BT474/NK細胞 (3D) の画像

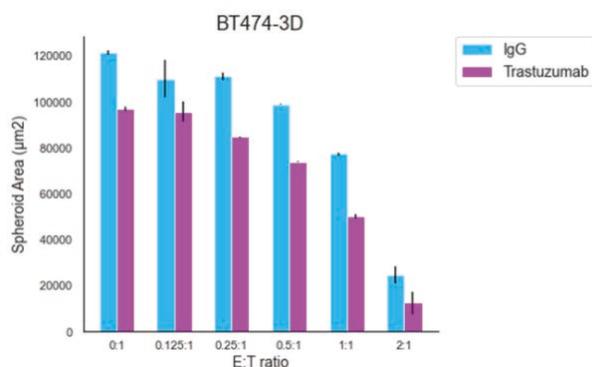


図9 : BT474/NK細胞 (3D) の定量結果

まとめ

Cell3iMager NXを用いることで2D/3D培養したがん細胞とNK細胞の明視野/蛍光イメージングが可能です。また、ディープラーニングを用いることで明視野画像中のがん細胞のみをセグメンテーションすることができるため、画像処理や機械学習に詳しくないバイオ系研究者の方であっても、簡単にラベルフリーでKilling AssayやADCC Assay解析を行うことができます。

株式会社 SCREENホールディングス

京都(本社) / 〒602-8585 京都市上京区堀川通寺之内上る四丁目天神北町1番地の1

ライフサイエンス事業室

京都(洛西) / 〒612-88486 京都市伏見区羽東師古川町322
Tel:075-931-7824 Fax:075-931-7826

東京 / 〒135-0044 東京都江東区越中島一丁目2-21 ヤマトネビル7階
Tel:03-4334-7977 Fax:03-4334-7978

<https://screen-cell3imager.com/>

各種お問い合わせは
こちらのQRコードから

