



オルガノイドのラベルフリー イメージング解析

はじめに

近年、再生医療や創薬研究におけるオルガノイドの研究が急速に発展しています。一般的に三次元培養法であることに加えて形態の不均一性から、オルガノイドのイメージングによる定量解析は困難です。蛍光標識を用いた場合は画像解析が容易になりますが、細胞へのダメージやコスト増加という問題があります。

Cell3iMager NXを使用することでハイスループットに明視野画像中のオルガノイドを画像解析できます。本実験ではオルガノイドの培養過程モニタリングとForskolin-induced swelling (FIS) アッセイをラベルフリーで定量解析しました。

Materials&Methods

使用製品

Cell3iMager NX

サンプルおよび試薬

マウス腸管オルガノイドと専用培地
(Stem Cell Technologies)

マウス肝オルガノイドと専用培地
(Stem Cell Technologies)

24ウェルプレート (CORNING)

96ウェルプレート (CORNING)

Forskolin (R&D Systems)

方法

腸管オルガノイドと肝オルガノイドをマトリゲルドームに包埋し、37℃、5%-CO₂条件下で培養しました。定期的なCell3iMager NXでZ-Stack撮像することで、全てのオルガノイドにピントが合った全焦点画像を取得しました(図1)。

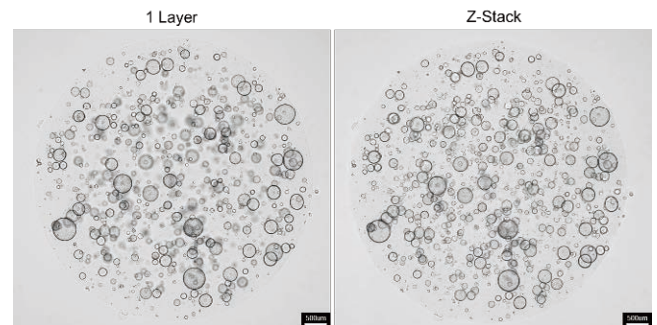


図1： Z-Stack撮像による全焦点画像

次に、Deep Learning機能を用いて、明視野画像中のオルガノイド領域をラベリングし教師画像を作成しました。(図2)。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2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、明視野画像中のオルガノイド領域をセグメンテーションし、特徴量を計測しました。

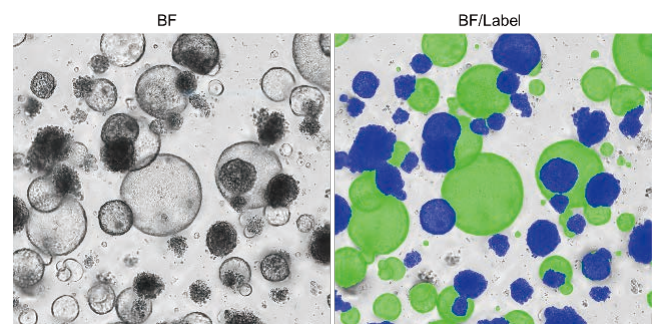


図2： 教師画像の作成

結果

オルガノイド増殖のモニタリング

24ウェルプレートに腸管オルガノイドを培養しCell3iMager NXで撮像解析した結果、crypt構造が発達したオルガノイドが経時的に増加することが分かりました(図3、図4)。

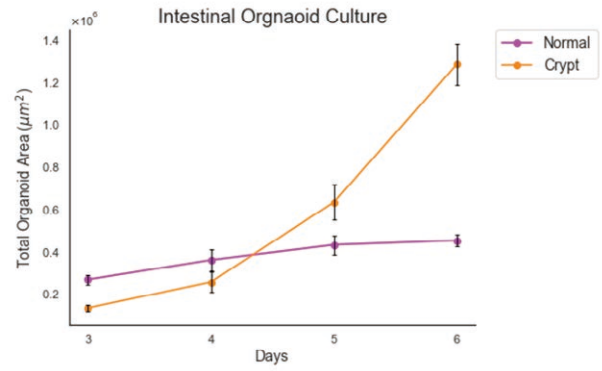


図4： 腸管オルガノイドの定量結果

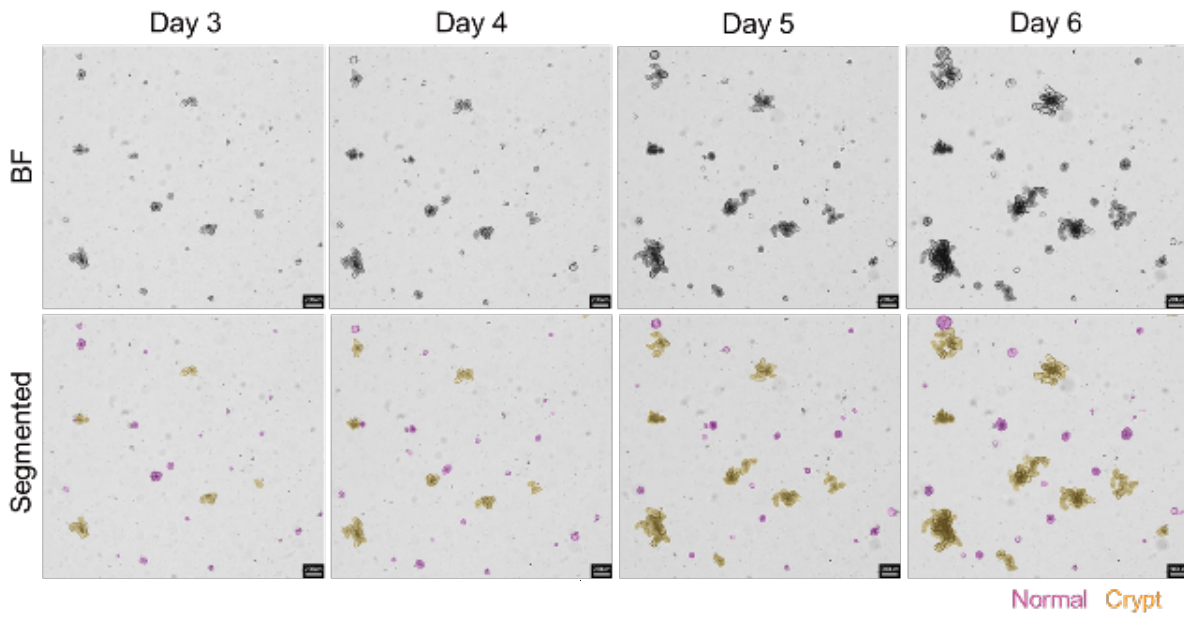


図3： 腸管オルガノイドの画像成

同様に肝オルガノイドを培養した結果、経時的に黒く崩壊したオルガノイドが増加することが分かりました(図5、図6)。

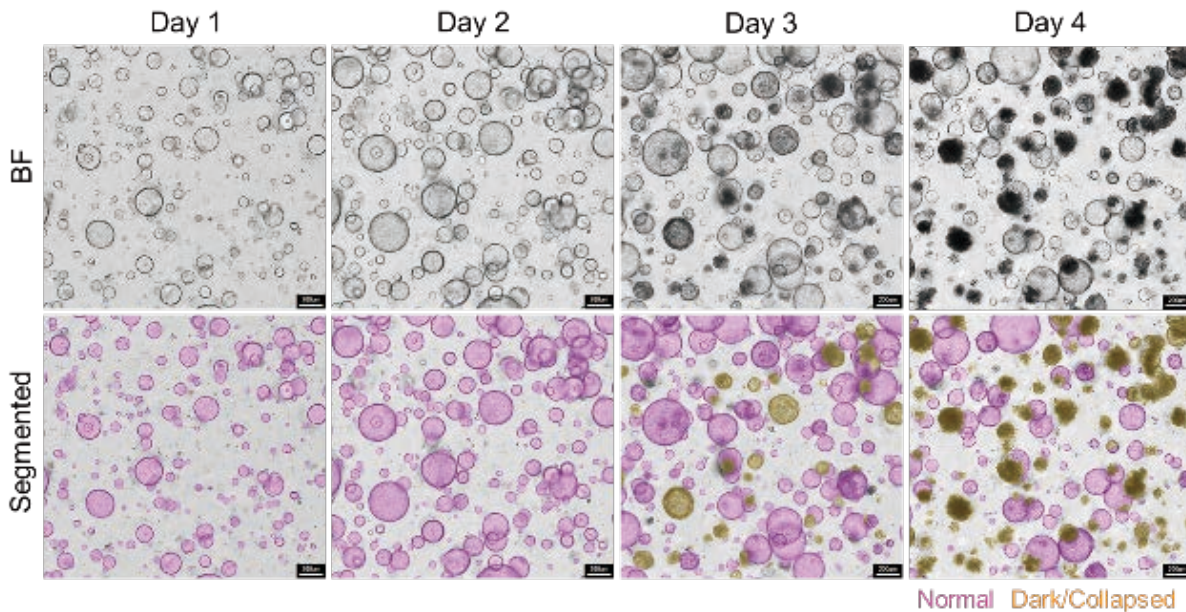


図5： 肝オルガノイドの画像

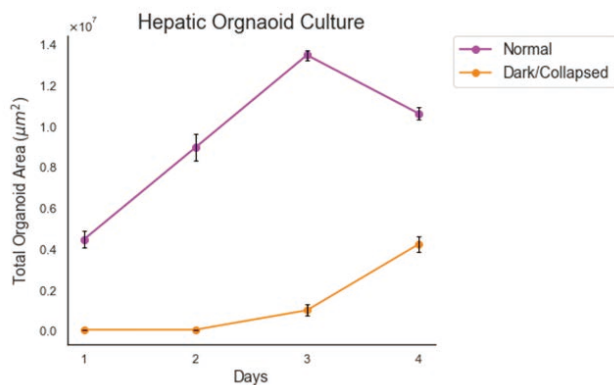


図6：肝オルガノイドの定量結果

FISアッセイ

96ウェルプレートに腸管オルガノイドをマトリゲルドーム培養し、Forskolin刺激によりオルガノイドが膨張することが確認できました (図7、図8)。

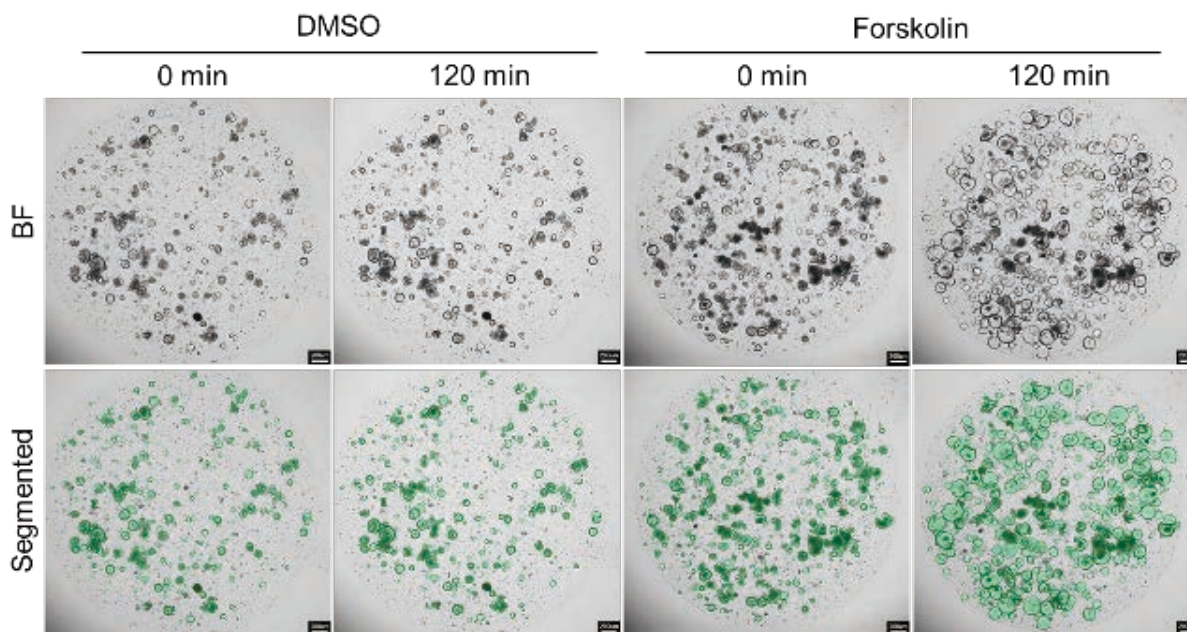


図7：FISアッセイの画像

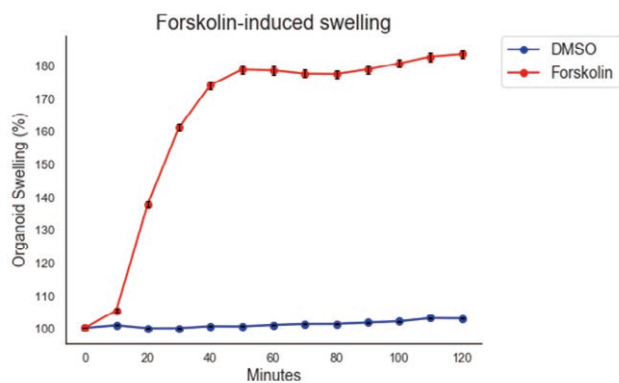


図8：FISアッセイの定量結果

まとめ

Cell3iMager NXを用いることで三次元培養したオルガノイドのイメージングが可能になります。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オルガノイド形態ごとにラベルフリー解析することができます。これまで顕微鏡観察で行ってきたオルガノイド成長過程のモニタリングや、ハイスループット薬剤スクリーニングをラベルフリー解析で代替できる可能性があります。

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

