

生死細胞オートアナライザーVi-CELL XRによる Jurkat 細胞の生存率、生細胞濃度測定



Particle Counting & Characterization
Application Note. (DS-9820A-JP)

Jurkat Cells

Jurkat 細胞は、ヒトT細胞性白血病由来の細胞株です。この細胞は、ネクローシスと比較し、アポトーシスによる細胞死の誘導に敏感の研究において、よく用いられます。

Instrument Settings

Vi-CELL XR を使用する場合、大半の細胞は、デフォルトの Cell type (分析パラメータ)で分析することができます。特定の細胞株を測定においては、これらの分析パラメータを変更する必要があります。Vi-CELL ソフトウェアでは、ユーザーが細胞株に合わせた Cell Type を簡単に作成・編集することができます。細胞株に合った Cell Type の選択もしくは作成により、正確な結果を得ることができます。Jurkat 細胞の Cell Type の設定は以下のとおりです

Minimum diameter (microns) = 6

最小サイズ (小さいデブリスや apoptotic bodies を解析から除外します)

Maximum diameter (microns) = 50

最大サイズ (測定対象以外の生細胞、死細胞、デブリスを解析から除外します)

Number of images = 50

撮像枚数

Aspirate cycles = 1

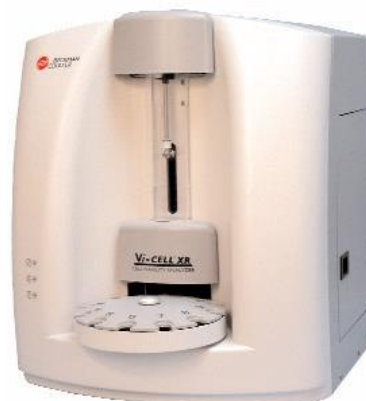
吸引数 (正確に一定量を測り取る前の、ミキシング回数を設定します。細胞試料溶液を確実に再懸濁するステップになります)

Trypan blue mixing cycles = 3

トリパンブルー Mix 回数 (トリパンブルー染色液添加後の Mix 回数を設定します。壊れやすいサンプルの場合、少なく設定します)

Cell brightness (%) = 85

細胞輝度 (どの程度の暗さの部分までを物体として認識するか Cell Brightness の値をより高く設定すると、より薄い部分までを物体として認識します)



Cell sharpness = 100

細胞シャープネス(どの程度のピントが合っていないもしくは、細胞膜がはっきりしない対象物を認識するのか設定します)

Viable cell spot brightness (%) = 75

生細胞スポット輝度 (Viable cell spot area と共に生細胞判定に使用します)

Viable cell spot area (%) = 5

生細胞スポット領域 (Viable cell spot brightness と共に生細胞判定に使用します)

Minimum circularity = 0

最小真円度 (細胞の真円度を規定し、死細胞の判定に使用します。)

Deccluster degree = Low

クラスタ分離度 (凝集した細胞の分離クラスを設定できます。)

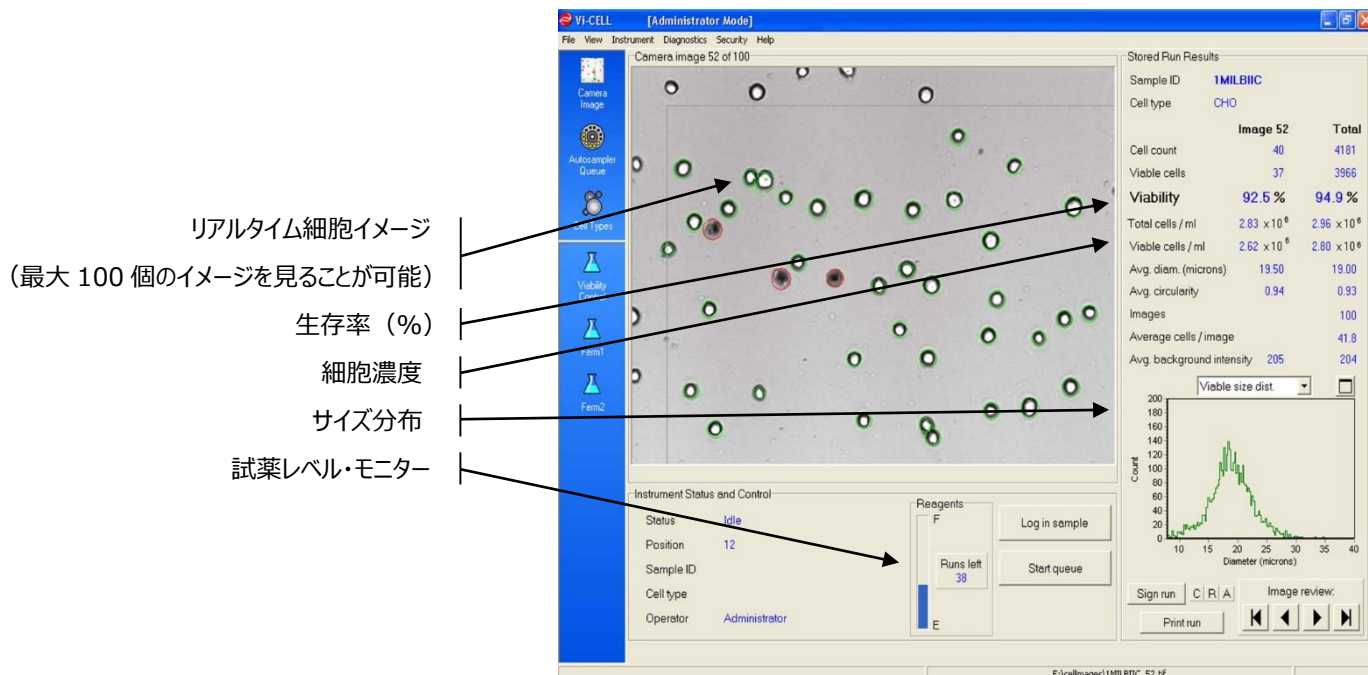


図 1. Jurkat 細胞の測定結果

Results

Vi-CELL XR の測定結果は、Vi-CELL ソフトウェアの右側 (Results Section) に表示されます (図 1)。生存率は 95.6%、総細胞濃度は 1.05×10^6 細胞/mL でした。Vi-CELL XR を使用することで、生細胞濃度、平均細胞径、サイズ分布、および平均真円度も同時に解析することができます。細胞画像を保存することで、今後の再分析に備えることができます。

Conclusion

生死細胞オートアナライザー-Vi-CELLXR は、マニュアル測定によるバラつきを無くし、測定の標準化を行います。Vi-CELL XR を使用することで、最大で 100 個枚の画像を撮像および分析することができます。細胞の総解析数は、マニュアルの 15~30 倍であり、統計的に信頼性の高いデータが得られます。何より、マニュアル法に内在する主観的な性質を取り除く事で、再現性の高い解析が可能になります。