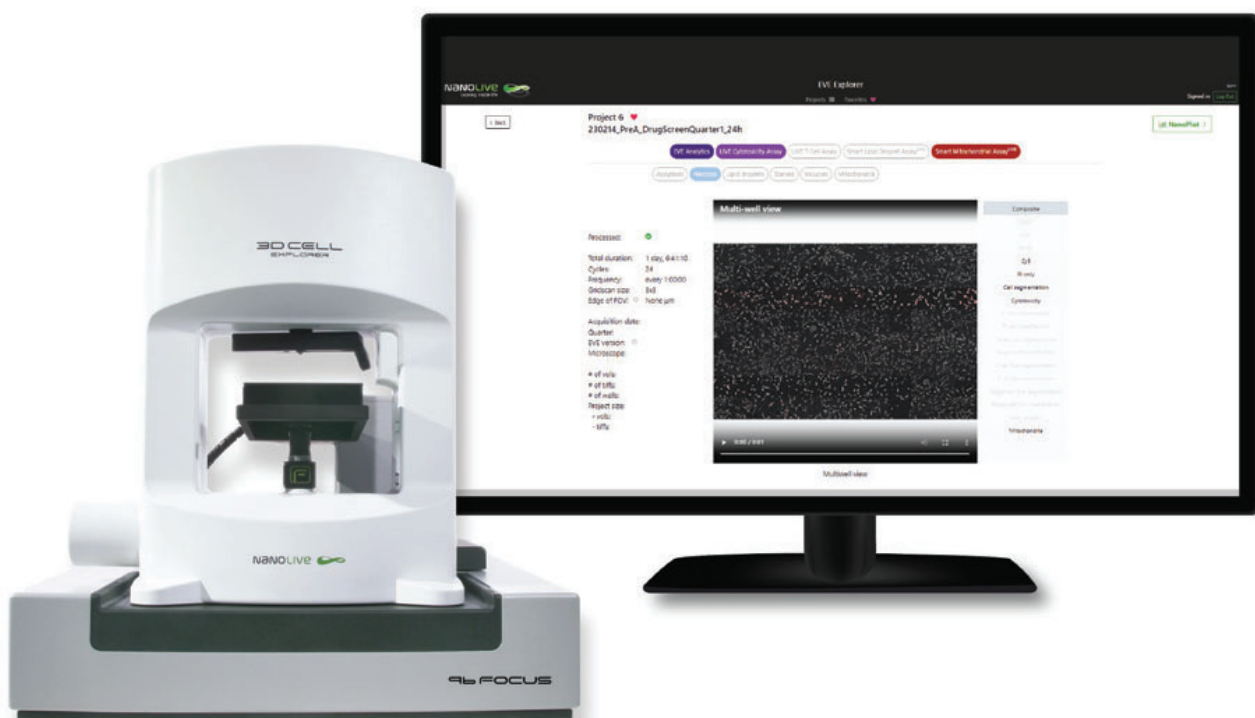
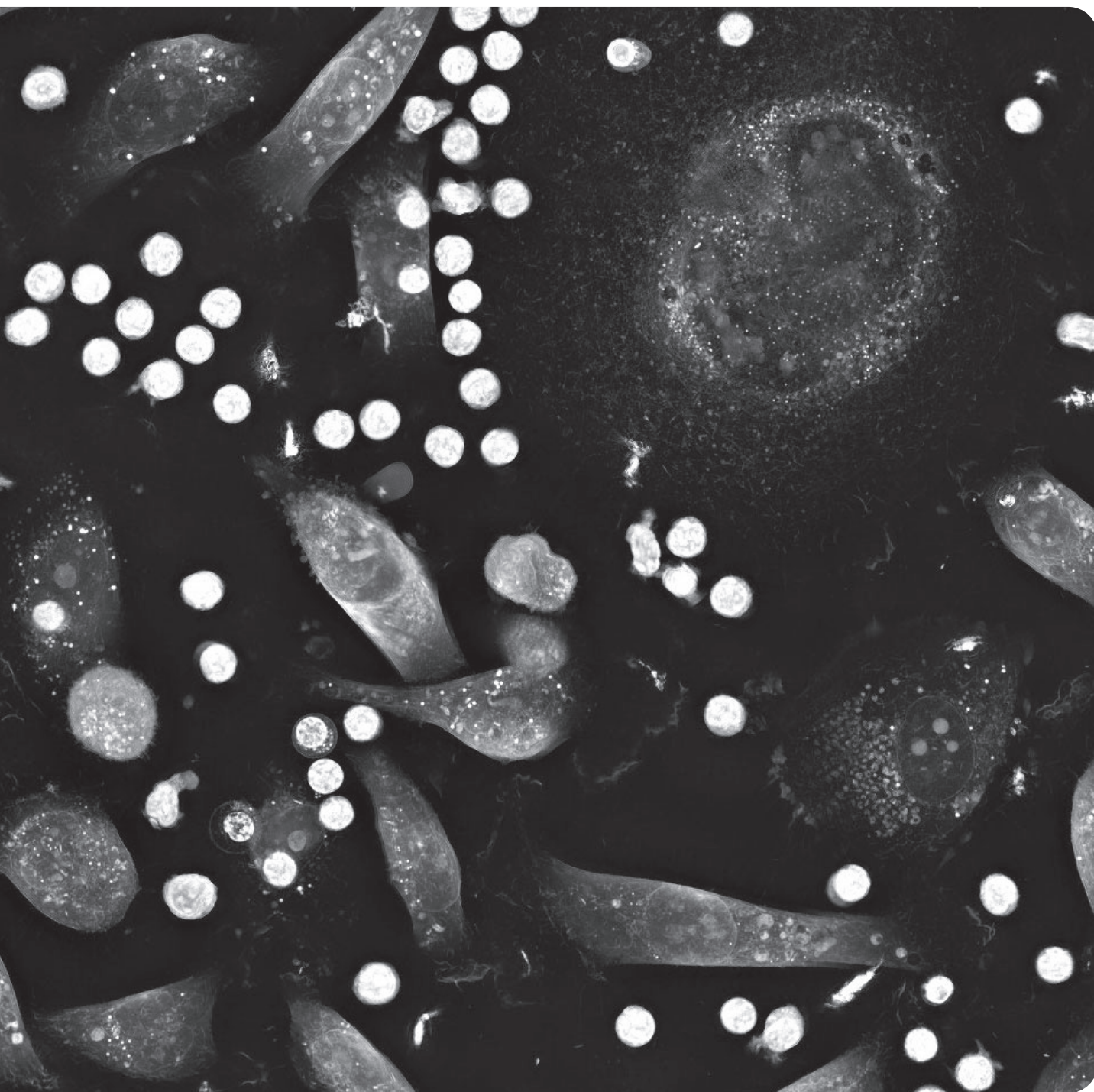


総合カタログ / アプリケーションブック

ラベルフリー・ライブセル 4D イメージング & 自動定量解析

Nanolive 3D Cell Explorer





目次

Chapter 01 製品概要：3D Cell Explorer	4
Chapter 02 技術概要：屈折率 (RI) イメージングとラベルフリー解析	5
Chapter 03 解析ソフトウェアと共通ワークフロー	6
Chapter 04 Live T Cell Assay	7
Chapter 05 Live Cytotoxicity Assay	9
Chapter 06 Smart Lipid Droplet Assay	12
Chapter 07 Smart Mitochondrial Assay	16
参考文献	16

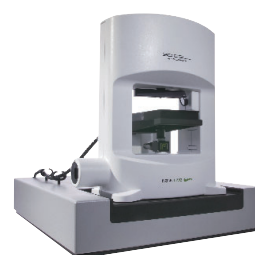
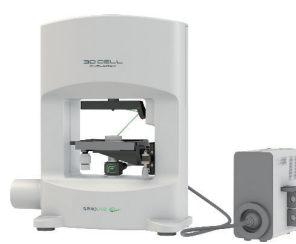
3D Cell Explorer - 製品概要 -

1. 3D Cell Explorer は、屈折率 (RI) イメージングにより、染色を行わずに生細胞を三次元かつ 経時的 (4D) に観察・定量できるホログラフィック顕微鏡プラットフォームです。
2. 細胞形態や内部構造の変化を非侵襲で捉え、長時間のライブセル解析を可能にします。

1.1 特長 (カタログ記載)

- ラベルフリーでの 2D/3D/4D ライブセル観察 (非染色)
- 高分解能による細胞内部構造の可視化: XY 200 nm、Z 400 nm
- ライブセル観察に適した 3D 取得速度: 最大 0.5 fps
- 蛍光イメージングとの相関解析に対応 (形態情報⇄分子情報)

1.2 機能/スペック



	3D Cell Explorer CX	3D Cell Explorer CX-F	3D Cell Explorer 96focus
観察方式	屈折率 (RI)	屈折率 (RI) + 蛍光	屈折率 (RI) + 蛍光
空間分解能	XY 200 nm、Z 400 nm	XY 200 nm、Z 400 nm	XY 200 nm、Z 400 nm
3D取得速度	最大 0.5 fps	最大 0.5 fps	最大 0.5 fps
観察エリア (1 観察視野)	約 90 × 90 × 30 μm	約 90 × 90 × 30 μm	最大 約 900 × 900 × 30 μm
対応対物レンズ	60 × (NA 0.8)	60 × (NA 0.8)	60 × (NA 0.8)
蛍光対応	—	最大3チャンネル (FITC/TRITC/DAPI/Cy5)	最大3チャンネル (オプション) (FITC/TRITC/DAPI/Cy5)
プレート対応	35 mmディッシュ	35 mmディッシュ	35 mmディッシュ
			96ウェルプレート

技術概要

- 屈折率 (RI) イメージングとラベルフリー解析 -

屈折率 (RI) イメージングでは、細胞内部の屈折率分布を可視化することで、染色を行わずに細胞内構造や細胞小器官の形態を観察できます。また、蛍光イメージングと併用することで、同一サンプル・同一視野で分子情報 (蛍光) と形態情報 (RI) を対応付けて評価できます。

2.1 ラベルフリー観察の利点

- 染色工程が不要で、前処理の手間と試薬コストを削減
- 光毒性や染色による細胞への影響を抑え、長時間タイムラプス観察に適合

2.2 蛍光との相関 (概念)

RI (形態) と蛍光 (分子) を組み合わせて同一サンプルを解析することで、分子局在と形態変化の対応関係を検討できます。

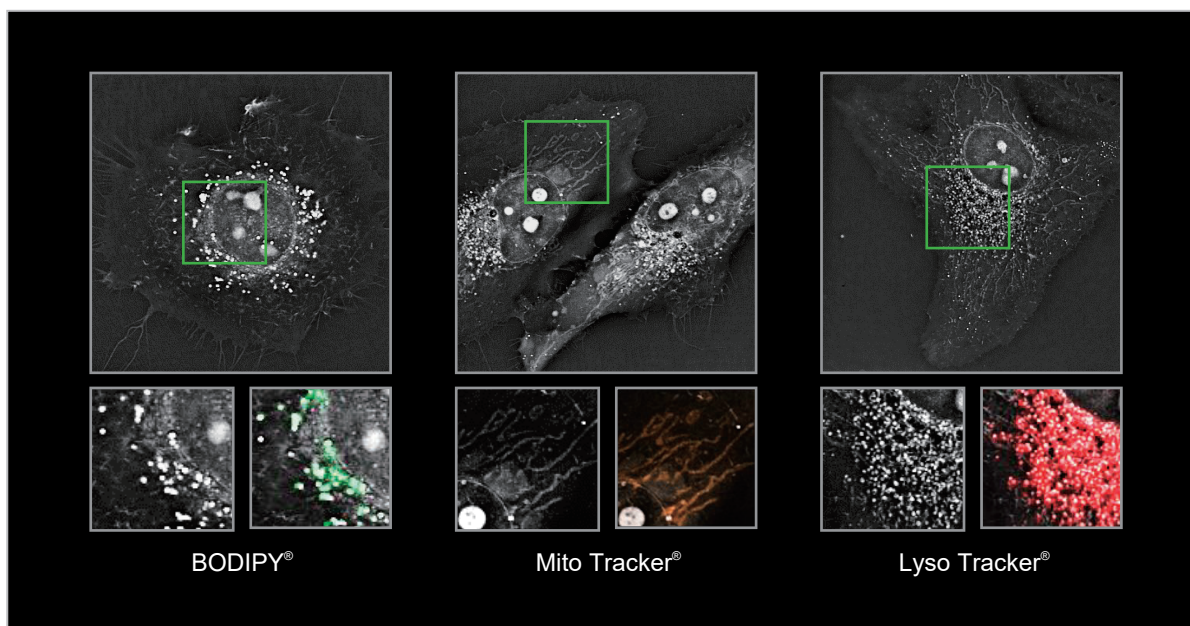


図 1 : RI × 蛍光イメージングとの相関例 (BODIPY® / MitoTracker® / LysoTracker®)

3D Cell Explorer で取得した RI データは、用途別アッセイ（解析ソフト）により、細胞・オルガネラ・相互作用・細胞死などを自動セグメンテーションして定量します。

3.1 自動解析 (EVE Explorer / 自動化機能)

EVE Explorer は、直感的な自動化機能により、細胞およびオルガネラの動態・形状を経時的に観察・解析し、ワークフロー設定やデータ管理を支援します。

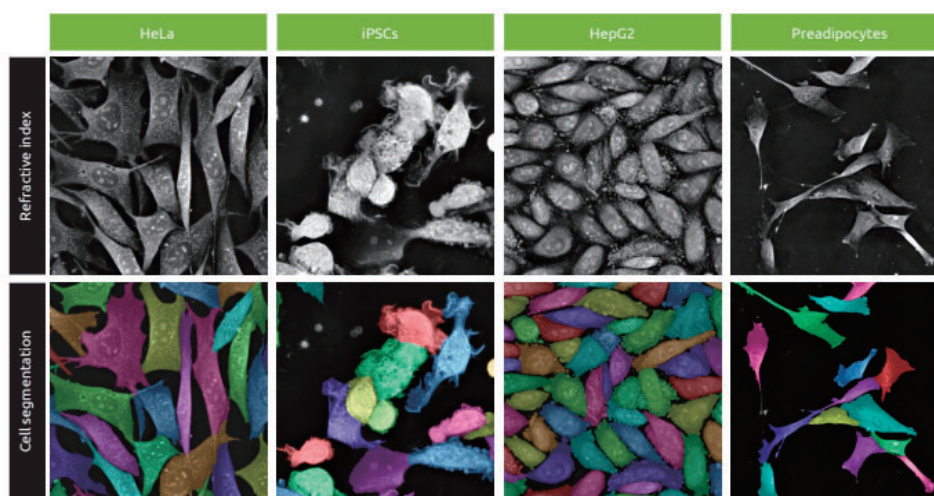


図 2：細胞種別解析画面

3.2 解析データの出力様式：細胞小器官・単一細胞・細胞集団

アッセイごとに、以下のような複数の解析スケールで定量項目が提供されます。

- (1) 細胞集団レベル：細胞数やコンフルエンスなど、集団全体の傾向を評価
- (2) 単一細胞レベル：細胞ごとの形態・挙動のばらつきを解析
- (3) 細胞小器官レベル：脂肪滴やミトコンドリアなどの個別構造を定量

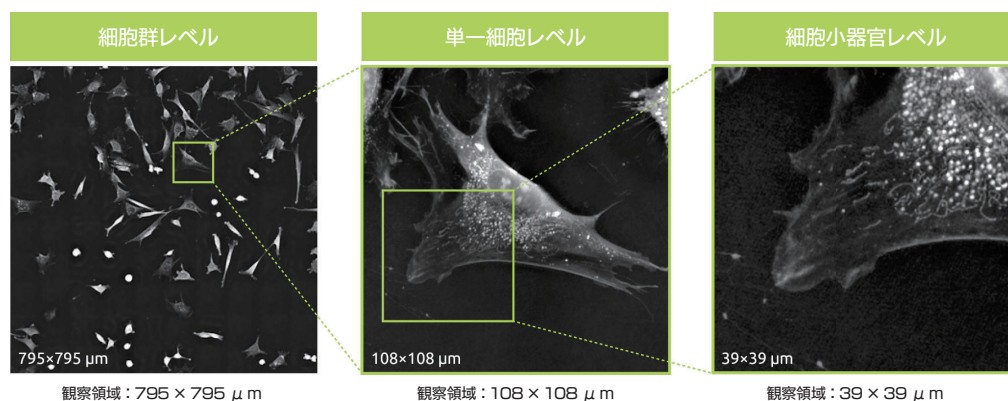


図 3：観察視野ごとの観察像

T 細胞と標的細胞の接触、結合、ならびに標的細胞の殺傷に至る一連の相互作用をラベルフリーかつ長時間にわたり定量解析します。

4.1 特長

- AI アシストによる画像解析フロー
- T 細胞および標的細胞の解析に加え、両者の相互作用解析が可能
- 染色不要で経時的に非侵襲解析が可能

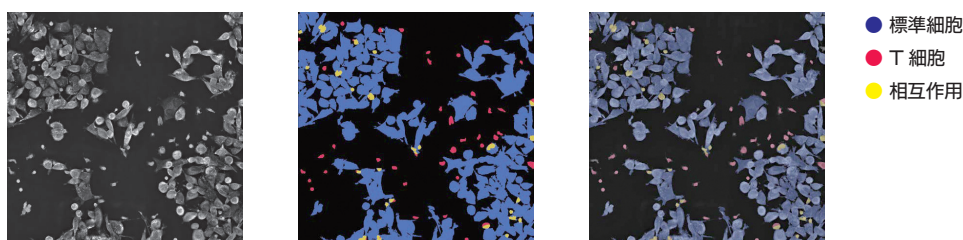


図 4：LTCA：RI 画像 / セグメント化画像 / 合成画像

4.2 主な解析項目 (抜粋)

- 周辺長、コンパクトネス、範囲、面積
- 乾燥重量、平均乾燥重量、総乾燥重量、平均屈折率
- 細胞数、コンフルエンス
- 標的細胞と接触している T 細胞の数・割合
- 接触面積比率、平均距離
- T 細胞速度、単位時間あたりの殺傷数、T 細胞 1 個当たりの平均殺傷数

4.3 実験例 (アプリケーションノート)

実験例 1 二重特異性抗体が T 細胞応答に及ぼす影響の評価

目的

二重特異性抗体の有効性比較、および候補抗体 2 種 (Ab1/Ab2) の性能評価

条件 (要約)

ドナー由来 T 細胞とヒトがん細胞を 2.5:1 で混合し、二重特異性抗体またはコントロール抗体に曝露。5 × 5 グリッド (観察視野 450 × 450 μm) で 6 時間、9.25 分間隔で画像取得。セグメンテーションは RI 画像のみから生成 (蛍光なし)。

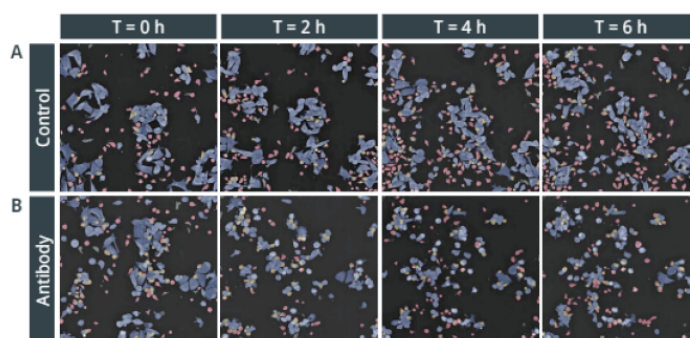


図 5：コントロール vs 抗体添加時の 4D タイムラプス画像

結果 (要約)

本解析では、コントロール群では標的細胞への明確な変化は確認されず、二重特異性抗体群では取得開始時から標的細胞の状態変化が観察されました。

標的細胞のコンフルエンスは最大 22% 減少し、標的細胞と接触している T 細胞の割合は平均 32% 増加 (+11 ~ +46%) しました。T 細胞移動速度および平均最小距離は低下傾向を示しました。

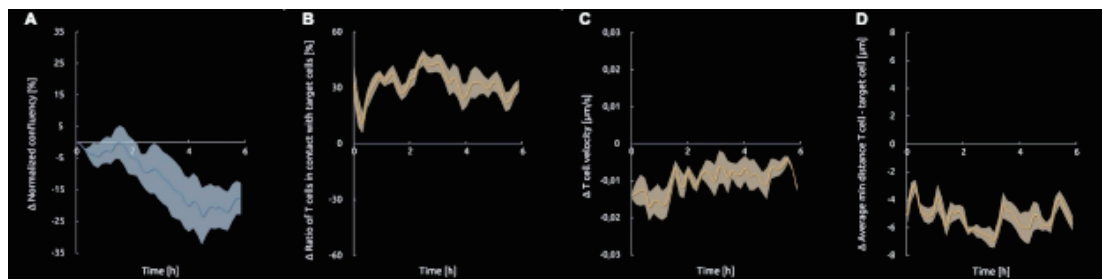


図 6：主要項目の定量

A：コンフルエンス B：細胞間接触率 C：T 細胞移動速度 D：T 細胞 - 標的細胞間距離

実験例 2

候補抗体 Ab1 と Ab2 の比較 (結合能・殺傷効率)

条件 (要約)

T 細胞とヒトがん細胞 (2.5:1) を、Ab1/Ab2 またはコントロール抗体に曝露。

5 × 5 グリッド (観察視野：450 × 450 μm) で 4.5 分または 6.75 分間隔で撮影。

結果 (要約)

Ab1/Ab2 いずれも接触率は増加したが、平均最小距離は Ab1 の方が Ab2 より 1.31 μm 短い。

殺傷開始タイミングは Ab1 で約 3 時間後、Ab2 で約 6 時間後に正の値へ転じ、連続殺傷能力にも差が示された。

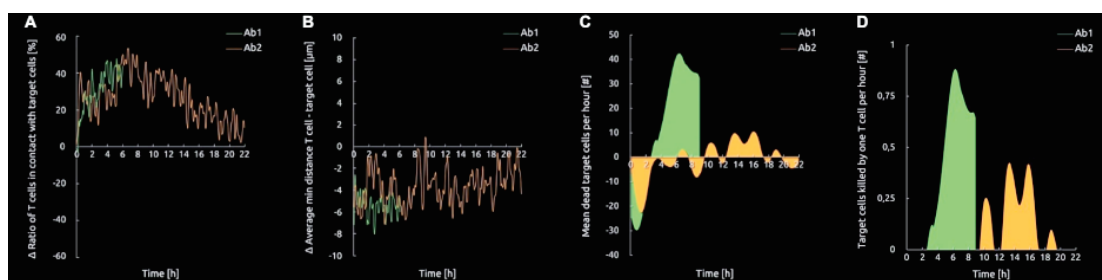


図 7：Ab1/Ab2 比較

A：T 細胞 - 標的細胞間の接触率 B：細胞間距離 C：単位時間当たりの殺傷された細胞の数 D：T 細胞 1 個における殺傷数

4.4 結論

本アッセイは、共培養環境下において非染色で T 細胞と標的細胞を識別し、相互作用解析を含む定量データを取得できます。

各時点および集団単位での比較評価により、条件間差の把握や候補条件のスクリーニングに活用できます。

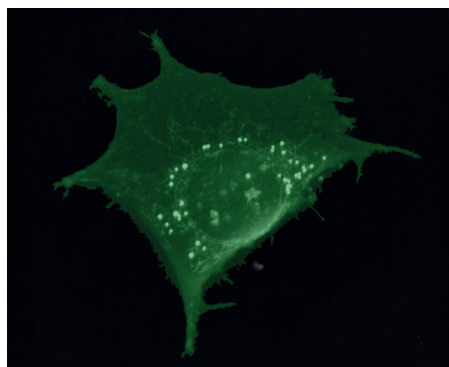
Live Cytotoxicity Assay

細胞の健康状態および細胞死（アポトーシス／壊死）を、ラベルフリーで自動識別・定量する解析アッセイです。同一サンプルを経時的に追跡できるため、薬剤添加後の変化を時間軸で評価できます。

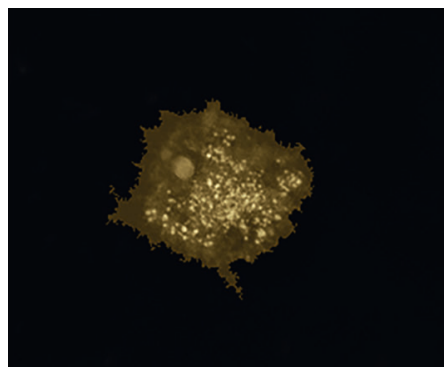
5.1 特長

- 解析プロセスを自動化することで、目視評価による主観的なばらつきを抑え、高い再現性を実現します。
- ラベルフリーのため試薬コストが不要
- 細胞増殖抑制作用や細胞毒性作用を可視化

生細胞と死細胞の識別はもちろんのこと、細胞の健康状態の可視化も可能です。

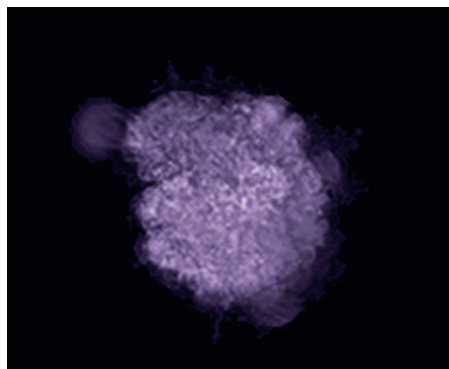


生細胞

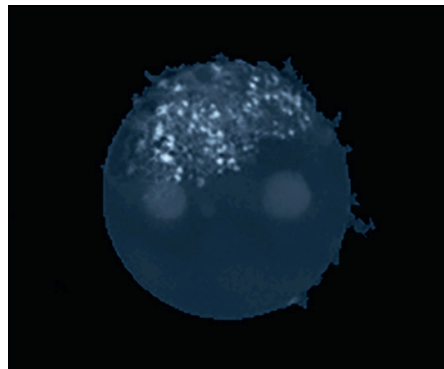


死細胞

アポトーシスやネクローシスといった細胞死の識別も可能です。



アポトーシス



ネクローシス

図 8：生細胞 / 死細胞 / アポトーシス / ネクローシスのセグメンテーション

5.2 Live Cytotoxicity Assay 実験例 (アプリケーションノート)

研究事例 1 96ウェルプレートによる薬剤スクリーニング (HeLa)

目的

リード化合物探索におけるスクリーニング用途の可能性検証

条件 (要約)

96 ウェルプレートの60 ウェルを用い、HeLa 細胞にカンプトテシン (0.1 ~ 10 μ M) またはクロロキン (0.1 ~ 1.9 mM) を添加。2 × 2 グリッド (観察視野 168 × 168 μ m) で45 時間、18 分間隔で撮影し LCA で解析。

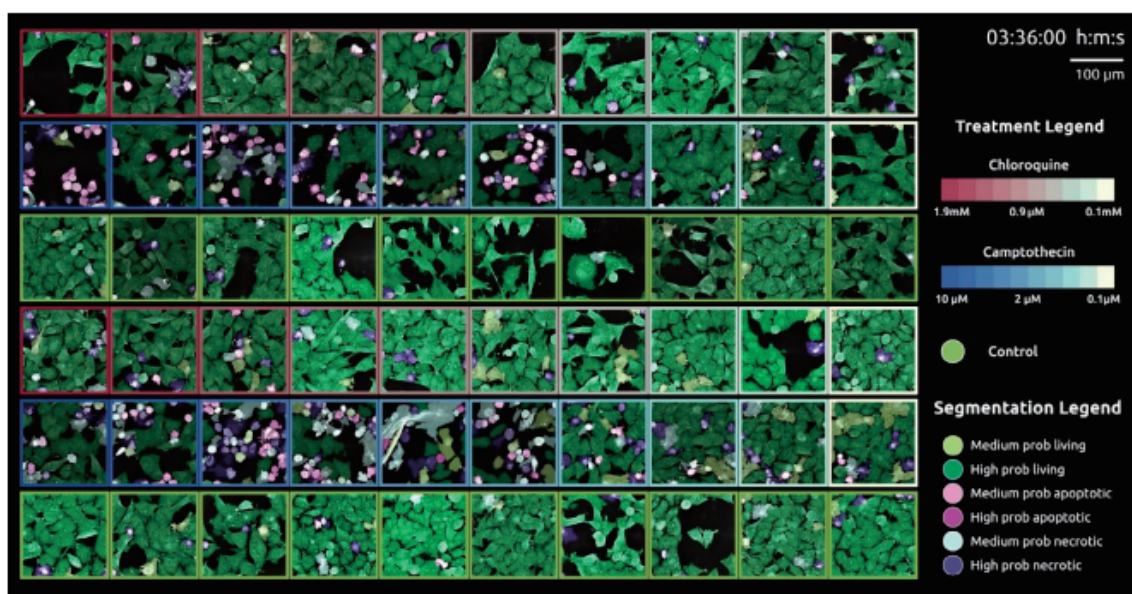


図 9：薬剤濃度系列とタイムラプス概要

結果 (要約)

両薬剤で濃度依存的な細胞死誘導を確認。高濃度ほど早期かつ迅速な死滅が観察された。カンプトテシンは低濃度においても、22 時間後に死滅が観察され、クロロキンは実験終盤に死滅が確認された。

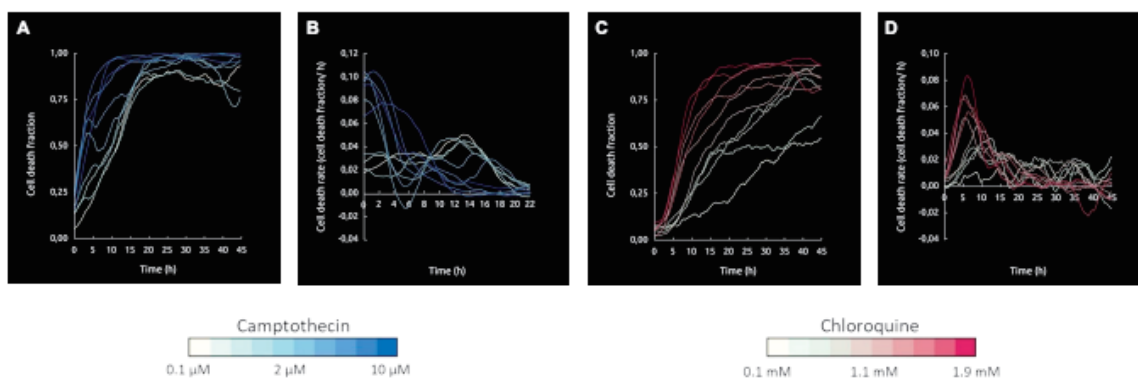


図 10：カンプトテシンおよびクロロキン投与後の細胞死率 / 単位時間毎の細胞死率の定量

図 11：事例 2-1：近縁化合物 X/Y/Z の同一濃度 (200 nM) 比較。3 × 3 グリッド (観察視野 275 × 275 μ m) で撮影し解析。

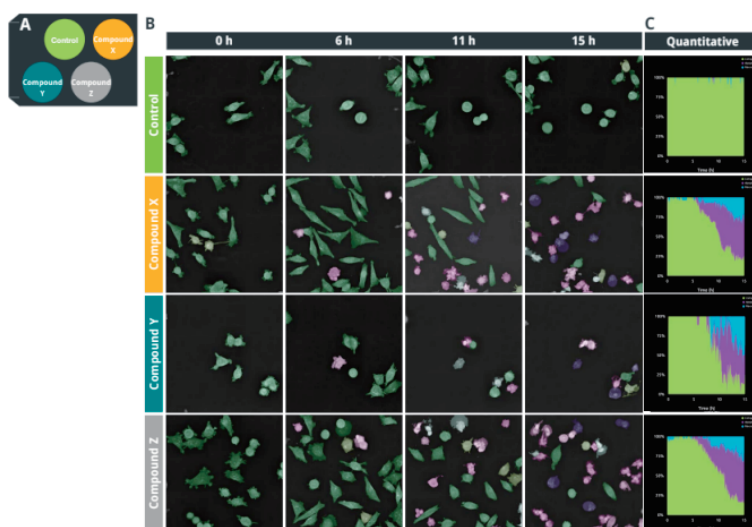
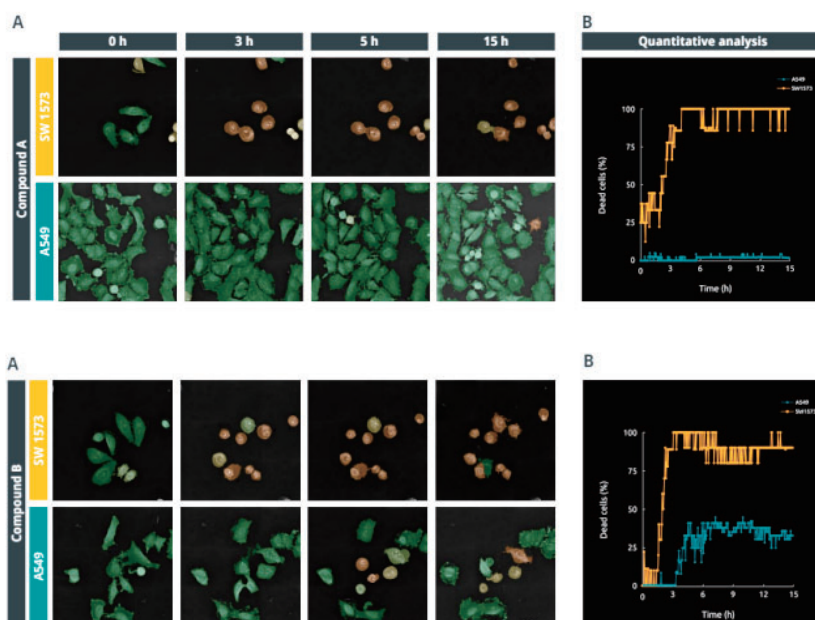


図 12：研究事例 2-2：肺がん細胞株 2 種 (SW1573、A549) に対する化合物 A/B (100 nM) のディッシュ配置図



図 13：肺がん細胞株 2 種 (SW1573、A549) に対する化合物 A/B (100 nM) の比較。3 × 3 グリッド (観察視野：275 × 275 μ m) で 15 時間、3 分間隔で撮影し解析。



結果 (要約)

本条件下では、化合物 A は SW1573 で 100% の殺傷効率を示した一方、A549 では効果が認められませんでした。SW1573 の死滅には 4 時間 25 分を要しました。

化合物 B は 3 時間 20 分で SW1573 を 100% 死滅させ、A549 では約 40% の細胞死が観察されました。

脂肪滴（LD）を屈折率値に基づき自動セグメンテーションし、単一 LD / 単一細胞 / 細胞集団の 3 スケールで脂肪滴ダイナミクスを定量します。

6.1 特長

- 脂肪滴を RI 情報でセグメンテーションし、蛍光染色なしで観察
- 数クリックで自動解析（前処理不要：染色・遠心分離など不要）
- 脂肪滴の形態、含有量、分布を多角的に定量分析（計 39 指標）

6.2 解析項目（抜粋）

- | | | |
|-------------------------|----------|------------------------|
| • 占有面積（%） | • 平均乾燥重量 | • 細胞中心までの距離 |
| • 面積（ μm^2 ） | • 総乾燥重量 | • 細胞面積に対する LD 総面積比率（%） |
| • 周辺長（ μm ） | • 平均密度 | • コンパクトネス • 偏心率 |

6.3 実験例（アプリケーションノート）

研究事例 1

ヒト皮膚細胞における老化兆候の定量化（AGEs 曝露）

背景

終末糖化産物（AGEs）は皮膚老化の主因の一つであり、タンパク質だけでなく脂肪にも結合する。

条件（要約）

一次ヒト真皮線維芽細胞を Ibidi ディッシュに播種し 42 時間培養。
AGE カクテル添加後、24 時間にわたり 2 分ごとに撮影。

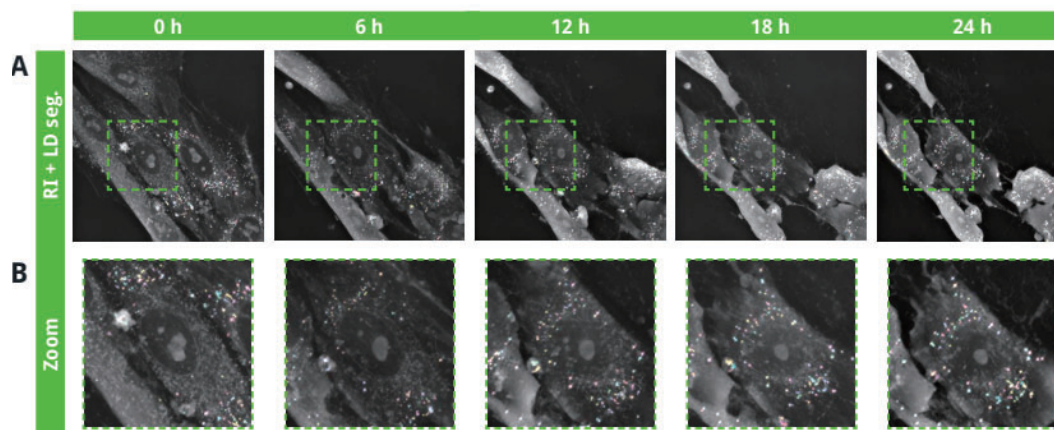


図 14：AGEs 曝露後の LD 蓄積タイムラプス

結果 (要約)

LD 数の変化は大きくない一方、個々の LD の面積・乾燥重量密度は増加し、形状はよりコンパクトになりました。形態・組成変化が観察されるまで約 6 時間かかり、その後直線的に蓄積が増加。面積は 61% 増加 ($0.24 \mu\text{m}^2 \rightarrow 0.4 \mu\text{m}^2$)、乾燥重量密度は 24 時間で 50% 増加 ($0.13 \rightarrow 0.19 \text{ pg}/\mu\text{m}^3$) しました。

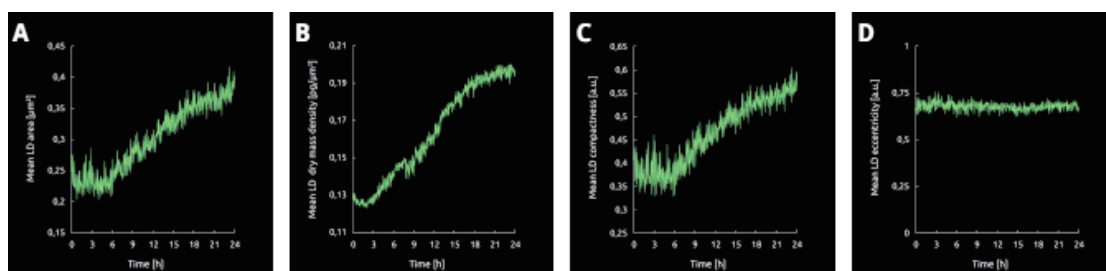


図 15：面積 / 密度 / コンパクトネス / 偏心率の定量

研究事例 2 泡沫マクロファージ形成時の脂肪滴動態解析 (VLDL 添加)

背景

動脈硬化に関連する泡沫マクロファージ形成では、マクロファージがリポタンパク質を貪食し脂肪滴へ貯蔵する。

条件 (要約)

マウス腹腔由来の未分化マクロファージを培養し、VLDL (TG 豊富) を $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ で添加。3D Cell Explorer-fluo で 6 時間、5 分間隔で取得。

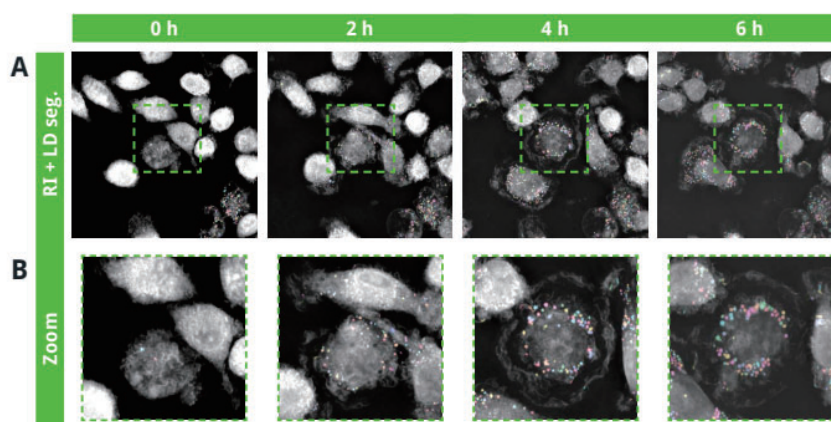


図 16：VLDL 添加後の LD 蓄積

結果 (要約)

個々の脂肪滴レベルで占有面積 28% 増、周辺長 25% 増、コンパクトネス 19% 増。細胞顆粒性は 17% 増。観察視野内の総 LD 数は 127 個→470 個へ約 3 倍に増加。

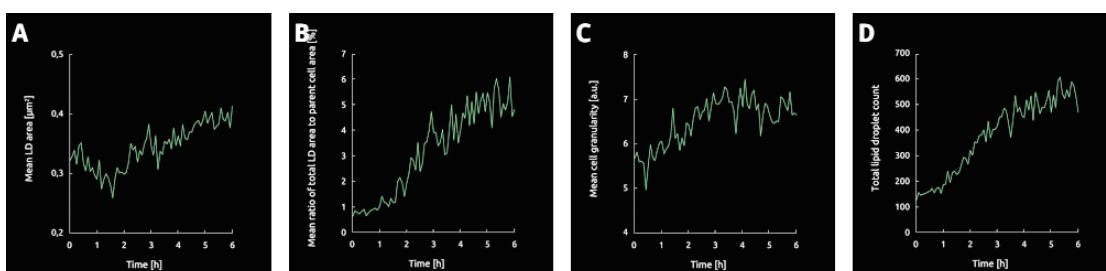


図 17：A：脂肪滴面積，B：細胞における LD 比率，C：顆粒性，D：総 LD 数

背景

脂肪滴蓄積は腫瘍形成に関与し、エネルギー供給源としてがん細胞の増殖・転移などに影響する。

条件 (要約)

ヒト膵臓腺癌 DAN-G を 96 ウェルに播種 (75 μ L あたり約 2×10^5 細胞)。
オレイン酸添加 (OA+) またはコントロールへ交換後、3 $\times$ 3 グリッド (275 $\times$ 275 μ m) で
90 秒ごとに 4 時間撮影。

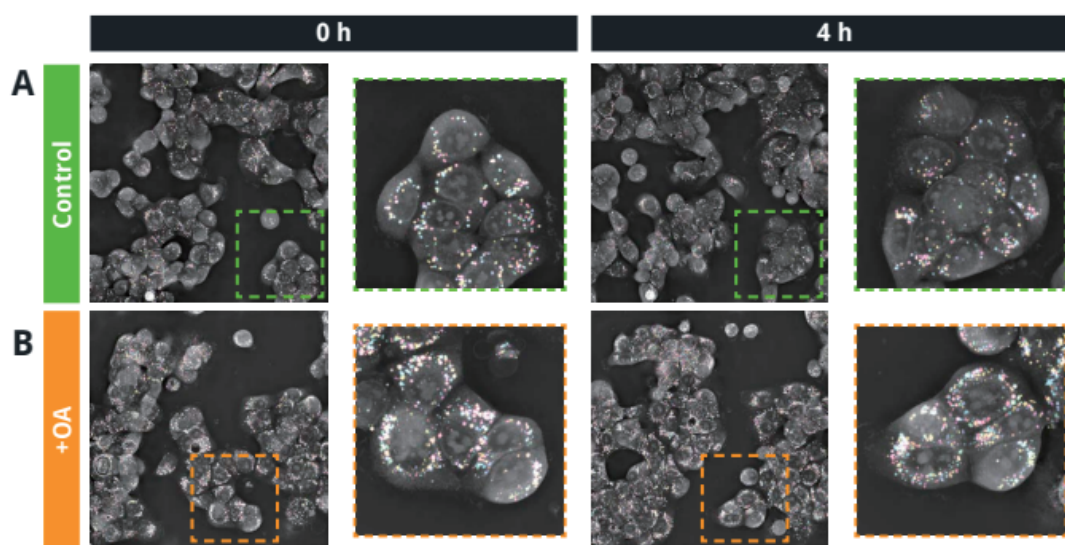


図 18 : コントロール vs オレイン酸添加 : 0h/4h の RI 画像

結果 (要約)

オレイン酸添加 (OA+) で LD 乾燥重量が 4 時間で 46% 増 (5.70 pg $\rightarrow$ 8.33 pg、0.66 pg/h)。
総 LD 乾燥重量は 55% 増、単一細胞レベルの乾燥重量は平均 17% 増 (7818 pg $\rightarrow$ 9181 pg)。

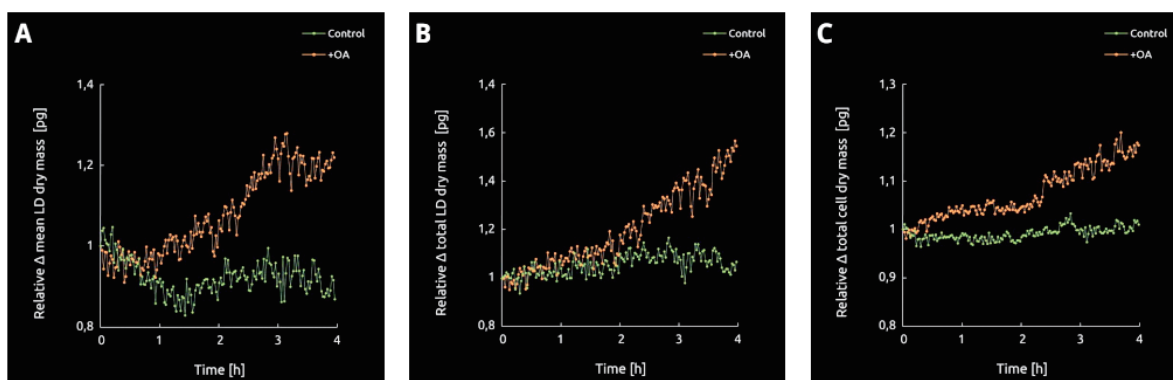


図 19 : A : 平均 LD 乾燥重量 B : 総 LD 乾燥重量 C : 乾燥重量

研究事例 4 脂肪滴生合成メカニズムの追跡 (飢餓→栄養回復)

背景

脂肪滴生合成は細胞代謝と恒常性維持に関与し、飢餓状態で動態が変化する。

条件 (要約)

HeLa を 35mm ディッシュ 2 枚に播種。DMEM (対照) または無血清 DMEM (飢餓) で 16 時間培養後、画像取得直前に両方を通常 DMEM へ交換。3 × 3 グリッド (275 × 275 μm) で 10 分ごとに約 50 時間撮影。

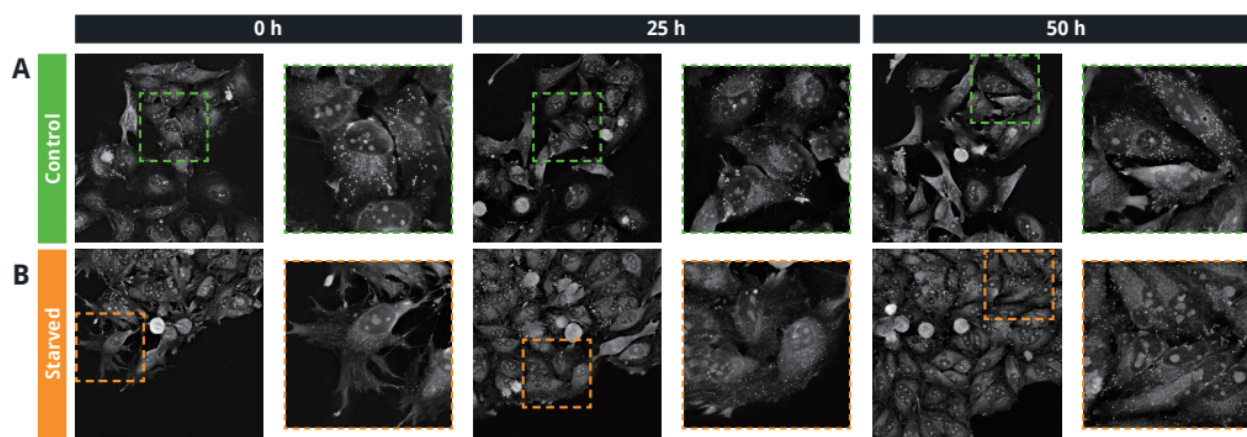


図 20：飢餓状態からの回復：LD 動態タイムラプス画像

結果 (要約)

飢餓細胞では培地交換直後に LD 数は増加せず、約 20 時間後から増加。20～30 時間で細胞あたり平均約 20 個 (約 2 個 / 時) の脂肪滴増加が示された。初期 (0～2 時間) では乾燥重量密度の増加が確認された。

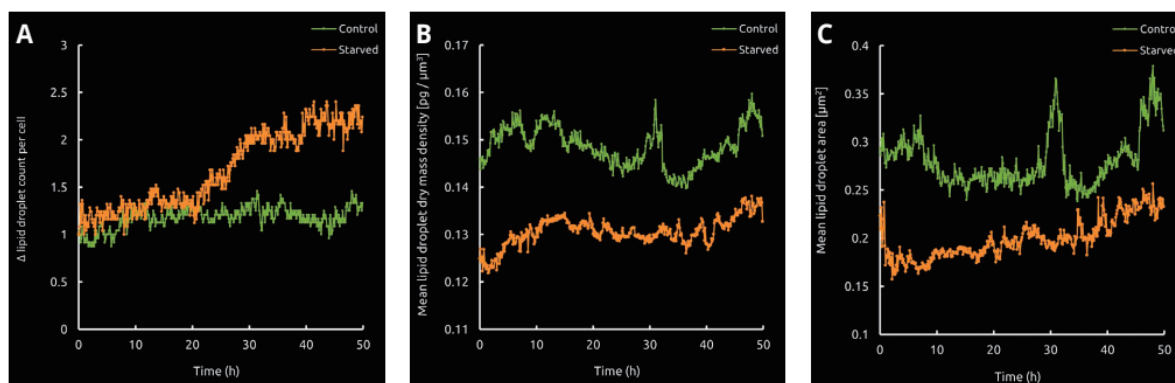


図 21：A：LD 数 B：平均密度 C：平均面積の推移

ミトコンドリアの分裂・融合・膨潤・マイトファジーなどの動態とネットワーク複雑性を、光毒性を抑えた 4D タイムラプスで非侵襲・定量評価します。

7.1 特長

- ミトコンドリア動態を非侵襲かつ定量的に評価可能な解析ソフトウェア
- ワンクリックアッセイ / 光毒性を抑えた 4D タイムラプス
- ミトコンドリアの形状変化とネットワーク形成の観察
- 蛍光イメージングとの相関性の検証

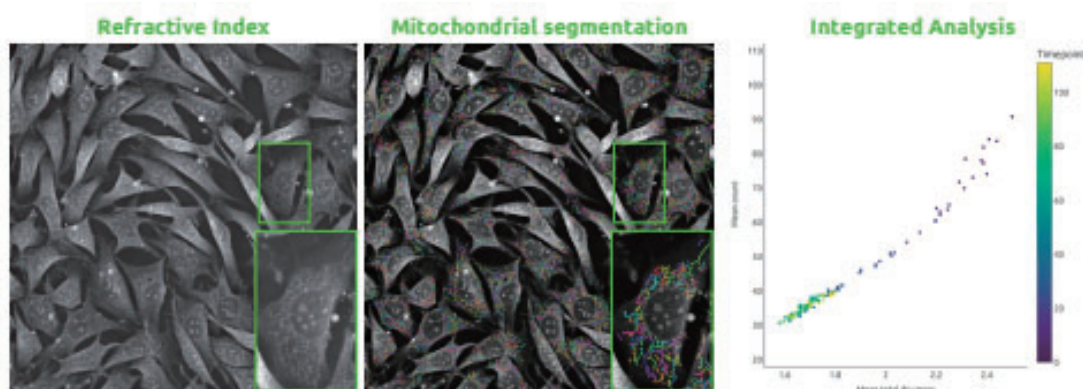


図 22：ミトコンドリアのセグメンテーションと解析例

7.2 主な解析項目 (抜粋) ※解析項目は合計 30 項目以上 (記載)

- | | | | |
|-------|--------|----------|------|
| • 長さ | • 乾燥重量 | • 乾燥重量密度 | • 枝数 |
| • 末端数 | • 交点数 | • 数 | • 半径 |

7.3 主な用途 (記載)

- ミトコンドリア代謝機能の評価
- 細胞ストレス評価
- 薬剤毒性評価
- 腫瘍生物学：治療薬候補の有効性評価
- 呼吸不全メカニズム研究 (断片化・膨潤・ネットワーク破壊)
- 蛍光薬剤・ナノ粒子・治療用ミトコンドリア取り込みのモニタリング

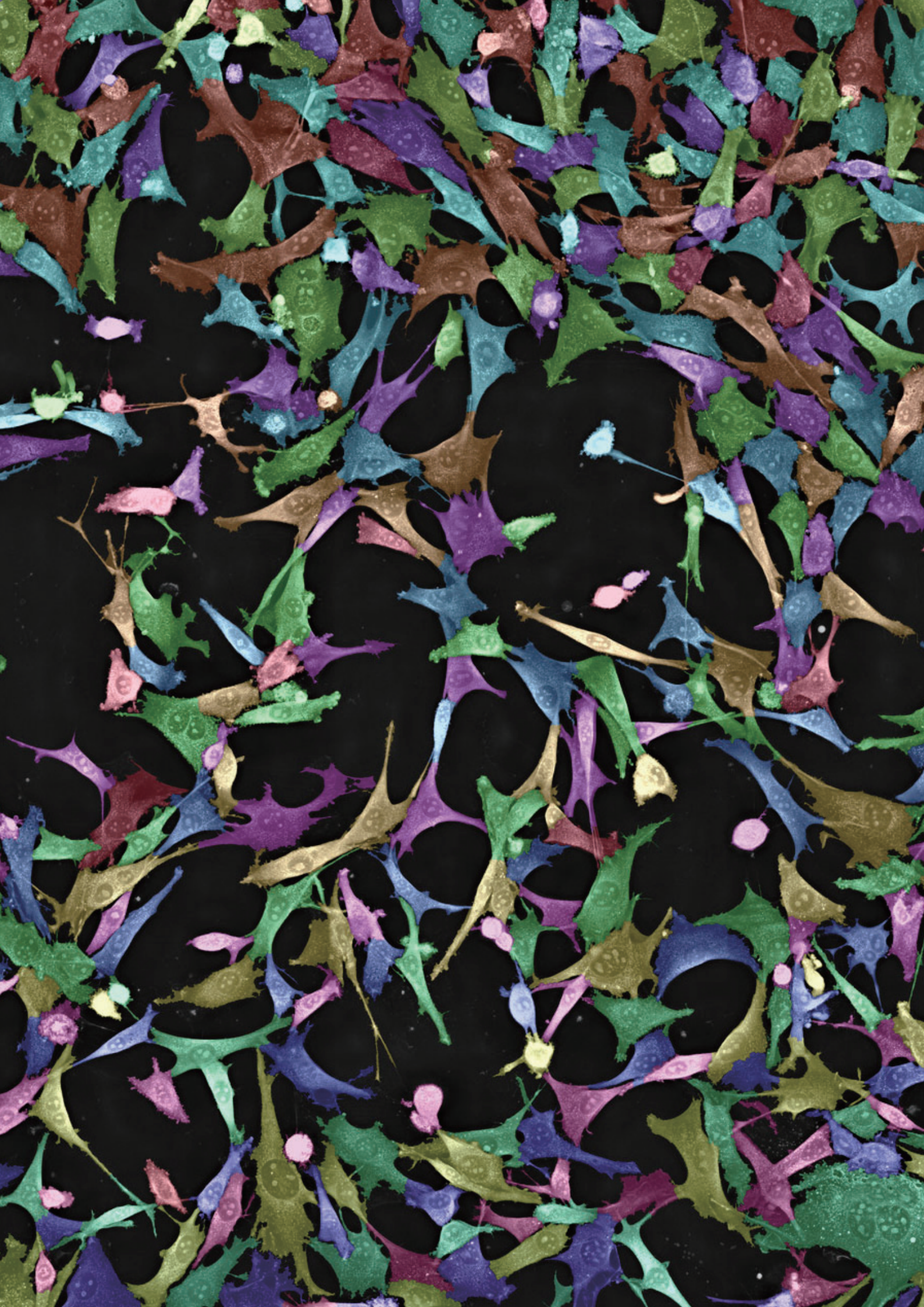
Smart Lipid Droplet Assay

- Walther TC, Farese RV Jr. *Annual Review of Biochemistry*. 2012;81:687–714.
- Onal G, et al. *Lipids in Health and Disease*. 2017;16(1):1–5.
- Bianchi JJ, et al. *PLoS ONE*. 2015;10(6):e0128898.
- Follick A, et al. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2011;21(5):585–590.
- Sandoz PA, et al. *PLoS Biology*. 2019;17(12):e3000553.
- Gkogkolou P, Böhm M. *Dermato-Endocrinology*. 2012;4(3):259–270.
- Xu L, et al. *Lipids in Health and Disease*. 2016;15(1):1–3.
- Yuan Y, et al. *Lipids in Health and Disease*. 2017;16(1):1–9.
- Hansson GK, Hermansson A. *Nature Immunology*. 2011;12(3):204–212.
- Shashkin P, et al. *Current Pharmaceutical Design*. 2005;11(23):3061–3072.
- Den Hartigh LJ, et al. *Journal of Immunology*. 2010;184(7):3927–3936.
- Hanahan D, Weinberg RA. *Cell*. 2000;100(1):57–70.
- Cruz AL, et al. *Cell Death & Disease*. 2020;11(2):1–6.
- Cohen BC, et al. *PLoS ONE*. 2015;10(3):e0121645.
- Izmann JA, Carvalho P. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2019;20(3):137–155.
- Hermes A, et al. *Current Biology*. 2013;23(15):1489–1496.

Live Cytotoxicity Assay

- Méry B, et al. *Journal of Cell Death*. 2017;10:1179670717691251.
- Hughes JP, et al. *British Journal of Pharmacology*. 2011;162(6):1239–1249.
- Larsson P, et al. *Scientific Reports*. 2020;10(1):1–2.

Memo





グローバルにネットワークを広げ、最先端の科学をお客様に提供

本 社：〒134-0088 東京都江戸川区西葛西6-18-14 T.I.ビル Tel. 03-3686-4711

営業所：〒532-0003 大阪府大阪市淀川区宮原4-1-46 新大阪北ビル Tel. 06-6393-7411

URL: <https://www.tokyoinst.co.jp> Mail: sales@tokyoinst.co.jp



超高真空・極低温走査型プローブ顕微鏡
高速分光測定装置、クライオスタット



Nd:YAGレーザー、Ti:Sレーザー
OPOLレーザー

用途に合ったカスタム装置、産学連携の研究開発、技術相談、商品化依頼、輸入代行なども承っております。
お客様の問題解決や新規開発に役立つ製品を見つけられることを保証、また全力でサポートいたします。

総合カタログ2024-2026をお求めのかたはコチラ！

＊ 価格帯は、WEBカタログには付属しません。
配送分のみのお取扱いになります。



T O K Y O 2 3
FOOTBALL CLUB

東京インスツルメンツは、東京23FCを応援しています。

- 本カタログに記載されている内容は、改良のため予告無く変更する場合があります。（製品の仕様、性能、価格などはカタログ発行当時のものです）
- 本カタログに記載されている内容の一部または全部を無断で転載することは禁止されております。
- 本カタログに記載されているメーカー名、製品名などは各社の商標または登録商標です。

No.C-NL00-4501A.20260604