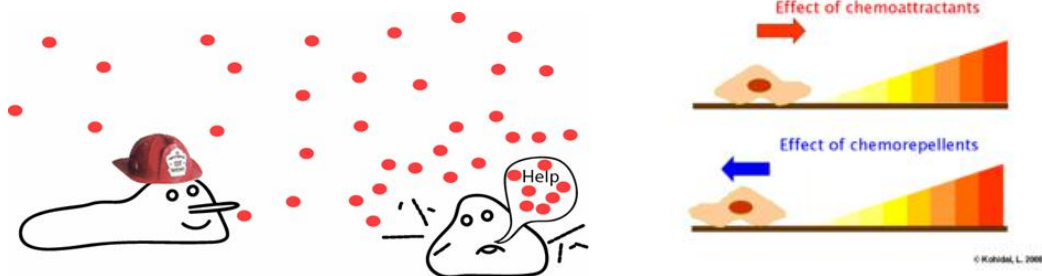


# 一种新型可视细胞趋化实验方法及系统搭建的介绍

广州科适特科学仪器有限公司

## 一. 细胞趋化实验原理

定义：趋化性（Chemotaxis，亦被称为化学趋向性）是趋向性的一种，指身体细胞、细菌及其他单细胞、多细胞生物依据环境中某些化学物质而趋向的运动。这对细菌寻找食物(如葡萄糖)十分重要，细菌以此趋进有较高食物分子浓度的地方，或远离有毒(如苯酚)的地方。在多细胞生物中，趋化性对其发展和其他正常功能一样不可或缺。正趋化性指趋向较高化学物质浓度的运动，而负趋化性则相反。



## 二. 目前细胞趋化实验方法的主要问题

目前一般做这个实验的方法：用 transwell 做，如下图，下部空间放诱导剂，上部空间放细胞，经过一定时间，数细胞穿到下部空间的数量（细胞染色或者把细胞擦下来再数），穿到下部的细胞越多，说明趋向性越强，进而得出细胞的趋化性结果。

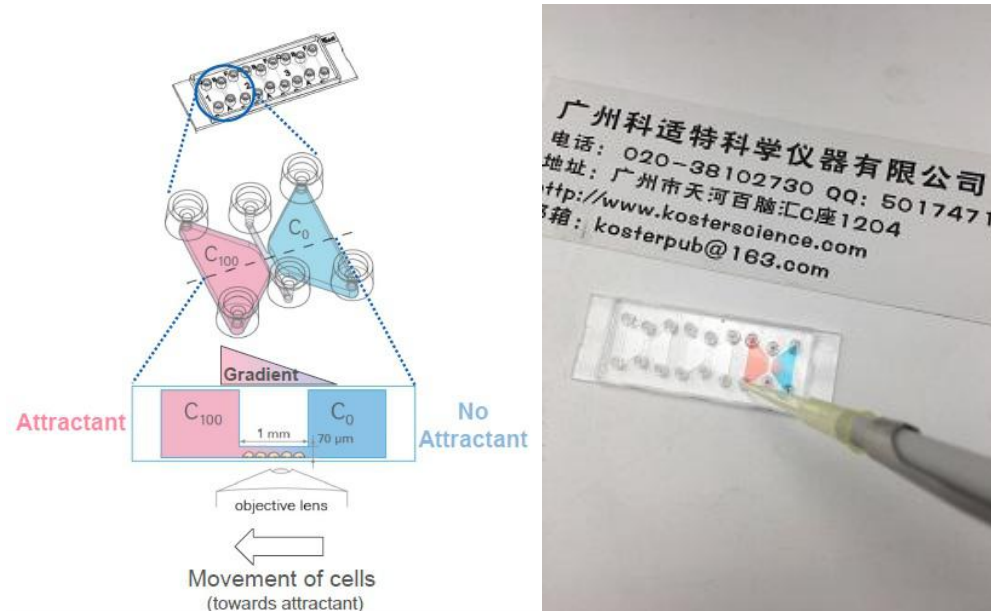


## 主要问题:

- (1) 由于显微镜工作距离的限制, 无法使用显微镜进行实时观察, 无法记录细胞趋化过程, 如果能够实时拍摄记录细胞趋化的过程, 实验结果更直观。
- (2) 采用末端点测量方式, transwell 只能数最终穿到下室的细胞数量, 细胞运动速度是没办法考察的。
- (3) 不稳定的浓度梯度, transwell 要做一系列的孔才能完成浓度梯度的趋化实验, 因为 transwell 每孔只能在下室放一个定值的浓度, 所以要做出系列浓度梯度, 就要做好几孔 (比如每孔分别设置 2, 4, 6, 8 个单位浓度, 这 2, 4, 6, 8 就是个梯度); 这个实验做浓度梯度的目的是看细胞是不是确实在诱导剂越浓的情况下有更强或更弱的趋向性 (或根据诱导剂浓度的升高有个趋向性的高低变化)。
- (4) 非生理实验环境, 生理状态下需要控制温度, 湿度, CO<sub>2</sub> 浓度, O<sub>2</sub> 浓度, 流体环境的。

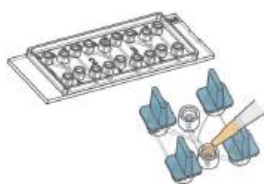
## 二. 可视化细胞趋化实验工作原理和流程

基本原理: 在两个大的蓄液池中通过一个大概 60u1 的狭窄观察区域相连, 细胞注入通道内的基质胶中, 在其上方形成线性和时间稳定的浓度梯度, 线性浓度梯度(维持 48 小时以上)。

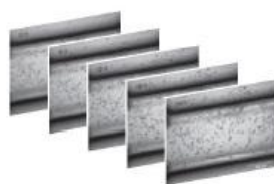


## 主要工作流程

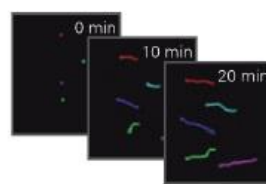
1. 细胞接种进行细胞趋化实验测试
2. 采用 KOSTERMAS 显微图像分析软件, TIME-LASPE 进行活细胞连续录像拍照 (每批次间隔 10 分钟)
3. 细胞轨迹追踪 (手动或者自动), 使用 ImageJ 软件, 下载细胞趋化和迁移 Plugin
4. 数据分析及评估, 使用 ImageJ 软件, 下载细胞趋化和迁移 Plugin



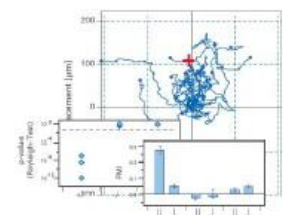
1. Cell seeding and chemotaxis assay



2. Acquisition of microscopy images



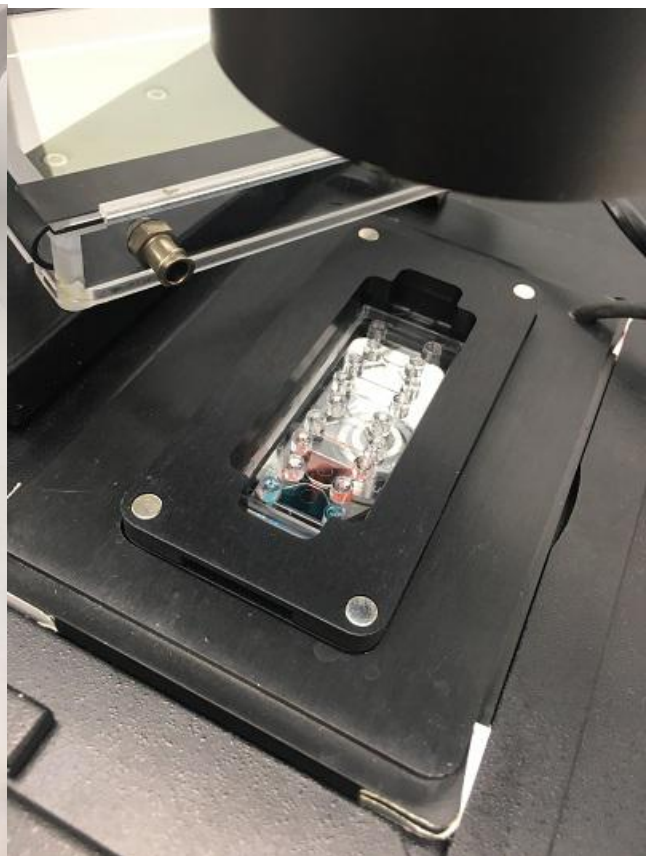
3. Cell tracking (manually or automated)

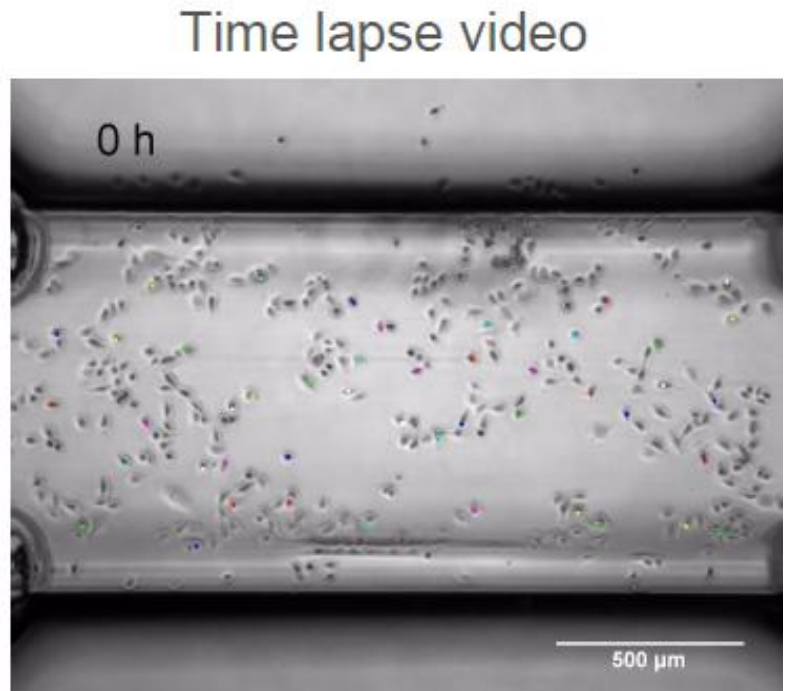


4. Data analysis and evaluation

## 三. 可视化细胞趋化实验工作解决方案和系统搭建

系统组成包含：(1)KOSTER IMC-800T 倒置相差显微镜(2)KOSTERCAM 500 万像素高分辨率摄像头及 KOSTERMAS 显微图像处理软件 (3) KOSTER & IBIDI 显微镜活细胞培养装置 (4) 细胞趋化通道载玻片 (5) ImageJ 软件, 细胞趋化和迁移 Plugin。





#### 四. 可视化细胞趋化实验系统优势

- (1) 系统采用的通道载玻片具有超薄底部及高质量光学性能，合适高端显微镜及获得优质的成像效果。
- (2) 能实时观察细胞趋化情况，计算每个细胞的趋化速率（通过后期实验数据分析，根据细胞的运动轨迹和时间算出运动速率），用 transwell 是做不到这点的（因为 transwell 只能数最终穿到下室的细胞数量，细胞运动速度是没办法考察的）；
- (3) 系统专门配置的通道载玻片适配器可提供加热，完整匹配显微镜系统，适合各种工作距离物镜。
- (4) 这个系统做出的浓度梯度可以维持 48 小时，对快速迁移细胞和慢迁移细胞都适用；也就是说，即使细胞运动很慢，也不用担心浓度梯度会因为放置时间稍长就消失了；
- (5) 除了做浓度梯度的细胞趋化实验，还可以做不同诱导剂的细胞趋化实验，观察细胞在不同诱导剂之间的选择，就是说，可以在两侧的三角形腔室放不同的诱导剂；
- (6) 这个产品还有配套的图像分析，录下完整的视频，就能把数据整理出来，数据包括了目标细胞的所有运动轨迹，速率等，7-10 个工作日出结果；
- (7) 可进行 2D 和 3D 的细胞趋化实验

#### 六. 部分参考文献

1. *The drebrin/EB3 pathway drives invasive activity in prostate cancer. Oncogene (2017) 36, 411 –4123.* AE Dart<sup>1</sup>, DC Worth<sup>1</sup>, G Muir<sup>2</sup>, A Chandra<sup>3</sup>, JD Morris<sup>4</sup>, C McKee<sup>5</sup>, C Verrill<sup>6</sup>, RJ Bryant<sup>6</sup> and PR Gordon-Weeks
2. *A RAB35-p85/PI3K axis controls oscillatory apical protrusions required for efficient chemotactic migration . NATURE COMMUNICATIONS | (2018) 9:1475* Salvatore Corallino<sup>1</sup>, Chiara Malinverno<sup>1</sup>, Beate Neumann<sup>2</sup>, Christian Tischer<sup>2</sup>, Andrea Palamidessi<sup>1</sup>, Emanuela Frittoli<sup>1</sup>, Magdalini Panagiotakopoulou<sup>3</sup>, Andrea Disanza<sup>1</sup>, Gema Malet-Engra<sup>1</sup>, Paulina Nastaly<sup>1</sup>, Camilla Galli<sup>1</sup>, Chiara Luise<sup>4</sup>, Giovanni Bertalot<sup>4</sup>, Salvatore Pece<sup>4</sup>, Pier Paolo Di Fiore<sup>1,4,5</sup>, Nils Gauthier<sup>1</sup>, Aldo Ferrari<sup>3</sup>, Paolo Maiuri<sup>1</sup> & Giorgio Scita<sup>1,5</sup>