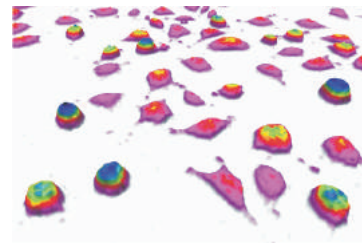
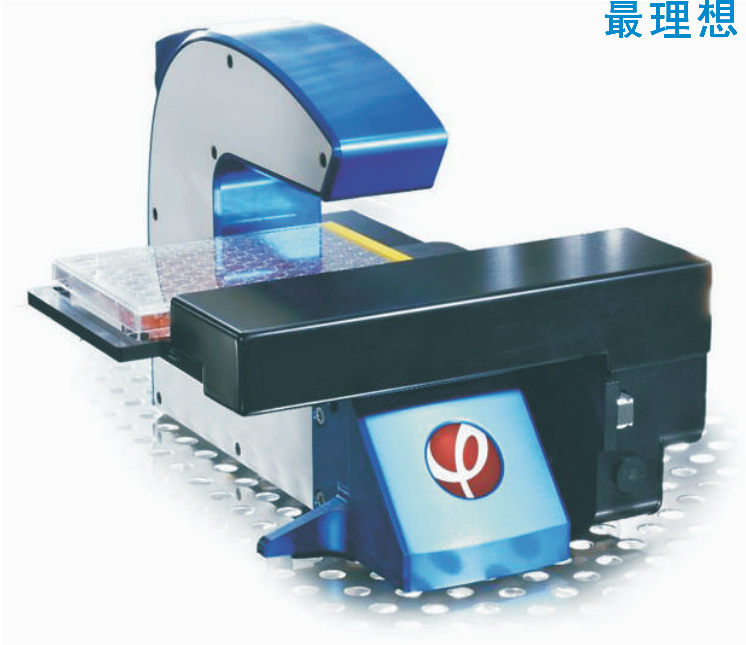


# HoloMonitor<sup>®</sup> M4

最理想的非标记、类流式细胞分析系统



# 激光全息细胞成像系统

随着干细胞，肿瘤研究，新型药理，神经研究，毒理及其他相关疾病研究在全球范围内的蓬勃开展，科研人员迫切要求能够在正常生理状态下（无荧光标记）开展细胞成像分析，确保得到更加准确的数据及实验结果。数字全息细胞分析（Digital holographic cytometry, DHC）允许对哺乳动物细胞进行长期、无标记、无光毒性的成像。运用全息技术，可以随时监测单个细胞，同时获得种群数据，这使得观察不同行为的子群体成为可能。

M4激光全息细胞成像分析系统由瑞典隆德大学研制。配备自动化的分析软件实现无标记，非侵入实时细胞成像分析，提供完整的细胞形态学参数及运动性分析，并对实验数据提供散点图，柱状图等类流式分析，可广泛应用于细胞增殖，分化，计数，迁移，周期，凋亡等方面研究。

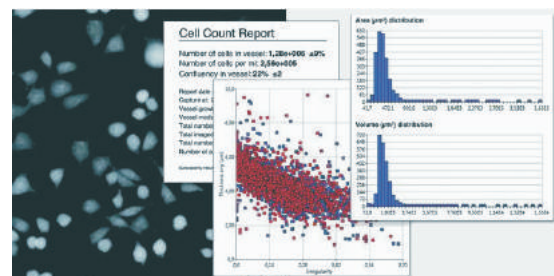


M4激光全息细胞成像及分析系统

## 细胞生长分析

评估细胞培养的完整性以及细胞增长的动力学曲线，进行细胞群体统计。

- 快速进行细胞培养定量和质控
- 细胞计数动力学曲线和细胞聚集度追踪
- 细胞增殖率和形态变化

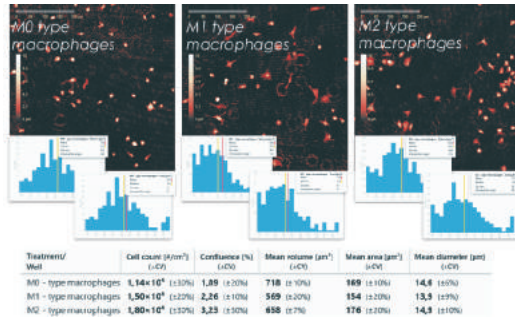


对细胞进行设门 (gating)，进行细胞的类流式分析

## 细胞生长状态和质控

使用Holomonitor确保细胞持续定量，在细胞实验前快速评估细胞培养的质量。

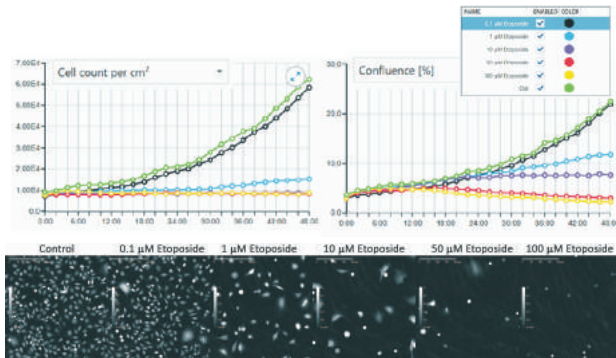
细胞质控分析借助细胞聚集度以及细胞数量来揭示细胞群体的连续变化。每个孔内可任意选点进行图片采集还可以进一步分析细胞的形态以及细胞变化的其他重要参数。



不同处理组细胞样品，细胞数量（个数/cm<sup>2</sup>）聚集度，平均体积、平均面积，平均直径的实时数值分析。以及体积或面积对应的细胞个数的柱状分布图。

## 细胞增殖的动力学评估

Holomonitor系统实时检测细胞增殖，同时评估细胞数量和聚集度。软件可以自动识别细胞并计数，可同时提供单个细胞和群体的数据。

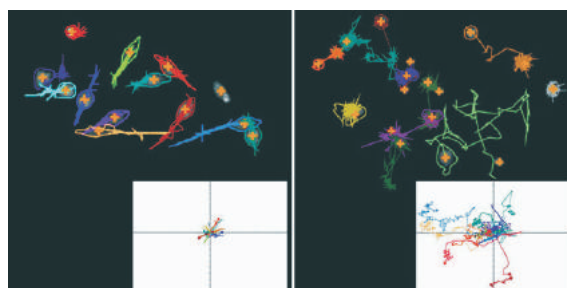


左右两图示加入不同药物（剂量）后细胞数量随时间变化的曲线图

细胞聚集度随时间变化的曲线图

## 细胞运动分析

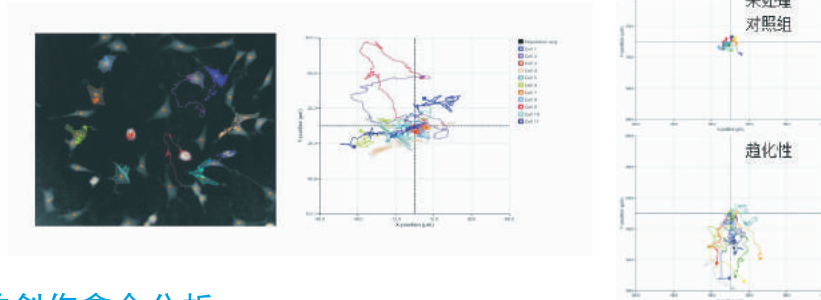
监测细胞运动模式并分辨细胞随机运动以及定向的细胞迁移。包括：智能细胞划分及追踪感兴趣的细胞；细胞运动速率以及细胞迁移速率测量；创伤愈合过程细节观察。



小鼠巨噬细胞M1和M2的运动迁移轨迹图谱

## 最强大的单细胞运动分析

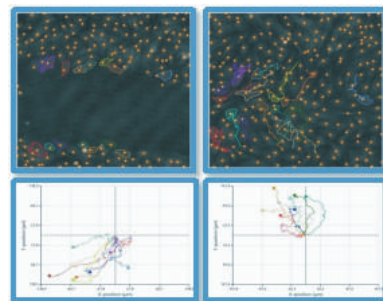
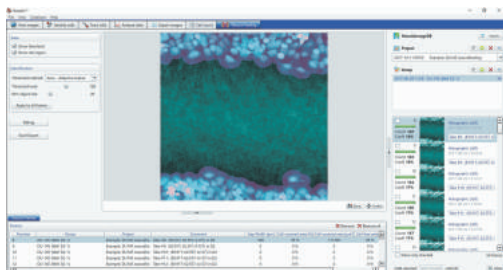
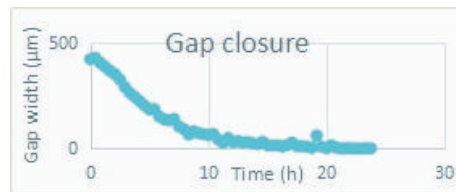
理解细胞在培养状态的运动有助于理解细胞在生物体内的运动和信号传递。细胞运动可以分为间接的运动速率和直接的迁移速度。随机运动发生在每个细胞的培养过程中，而迁移是细胞对诱导剂以及抑制剂的应答。



## 群体细胞的创伤愈合分析

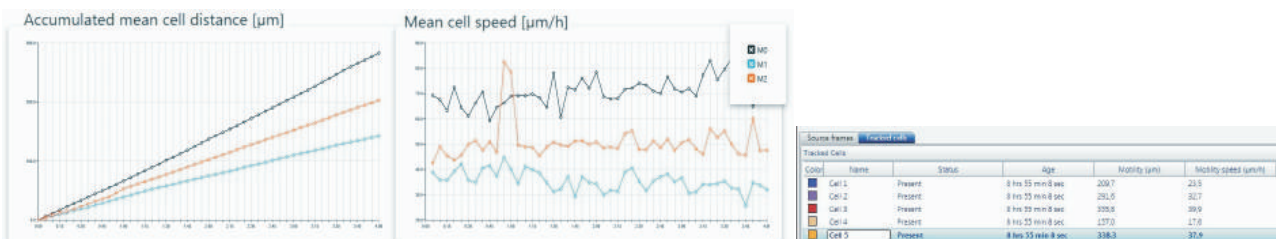
HoloMonitor不限于细胞群体水平，如gap愈合的进度，还关注单个细胞的运动。特别是划痕边缘细胞的定向迁移。借助专用的培养材料，划痕不会形成死细胞堆积，不影响在划痕周围的细胞运动。

- 阐述细胞是如何向划痕中间运动的
- 对于划痕愈合速率和动力学变化的追踪
- 细胞朝向运动速率
- 划痕边缘目标细胞迁移轨迹



## 细胞运动速率，迁移距离量化

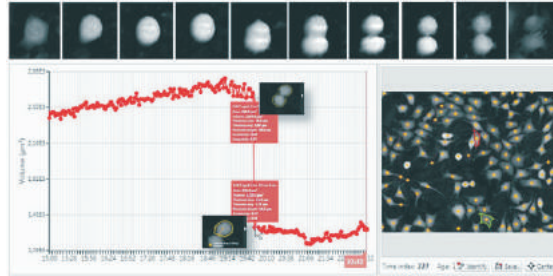
研究细胞，尤其是癌症细胞的迁移速率，迁移距离以及运动速率是评估癌症细胞活性很重要的指标。HoloMonitor可以实时追踪细胞的运动和迁移过程，并描绘出每个细胞的迁移轨迹，得到每个细胞的迁移距离和运动速率。



揭示细胞群体运动的时间变化曲线

## 细胞周期

基于可靠的自动化细胞轮廓划分，自动测量减数分裂和细胞质分裂，将不同视野的细胞图片和细胞数量直接挂钩，轻松得到精准的细胞数量。

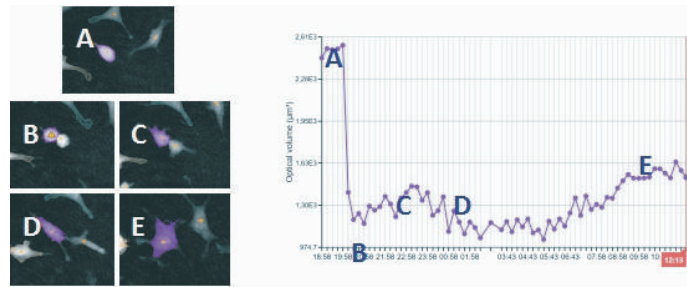


对于目标细胞的光学体积的追踪

## 分裂周期分析

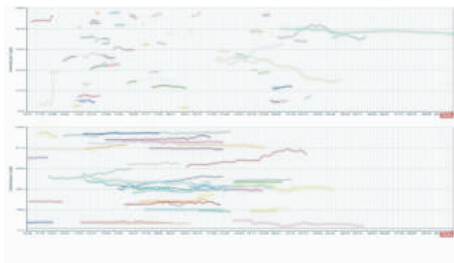
细胞周期的持续时间因各种原因变化剧烈，但有丝分裂的持续时间一般比较固定且极其短暂。化学试剂以及其它环境因子，都有可能影响有丝分裂的持续时间。

HoloMonitor 追踪细胞运动轨迹的同时，还可记录细胞形态参数的变化，将两者结合就可以进行细胞周期的分析。

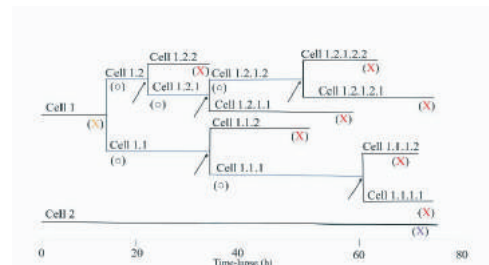


基于上侧图片中形态上的变化，HoloMonitor软件即可得到下面的数据

Color	Name	Daughter of	Daughters	Status	Age	Motility (µm)	Motility speed (µm/h)	Migration (µm)	Migration directness (img)
Blue	Cell 1		2	Not present					
Blue	Cell 1-1	Cell 1	0	Present	18 hrs 55 min 55 sec	394.0	23.7	82.3	0.25
Blue	Cell 1-2	Cell 1	1	Present	18 hrs 55 min 55 sec	276.1	22.4	143.2	0.39
Red	Cell 1.2.1	Cell 1-2	0	Present (past by user)	0 sec	0.0	0.0	0.0	1.00



追踪父代分裂成子代1，子代1又进行分裂的时间间隔



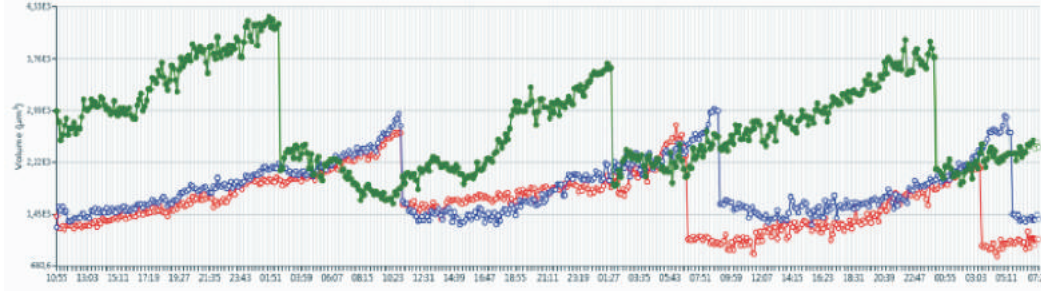
根据上面的追踪结果我们可以描绘细胞树

HoloMonitor细胞追踪工具检测细胞有丝分裂的持续时间。每种颜色线对应一种有丝分裂的细胞。左图显示对照组，右图显示的是加入细胞抑制剂之后的图表。由此可见，这种细胞抑制剂显著地延长了细胞有丝分裂的持续时间。

## 药物应答分析

### 评估药物在细胞周期方面的影响

Holomonitor检测细胞体积和细胞厚度的变化，得到的结果包括单个细胞的数据也包括完整群体的数据：评估细胞周期持续时间；监测药物诱导形成的细胞变化；检测药物对细胞周期阶段分布的影响。



光学体积随时间的变化图表显示三种细胞正在经历分裂过程（红色，蓝色和绿色）

Digital holographic microscopy for non-invasive monitoring of cell cycle arrest in L929 cells, PLOS One 2014

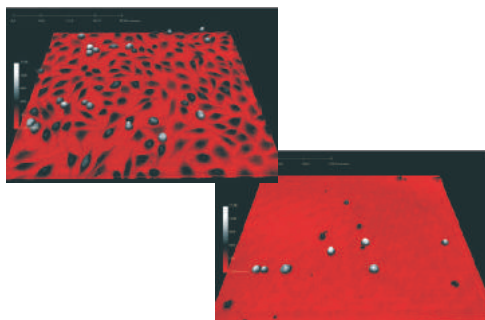
分析细胞毒性效应，理解细胞死亡的过程。通过评估细胞在形态和增殖方面的动力学变化；平行对比处理组与对照组的细胞数量，聚集度，形态参数的变化，评估药物对细胞的影响。

### 细胞生长应答

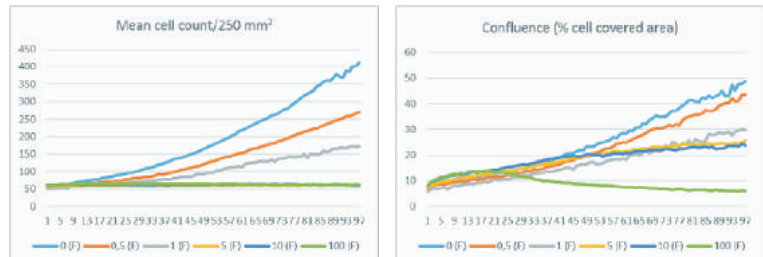
细胞毒性分析广泛应用于基础研究，以及药物研发中涉及到的筛选毒性复合物文库。毒性效应包括细胞凋亡和细胞坏死，或者生长抑制，终止细胞的活跃性生长和分裂。最终导致细胞数量的下降。细胞计数，聚集度分析和形态学分析均是毒性分析不可或缺的重要研究内容。

应用HoloMonitor的细胞增殖动力学曲线，包括细胞计数和细胞聚集度分析，多组细胞处理同时进行，数据可以同时分析得到：

- 多种复合物，不同浓度剂量和非处理组同时比较，十分简单；
- 区分整个生长抑制和细胞增殖受损两种情况；
- 针对不同的毒素复合物，毒性剂量应答曲线和已知的IC50值相关联，更好地对毒性进行分析。



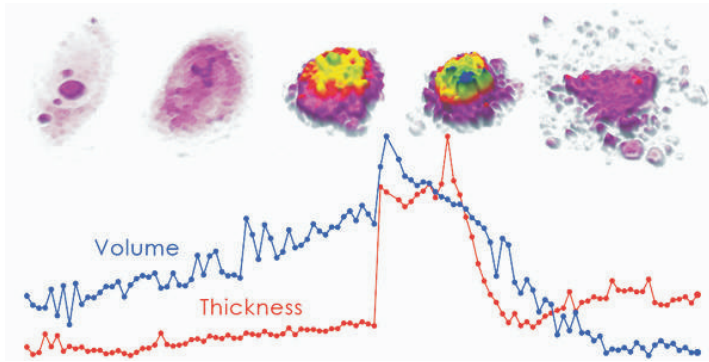
L929用依托泊苷处理组和对照组的照片



不同剂量的依托泊苷处理L929细胞，分析细胞数量和聚集度。数据来源于 Label-free high temporal resolution assessment of cell proliferation using digital holographic microscopy. Cytometry part A2017.

## 细胞凋亡动力学

细胞凋亡过程中，细胞会先经历形态的变化，期间细胞膜完整性丧失而导致细胞坏死，以及快速死亡；或者细胞程序性死亡。健康的细胞大多是规则的，相对更薄；而正在经历死亡的细胞，通常更小，不规则和更加厚。分析这些特性可以更详细解释细胞程序死亡，不仅对单细胞，也对群体细胞。

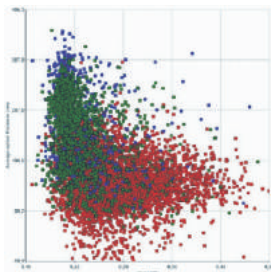


DU-145前列腺癌细胞的细胞凋亡。表格阐释了细胞形态是如何变化的，细胞体积和厚度的变化，先于实际的细胞死亡。

可以捕捉药物处理后，细胞死亡前各种慢动作

相关一系列参数的改变，通过time-lapse 成像可以用于长期研究和分析正在死亡的细胞。

- 分析数据包括单一细胞和整个群体细胞；
- 在细胞死亡发生前，检测药物应答的早期特征；
- 高速图像捕捉，重要的细胞时间不会被忽视；
- 对形态学参数进行定量和动力学评估，包括细胞体积，面积，厚度和不规则度等等。



本图表说明处理组细胞和非处理组细胞在细胞毒素的压力下形态参数是如何发生变化的。在这个例子中，是采用的细胞厚度和不规则度作为横纵坐标轴。绿点代表对照组，蓝点和红点代表用依托泊苷处理L929细胞。

## 参考文献

Loss of Era induces amoeboid-like migration of breast cancer cells by downregulating vinculin.

**Nature Communication 2017** 第四军医大学肿瘤国家重点实验室

NatD promotes lung cancer progression by preventing histone H4 serine phosphorylation to activate Slug expression

**Nature Communication. 2017** 南京大学生科院

Live-cell mass profiling: an emerging approach in quantitative biophysics

**Nature Methods 2014**

## 技术参数

技 术	数字全息技术，自动聚焦
样品载物台	XYZ三轴电动载物台
CCD相机	1024×1024 像素，
光 源	635nm激光
物 镜	20x全息物镜
横向分辨率	<1 $\mu$ m
视 野	约0.25 mm <sup>2</sup>
工作距离	0.5 - 2 mm
数字聚焦范围	约1.5mm
曝光时间	5ms,非扫描
图像捕获速度	4 fps
样品照度	约0.1 mW/cm <sup>2</sup>
操作温度	10 - 40°C
湿 度	最大95%
电脑配置	Windows7/8,64-bit,8GB RAM
细胞样品	单层真核贴壁细胞
培养容器	微孔板，培养瓶，培养皿，微玻片
CE Mark	EN 611010-1



深圳市恩科生物科技有限公司 <http://www.enco-bio.com/>

公司地址：深圳市南山区桃源街道红花岭工业区朋年科技园A栋511

售前咨询：刘经理：18565807701、辛经理：18122066801

电话：0755-86000169 / 0755-26418142

邮箱：info@enco-bio.com

售后：王工：17722676837、余工：18122066802