응용 자료

세포 분석

Agilent
Trusted Answers

효율적인 슬라이드 기반 조직 이미징에 대한 연구 워크플로우

Agilent BioTek Cytation 9 세포 이미징 멀티모드 리더를 활용한 형광, 컬러 명시야 기반의 타겟 ROI 획득

저자

Michael Sfregola 박사,
Joe Clayton 박사,
Agilent Technologies, Inc.

개요

이 응용 자료에서는 Agilent BioTek Cytation 9 세포 이미징 멀티모드 리더를 사용하여 조직 슬라이드에 대한 이미징을 소개합니다. H&E 염색 조직 절편, 형광 조직 절편, 마이크로어레이 형태로 준비된 조직 샘플에 대해 형광 및 컬러 명시야 획득 방식으로 이미징했습니다. 이 예에서는 자동 보정, 레이저 오토포커스, 높은 개구수 대물렌즈 및 관심 영역(ROI) 기반 획득을 통해 조직 수준의 맥락과 세포 수준의 세부 정보를 유지하면서 연구 규모의 슬라이드 이미징을 얼마나 효율적으로 지원할 수 있는지 보여줍니다.

소개

조직 기반 이미징은 연구자가 세포 기전, 바이오마커 발현 및 조직 구조를 분석 결과와 연계하는 데 도움이 됩니다. 이러한 맥락은 마이크로플레이트 기반 분석, 라이브셀 및 고정 세포 이미징, 슬라이드 장착 조직 시료를 아우르는 연구에서 특히 유용합니다. 이러한 워크플로우에서 슬라이드 이미징은, 기존 실험 시스템과 원활하게 연계되어 워크플로우를 불필요하게 복잡하게 만들지 않으면서도 조직의 형태적 맥락을 명확하게 보여줄 때 그 가치를 더합니다.

Cytation 9 세포 이미징 멀티모드 리더는 자동화된 현미경 환경에 슬라이드 이미징 기능을 통합하여, 세포 및 어세이 기반의 다양한 응용까지 지원합니다. 이 단일 시스템은 형광 현미경, 컬러 명시야 이미징, 고해상도 대물렌즈 및 마이크로플레이트 기반 이미징 기능을 모두 하나로 결합한 장비입니다. 이 응용 자료에서는 여러 유형의 슬라이드 장착 시료를 평가하여 이미지 품질, 획득 효율성, 그리고 조직 절편 및 어레이형 조직 시료에서 타겟 ROI 이미징의 실용적인 활용을 보여줍니다.

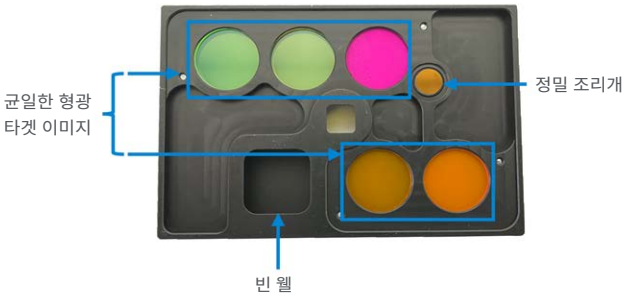
실험

슬라이드에 장착된 형광 및 컬러 명시야 시료를 Cytation 9 자동화된 이미징 시스템으로 이미징했습니다. 이 시스템은 높은 개구수 아포크로매트 대물렌즈, 레이저 오토포커스, 형광 필터 세트 및 컬러 명시야 조명을 탑재하도록 구성되었습니다. 이미지 획득, 자동 보정, 오버뷰 이미징, ROI 검출 및 스티칭 이미지 생성을 위해 이미징 및 현미경용 Agilent BioTek Gen5 소프트웨어를 사용했습니다.

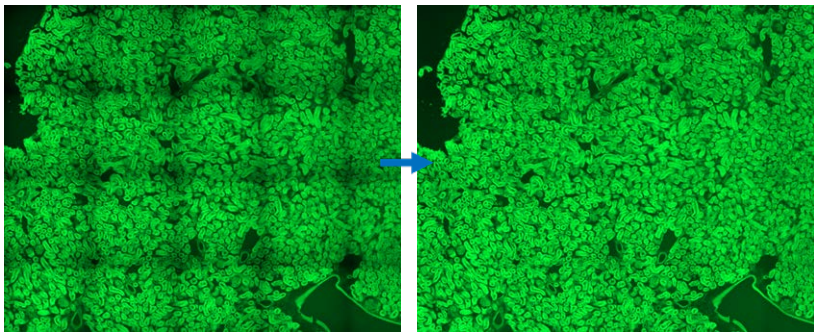
시료를 획득하기 전에 자동 보정 루틴을 사용하여 광학 보정, 플랫 필드 교정 및 화이트 밸런싱을 수행했습니다. 보정 플레이트에는 100µm 정밀 조리개와 균일한 형광 강도를 갖는 5개의 표적이 포함되어 있습니다. 각 대물렌즈와 색상 조합에 대한 보정 이미지를 획득했으며, 이후 획득 과정에서 이미지 교정이 자동으로 적용되었습니다(그림 1).

시료에는 형광 염색 마우스 결장 및 신장 조직 절편, H&E 염색 마우스 배아 및 인간 신장 절편, 그리고 72개 코어로 구성된 H&E 염색 사람 정상 장기 조직 마이크로어레이가 포함되었습니다. 저배율 오버뷰 이미징을 사용하여 조직 위치를 식별했습니다. 그런 다음 20x 또는 40x 아포크로매트 대물렌즈를 사용하여 고배율 이미지를 획득했으며, 레이저 오토포커스를 사용하여 커버슬립 반사로부터 초점면을 결정했습니다. ROI 기반 워크플로우에서는 Agilent BioTek Gen5 자동 관심 영역(AutoROI) 모듈을 사용하여 조직이 포함된 영역을 식별하고 고배율 획득에서 비어 있는 슬라이드 영역을 제외했습니다.

A



B



C

	20x 아포크로매트	40x 아포크로매트
개구수	0.8	0.95
분해능(nm)	279	235
작동 거리(mm)	0.6	0.2
시야(mm)	0.7 x 0.7	0.35 x 0.35

D



그림 1. 자동화된 슬라이드 이미징을 위한 Agilent BioTek Cytation 9 세포 이미징 멀티모드 리더의 기능. (A) 자동 스테이지 정렬 및 조명 보정을 위한 정밀 보정 도구. (B) 형광 및 컬러 명시야 이미징 모드에서 타일링 아티팩트를 제거하기 위해 몽타주 이미지 획득 중에 보정 기능이 자동으로 적용됩니다. (C) 광시야 카메라와 고해상도 Olympus UPLXAPO 20x 0.8NA 및 UPLXAPO 40x 0.95 NA 대물렌즈 탑재. (D) 호환되는 Agilent BioTek BioStack 마이크로플레이트 스태커를 사용하면 Cytation 9의 슬라이드 처리량을 최대 120개의 현미경 슬라이드까지 확장할 수 있습니다.

결과 및 토의

다중 형광 조직 이미징

다중 형광 이미징을 통해 연구자는 온전한 조직 내에서 바이오마커, 세포 유형 및 구조적 특징이 어떻게 구성되어 있는지 조사할 수 있습니다. 100µm 두께의 마우스 결장 절편(Mouse Colon, 4-color, OptiSlides; Luxidea; Calgary, AB, Canada)을 4개의 형광 채널로 이미징하여 핵, 세포골격, 뉴런 및 혈관을 시각화했습니다(그림 2A).

4x 오버뷰 이미지를 사용하여 조직 영역을 확인한 후, DAPI, GFP, TRITC 및 Cy5 채널에서 20x 및 40x 아포크로매트 대물렌즈를 사용하여 고배율 이미징을 수행했습니다. 20x 획득에서는 46초 동안 48개의 이미지로 2.2mm^{2}의 시료 영역을 포괄했습니다. 40x 획득에서는 4분 30초 동안 252개의 이미지를 생성했습니다(표 1).

16µm 두께의 마우스 신장 절편(FluoCells Prepared Slide #3; Thermo Fisher; Waltham, MA, USA)을 3개의 형광 채널로 이미징하여 핵, 원형질막 및 세포골격을 시각화했습니다(그림 2B). 4x DAPI 오버뷰 이미지를 사용하여 조직 영역을 확인한 후, DAPI, GFP 및 TRITC 채널에서 20x 아포크로매트 대물렌즈를 사용하여 고배율 이미징을 수행했습니다. 최종 이미지 세트는 819개의 이미지로 구성되었으며, 14분 이내에 63mm^{2}의 시료 영역을 포괄했습니다(표 1). 이 예에서 스티칭 이미지는 광범위한 조직 구조와 세포 수준의 세부 정보를 모두 제공하여 단일 워크플로우 내에서 마커 위치와 조직 구성을 평가할 수 있도록 해줍니다.

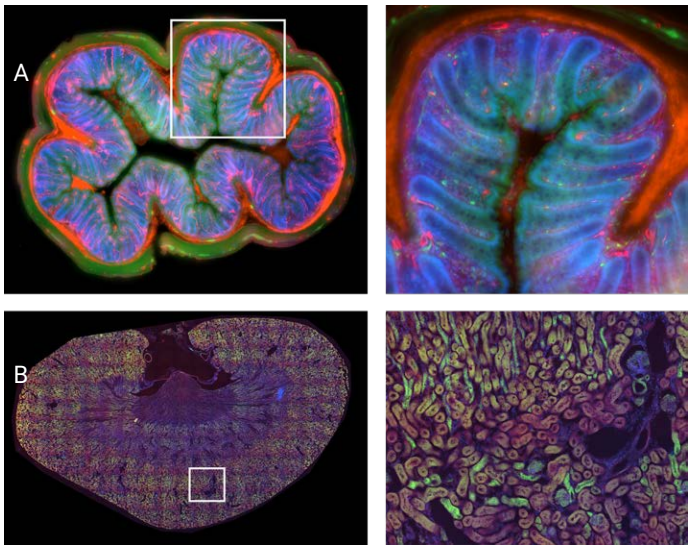


그림 2. 준비된 조직 슬라이드의 다중 채널 면역형광 이미징. (A) 4개의 형광 마커인 핵(DAPI), 뉴런(GFP), 세포골격(TRITC) 및 혈관(Cy5)으로 표지된 40x 마우스 결장 절편. (B) 3개의 형광 마커인 핵(DAPI), 밀배아 응집소(GFP) 및 액틴(TRITC)으로 표지된 20x 마우스 신장 절편.

표 1. 시료 및 슬라이드 이미징 획득 세부 정보.

	마우스 결장	마우스 신장	인체 조직 마이크로어레이	마우스 배아	인체 신장
염색	핵 DAPI 뉴런 Dylight 488 비멘틴 Dylight 550 혈관 Dylight 649	핵 DAPI WGA Alexa Fluor 488 팔로이딘 Alexa Fluor 568	H&E	H&E	H&E
파장 수	4	3	**3**	**3**	**3**
시료 영역	2.2. mm^2	63mm^2	**156mm^2**	**60mm^2**	**39mm^2**
배율	20x	20x	**20x**	**20x**	**20x**
총 이미지 수	**48**	**819**	**5841**	**615**	**1230**
획득 시간(분)	**0.8분**	**13.7분**	**37.9분**	**7.5분**	**5.1분**
정규화 시간(10×10mm)	**36분**	**22분**	**24분**	**13분**	**13분**

컬러 명시야 조직학적 이미징

컬러 명시야 이미징은 조직 형태를 평가하고 구조적 맥락을 표적 마커 정보와 연계하는 데 여전히 중요합니다. Cytation 9은 자동 화이트 밸런싱과 순차적으로 제어되는 적색, 청색 및 녹색 조명을 사용하여 고해상도 트루 컬러 조직학 이미지를 획득합니다. 이 기능은 동물 및 인체 시료를 나타내는 대형 H&E 염색 조직 절편을 사용하여 평가했습니다.

H&E 염색 마우스 배아 절편(지역 연구 기관 제공)을 20x 아포크로매트 대물렌즈로 이미징했습니다(그림 3A). Gen5 AutoROI 모듈을 사용하여 4x 오버뷰 이미지에서 조직 영역을 자동으로 검출함으로써 고배율 획득 중에 비어 있는 영역을 건너뛸 수 있었으며, 획득 시간은 7.5분이었습니다. 만성 신장염이 있는 H&E 염색 인간 신장 절편(Konus; Medley, FL, USA)을 동일한 워크플로우를 사용하여 이미징했습니다(그림 3C). 신장 절편의 면적은 38mm^{2}였으며, 20x 배율로 이미징하는 데 5분 남짓 걸렸습니다(표 1).

최종 스티칭 이미지는 조직 절편 전체의 형태를 온전히 보여주면서도, 부분 확대(Inset) 영역에서는 세포 수준의 디테일을 선명하게 유지했습니다. 이러한 결과는 조직학적 이미징을 기존의 세포 및 어세이 기반 연구와 별개로 진행하지 않고도, 컬러 명시야 슬라이드 이미징을 보다 광범위한 현미경 워크플로우에 매끄럽게 통합할 수 있음을 보여줍니다.

타겟 이미지 획득을 이용한 조직 마이크로어레이 이미징

조직 마이크로어레이는 수많은 관련 조직 시료를 유사한 염색 및 이미징 조건에서 비교해야 할 때 유용합니다. Gen5 AutoROI 모듈을 사용하여 72개 코어로 구성된 H&E 염색 마이크로어레이를 이미징했습니다(FDA 인체 정상 장기 조직; US Biomax, Inc.; Derwood, MD, USA). 4x 오버뷰 이미지를 생성했으며, 각 조직 코어의 위치와 면적을 자동으로 검출했습니다. 20x 아포크로매트 대물렌즈를 사용하여 각 조직 코어의 고배율 이미지를 획득했습니다(그림 3B).

코어 사이의 비어 있는 영역을 제외한 전체 조직 면적은 156mm^{2}였습니다. 이미지 획득 시간은 코어당 약 30초였으며, 총 소요 시간은 약 38분이었습니다(표 1). 이 워크플로우는 타겟 이미지 획득을 통해 실제 조직 영역만을 인식하고, 일관된 이미지 획득을 지원하며, 코어 사이의 빈 공간을 제외시키는 방법을 보여줍니다. 이를 통해 어레이형 조직 이미징 작업의 효율성을 크게 높일 수 있습니다.

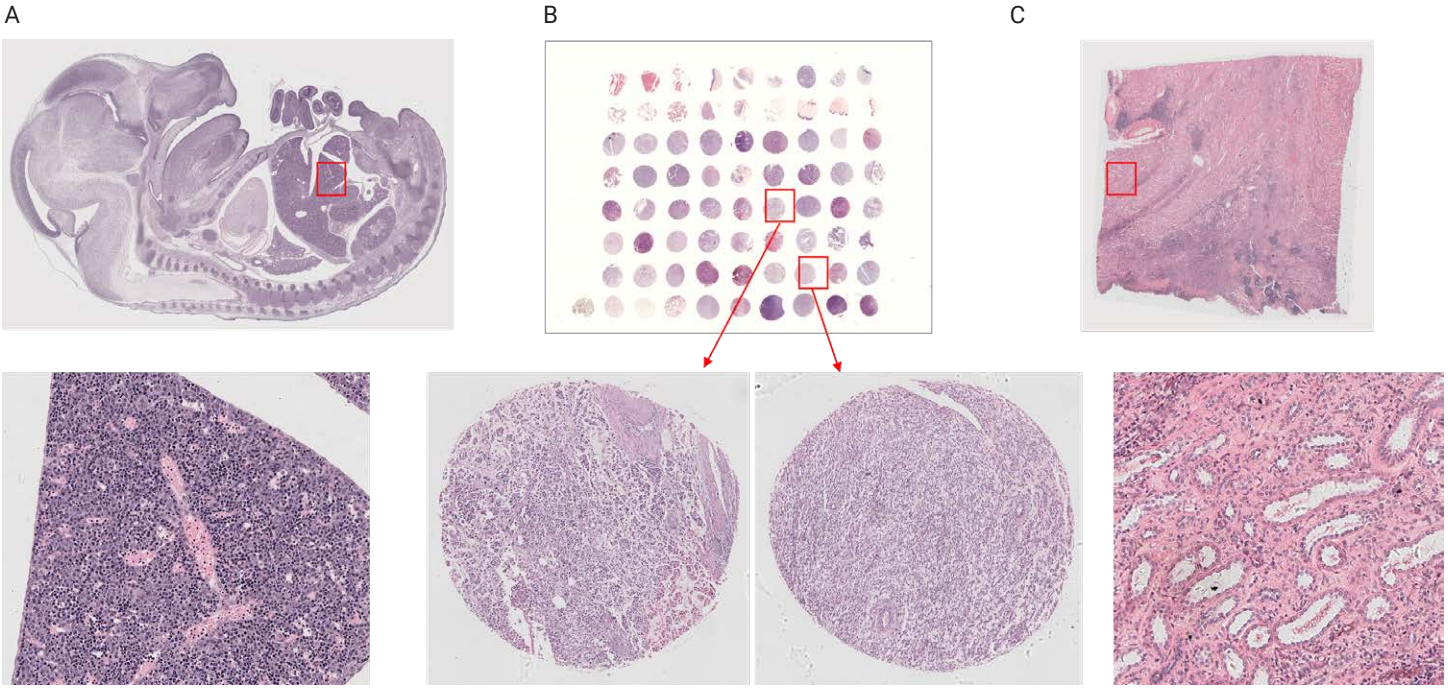


그림 3. 대면적 H&E 조직 슬라이드의 컬러 명시야 이미징. (A) 마우스 배아 전체(상단) 및 고배율 관심 영역(하단). (B) 인간 정상 장기 조직 마이크로어레이(상단) 및 2개의 고배율 조직 코어(하단). (C) 인간 신장 조직 샘플(상단) 및 고배율 관심 영역(하단).

ROI 기반 워크플로우 및 슬라이드 처리량

슬라이드 장착 조직 워크플로우의 실질적인 효율성은 슬라이드 처리량뿐 아니라 의미 있는 시료 영역에 집중하여 이미지를 획득할 수 있는지에 따라서도 달라집니다. Cytation 9은 관심 영역 기반 워크플로우를 사용하여 고배율 이미지 획득 전에 저배율 오버뷰 이미지를 캡처합니다(그림 4). 그런 다음 사용자가 조직 영역을 직접 선별하거나 Gen5 AutoROI 모듈을 사용하여 자동으로 검출할 수 있습니다. 이를 통해 비어 있는 영역을 건너뛸 수 있으므로 최종 이미징 영역에 대한 사용자의 컨트롤을 유지하면서 요구되는 획득 시간과 저장 공간을 줄일 수 있습니다.

Cytation 9을 Agilent BioTek BioStack 마이크로플레이트 스태커와 통합하여 슬라이드 처리량을 확장할 수 있습니다. 4개 슬라이드 장착용 홀더를 다수 활용하고, 30개 플레이트 스택을 사용하면 최대 120개의 슬라이드를 처리할 수 있습니다. 배치 워크플로우에서는 먼저 오버뷰 이미지를 획득하고 ROI를 지정하거나 수정한 다음, 선택한 조직 영역의 고배율 이미징을 위해 전체 배치 작업을 승인할 수 있습니다. 이 접근 방식은 사용자가 선택하거나 소프트웨어가 검출한 조직 영역에 이미지 획득을 집중하면서 일상적인 배치 이미징을 지원합니다.

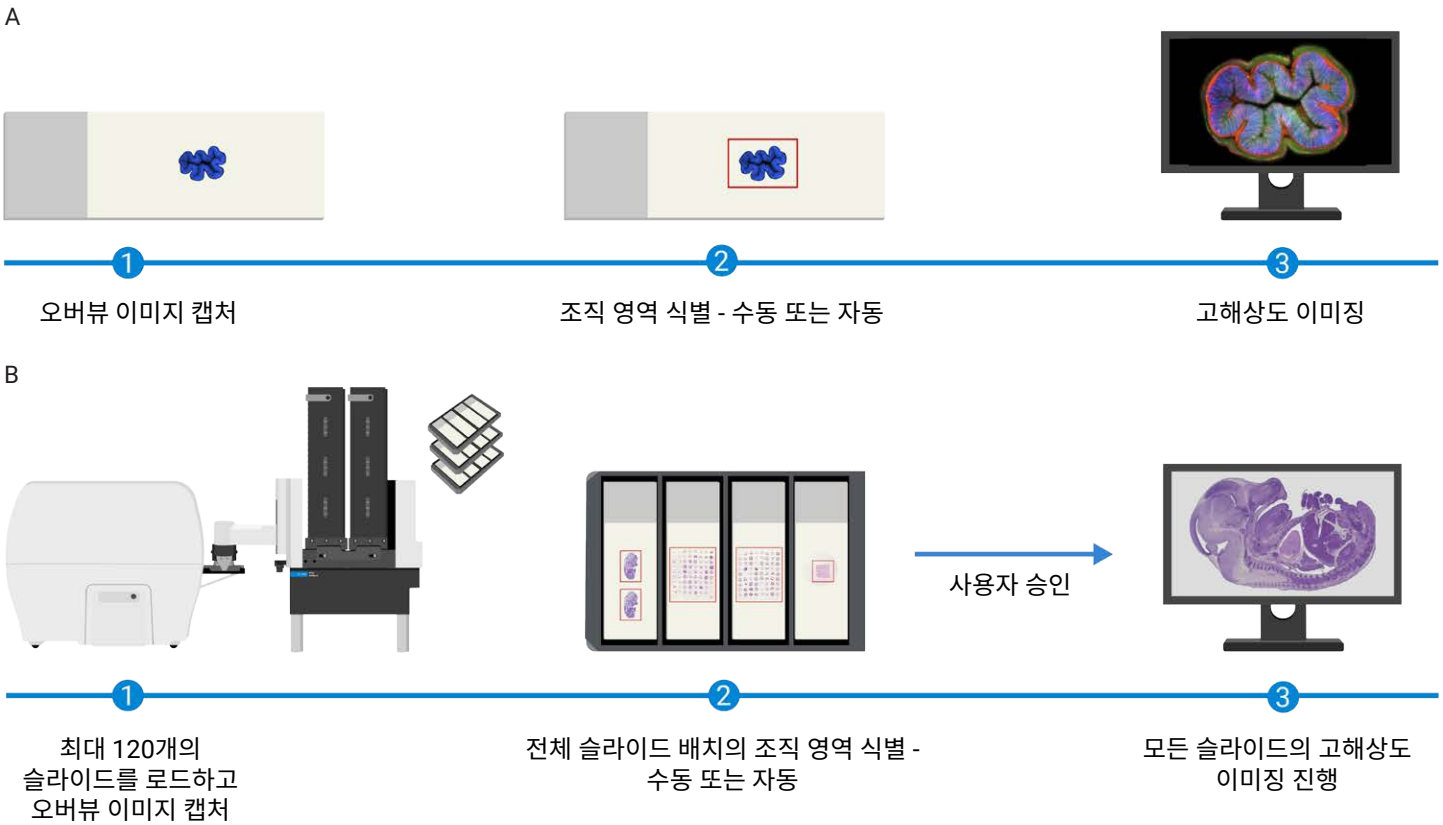


그림 4. (A) 슬라이드 이미징 워크플로우. 각 슬라이드 영역의 오버뷰 이미지는 자동으로 캡처됩니다. 조직을 수동 또는 자동으로 확인한 후, 확인된 모든 영역에 대해 고해상도 다중 채널 이미징을 수행합니다. (B) 대용량 이미징 워크플로우. Agilent BioTek BioStack 마이크로플레이트 스태커는 최대 120개의 슬라이드를 처리할 수 있습니다. 조직 영역을 확인하기 전에 모든 슬라이드의 오버뷰 이미지를 캡처합니다. 사용자가 승인하면 모든 슬라이드와 모든 영역에 대해 고해상도 이미징을 수행합니다(n=96).

결론

Agilent BioTek Cytation 9 세포 이미징 멀티모드 리더는 H&E 염색 및 형광 조직 절편과 조직 마이크로어레이를 비롯한 여러 유형의 슬라이드 장착 조직 시료로부터 고해상도 형광 및 컬러 명시야 이미지를 획득했습니다. 자동 보정, 레이저 오토포커스, 높은 개구수 대물렌즈 및 ROI 기반 획득은 비어 있는 슬라이드 영역을 획득하는 불필요한 작업을 줄이면서 일관된 이미징을 지원했습니다. 이러한 기능을 통해 슬라이드 장착 조직 이미징을 라이브셀 및 고정 세포 이미징과 마이크로플레이트 기반 이미징을 포함하는 보다 광범위한 연구 워크플로우에 통합할 수 있습니다.

이 응용 연구에 사용된 제품

애질런트 제품

BioTek Cytation 9 세포 이미징 멀티모드 리더

www.agilent.com/lifesciences/biotek

DE-016930

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2026
2026년 9월 24일, 한국에서 발행
5994-9407KO

한국애질런트테크놀로지스㈜
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
DF타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090(고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com

Agilent