应用简报

细胞分析

Agilent

Trusted Answers

面向研究工作流程的高效玻片组织成像

使用安捷伦 BioTek Cytation 9 细胞成像多功能微孔板检测系统进行荧光、彩色明场和靶向 ROI 采集

作者

Michael Sfregola 博士
Joe Clayton 博士
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报介绍了利用安捷伦 BioTek Cytation 9 细胞成像多功能微孔板检测系统进行玻片组织成像。使用荧光和彩色明场采集对 H&E 染色和荧光组织切片以及组织微阵列芯片进行了成像。这些示例展示了自动校准、激光自动聚焦、高数值孔径物镜和基于目标区域 (ROI) 的采集如何支持科研规模下的高效玻片成像，同时保留组织层面的背景信息与细胞层面的细节。

前言

组织成像可帮助研究人员将细胞机制、生物标志物表达和组织结构与实验检测结果关联起来。当研究涉及基于微孔板的检测、活细胞和固定细胞成像以及玻片组织样本时，这种背景信息尤其有用。在此类工作流程中，若玻片成像能够适配现有实验体系，提供清晰的组织背景信息，又不额外增加流程复杂度，便可发挥重要价值。

Cytation 9 细胞成像多功能微孔板检测系统将玻片成像集成至自动化显微成像环境中，同时还支持各类细胞检测应用。它将荧光显微成像、彩色明场成像、高分辨率物镜和基于微孔板的成像功能整合在一个系统中。本应用简报评估了多种玻片样本类型，以展示图像质量、采集效率以及靶向 ROI 成像在组织切片和组织微阵列芯片中的实际应用。

实验部分

使用 Cytation 9 自动化成像系统对玻片荧光样本与彩色明场样本成像。该系统配置有高数值孔径复消色差物镜、激光自动聚焦、荧光滤光片组和彩色明场照明。使用安捷伦 BioTek Gen5 显微成像软件进行图像采集、自动校准、概览成像、ROI 检测和拼接图像生成。

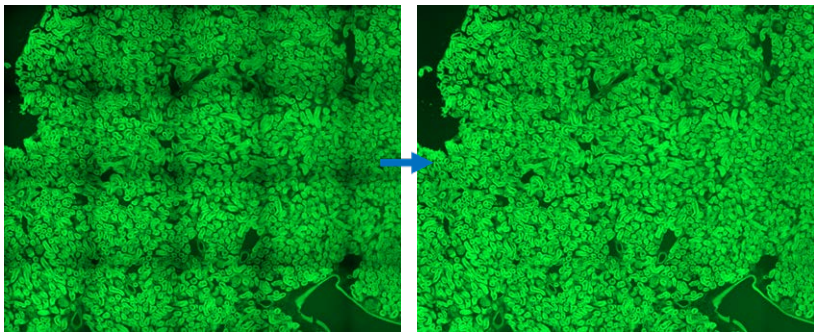
在采集样本之前，使用自动校准程序进行光学校准、平场校正和白平衡。校准板包含一个 100 µm 的精密校准孔和五个均一荧光强度校准靶。针对每种物镜和颜色组合采集校准图像，后续采集过程中自动应用图像校正（图 1）。

样本包括荧光小鼠结肠和肾脏组织切片、H&E 染色的小鼠胚胎和人肾脏切片，以及含 72 个组织芯的 H&E 染色人正常器官组织微阵列芯片。利用低倍率概览成像确定组织位置。然后使用 20x 或 40x 复消色差物镜采集高倍率图像，并使用激光自动聚焦从盖玻片反射确定焦平面。对于基于 ROI 的工作流程，使用安捷伦 BioTek Gen5 自动识别目标区域 (AutoROI) 模块来识别含有组织的区域，并将空白玻片区域从高倍率采集中排除。

A



B



C

	20x 复消色差	40x 复消色差
数值孔径	0.8	0.95
分辨率 (nm)	279	235
工作距离 (mm)	0.6	0.2
视野 (mm)	0.7 × 0.7	0.35 × 0.35

D



图 1. 安捷伦 BioTek Cytation 9 细胞成像多功能微孔板检测系统具有自动化玻片成像功能。(A) 用于自动成像台对准和照明校正的精密校准工具。(B) 在蒙太奇采集过程中自动应用校正，以消除荧光和彩色明场成像模式下的拼接伪影。(C) 高分辨率奥林巴斯 UPLXAPO 20x 0.8 NA 和 UPLXAPO 40x 0.95 NA 物镜，配备宽场相机。(D) Cytation 9 玻片容量可通过兼容的安捷伦 BioTek BioStack 微孔板储板器扩展到最多 120 张显微镜玻片

结果与讨论

多重荧光组织成像

多重荧光成像使研究人员能够观察生物标志物、细胞类型和结构特征在完整组织中的排布方式。将 100 µm 厚的小鼠结肠切片（小鼠结肠，4 色，OptiSlides；Luxidea; Calgary, AB, Canada）在四个荧光通道中成像，以观察细胞核、细胞骨架、神经元和血管（图 2A）。

使用 4x 概览图像识别组织区域，然后使用 20x 和 40x 复消色差物镜在 DAPI、GFP、TRITC 和 Cy5 通道中进行高倍率成像。20x 放大倍率覆盖了 2.2 mm^2 的样本面积，在 46 秒内采集了 48 张图像。40x 放大倍率下采集了 252 张图像，耗时 4 分 30 秒（表 1）。

将 16 µm 厚的小鼠肾脏切片 (FluoCells Prepared Slide #3; Thermo Fisher; Waltham, MA, USA) 在三个荧光通道中成像，以观察细胞核、细胞膜和细胞骨架（图 2B）。使用 4x DAPI 概览图像来识别组织区域，然后使用 20x 复消色差物镜在 DAPI、GFP 和 TRITC 通道中进行高倍率成像。最终图像集包含 819 张图像，覆盖 63 mm^2 样本面积，总耗时不足 14 分钟（表 1）。在这些例子中，拼接图像既提供了宏观的组织结构，又提供了细胞层面的细节，支持在同一工作流程中进行标志物定位和组织结构评估。

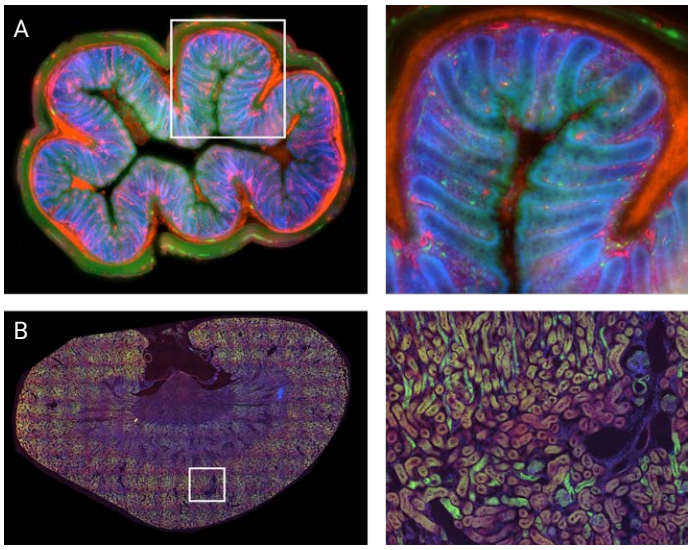


图 2. 对制备好的组织切片进行多通道免疫荧光成像。(A) 40x 放大倍率下的小鼠结肠切片，4 种荧光标志物：细胞核 (DAPI)、神经元 (GFP)、细胞骨架 (TRITC)、血管 (Cy5)。(B) 20x 放大倍率下的小鼠肾脏切片，3 种荧光标志物：细胞核 (DAPI)、麦胚凝集素 (GFP)、肌动蛋白 (TRITC)

表 1. 样本和玻片成像采集详情

	小鼠结肠	小鼠肾脏	人组织微阵列芯片	小鼠胚胎	人肾脏
染色	细胞核 DAPI 神经元 Dylight 488 波形蛋白 Dylight 550 血管 Dylight 649	细胞核 DAPI WGA Alexa Fluor 488 鬼笔环肽 Alexa Fluor 568	H&E	H&E	H&E
波长数量	4	3	**3**	**3**	**3**
样本面积	2.2 mm^2	63 mm^2	**156 mm^2**	**60 mm^2**	**39 mm^2**
放大倍数	20x	20x	**20x**	**20x**	**20x**
图像总张数	**48**	**819**	**5841**	**615**	**1230**
采集时间 (min)	**0.8 min**	**13.7 min**	**37.9 min**	**7.5 min**	**5.1 min**
归一化时间 (10 × 10 mm)	**36 min**	**22 min**	**24 min**	**13 min**	**13 min**

彩色明场组织学成像

彩色明场成像对于评估组织形态以及将结构背景与靶向标志物信息相关联仍然很重要。Cytation 9 使用自动白平衡和顺序控制的红、蓝、绿照明，可采集高分辨率的真彩色组织学图像。我们使用代表动物和人类样本的大尺寸 H&E 染色组织切片对该功能进行了评估。

使用 20x 复消色差物镜对 H&E 染色的小鼠胚胎切片（由当地研究机构捐赠）进行成像（图 3A）。使用 Gen5 AutoROI 模块从 4x 概览图像中自动检测组织区域，从而在高倍率采集过程中跳过空白区域。采集时间为 7.5 分钟。使用相同的工作流程对患有慢性肾炎的 H&E 染色的人肾脏切片 (Konus; Medley, FL, USA) 进行成像（图 3C）。肾脏切片覆盖 38 mm^2，在 20x 放大倍率下成像，耗时略高于 5 分钟（表 1）。

最终拼接的图像保留了整个切片的形态，同时在放大区域仍可观察到细胞细节。这些结果表明，彩色明场玻片成像可以融入更广泛的显微成像工作流程中，无需将组织学成像与相关的细胞实验及基于检测的研究分开。

利用靶向采集进行组织微阵列芯片成像

当需要在相似的染色和成像条件下比较许多相关的组织样本时，组织微阵列芯片非常有用。使用 Gen5 AutoROI 模块（FDA 人正常器官组织；US Biomax, Inc.; Derwood, MD, USA）对 72 芯 H&E 染色微阵列芯片进行成像。先生成 4x 概览图像，并自动检测每个组织芯的位置和区域。使用 20x 复消色差物镜采集每个组织芯的高倍率图像（图 3B）。

除去组织芯之间空白区域，实际成像组织总面积 156 mm^2。单个组织芯的图像采集时间约为 30 秒，整体总耗时约 38 分钟（表 1）。该工作流程展示了靶向采集如何通过识别相关组织区域、支持一致的采集以及排除组织芯之间的空白区域，使阵列组织成像更加实用。

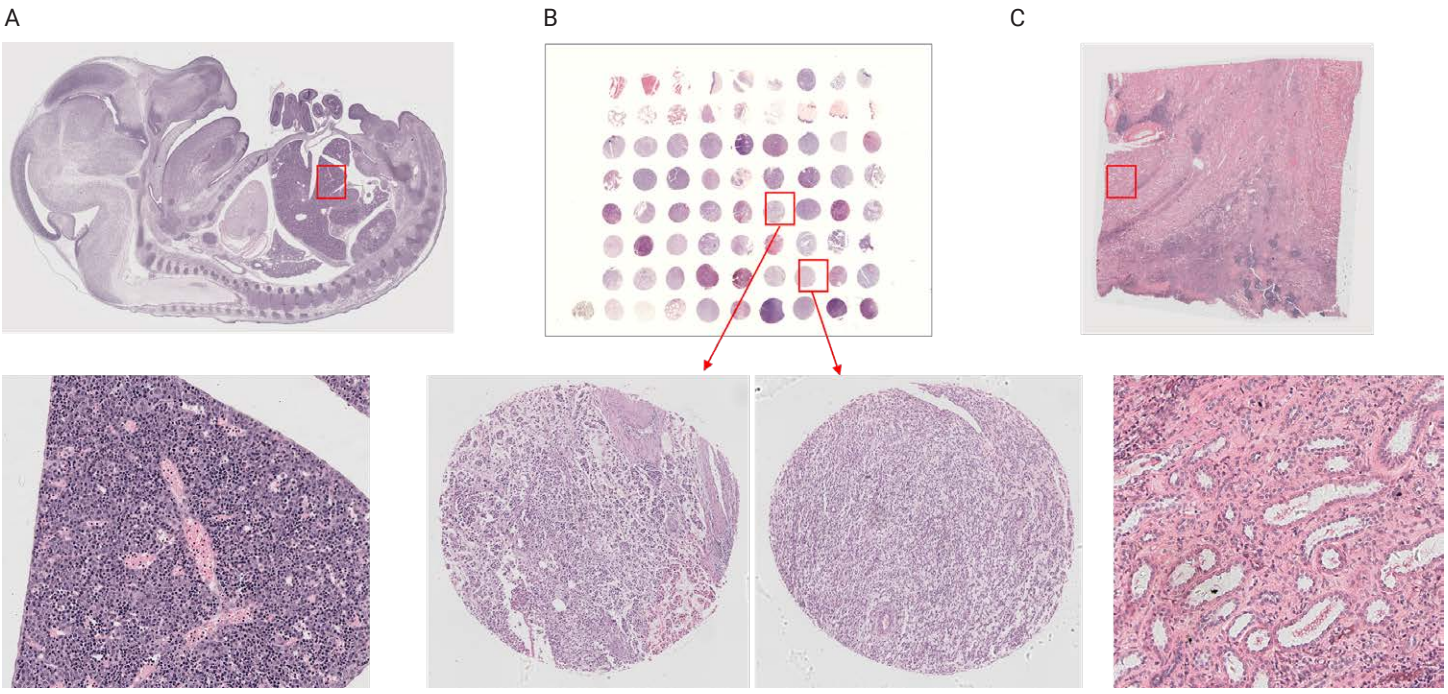


图 3. 大尺寸 H&E 组织切片的彩色明场成像。(A) 完整小鼠胚胎（上图）及高倍放大的目标区域（下图）。(B) 人体正常器官组织微阵列芯片（上图）及两个高倍放大的组织芯（下图）。(C) 人体肾脏组织样本（上图）及高倍放大的目标区域（下图）

基于 ROI 的工作流程和玻片容量

对于玻片组织工作流程而言，实际效率不仅取决于玻片的容量，还取决于采集是否能够集中在有意义的样本区域。Cytation 9 使用目标区域工作流程，在进行高倍率采集之前先采集低倍率概览图像（图 4）。然后可以手动筛选组织区域，或者使用 Gen5 AutoROI 模块自动检测组织区域。这样就可以跳过空白区域，减少采集时间和存储需求，同时保持用户对最终成像区域的控制。

通过将 Cytation 9 与安捷伦 BioTek BioStack 微孔板储板器集成，可以扩展玻片容量。使用四片式玻片架，配合 30 个板位堆叠，容量最多可达 120 张玻片。对于批量工作流程，首先采集概览图像，再识别或修改 ROIs，经确认后，整个批次即可进行选定组织区域的高倍率成像。这种方法支持常规批量成像，可以将采集集中在用户选择或软件检测到的组织区域。

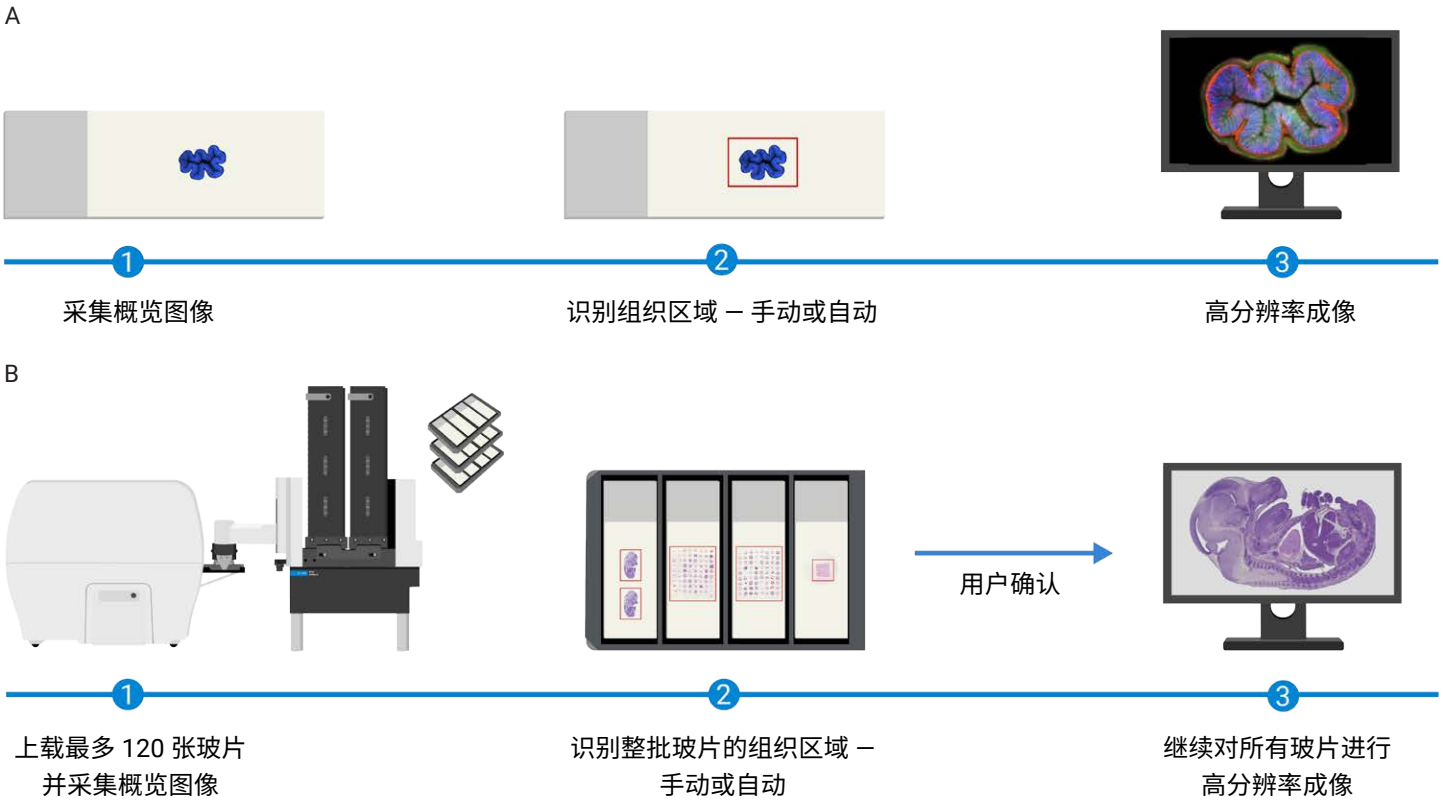


图 4. (A) 玻片成像工作流程。自动采集各玻片区域的概览图。经人工或自动组织识别后，对所有已识别的区域进行高分辨率多通道成像。(B) 高容量成像工作流程。安捷伦 BioTek BioStack 微孔板储板器可容纳最多 120 张玻片。先采集所有玻片的概览图像，然后识别组织区域。经用户确认后，对所有玻片的所有选定区域进行高分辨率成像 (n = 96)

结论

安捷伦 BioTek Cytation 9 细胞成像多功能微孔板检测系统可生成多种玻片组织样本类型的高分辨率荧光和彩色明场图像，包括 H&E 染色切片和荧光组织切片以及组织微阵列芯片。自动校准、激光自动聚焦、高数值孔径物镜和基于 ROI 的采集保障一致的成像，同时减少对玻片空白区域的无效采集。这些功能使得玻片组织成像可无缝整合至包含活细胞和固定细胞成像及微孔板成像的更广泛的研究工作流程中。

本应用中使用的产品

安捷伦产品

BioTek Cytation 9 细胞成像多功能微孔板检测系统

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278，400-820-3278（手机用户）

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com/lifesciences/biotek

DE-016930

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2026

2026 年 9 月 24 日，中国出版

5994-9407ZHCN