### **Luminex**

# Amnis<sup>™</sup> FlowSight<sup>™</sup> Amnis<sup>™</sup> ImageStream<sup>™X</sup> Mk II イメージングフローサイトメーター

形態情報による定量解析も可能なフローサイトメーター

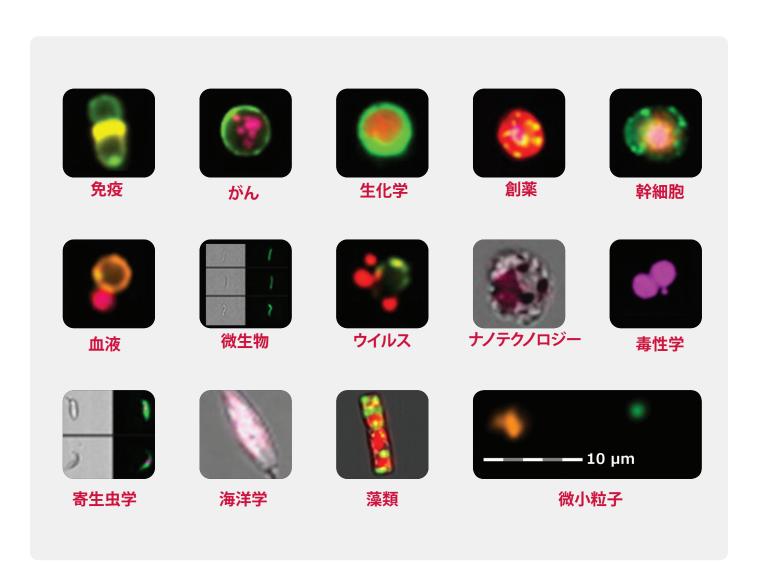


## ライフサイエンス研究に活用されている イメージングフローサイトメーター

顕微鏡は細胞機能の解析に有用な科学的ツールであり、精細な細胞イメージングや形態情報を提供する一方、その画像解釈は時に主観的・定性的になりがちで、労力を伴う場合があります。

フローサイトメトリーは、定量的な表現型解析に優れており、多数の細胞を迅速に調べることで統計的に堅牢な結果を提供する一方、イメージング機能を欠いているため、細胞内局在や分子機能の解析には困難が伴います。

Amnis™ ImageStream™ Mk II とAmnis™ FlowSight™ は、フローサイトメトリーのスピード、感度、表現型解析能力と、顕微鏡の画像取得能力を組み合わせることで各々の技術の限界を克服し、広範な分野への利用を可能にしたフローサイトメーターです。



## **Amnis™ FlowSight™**

### イメージングフローサイトメーター



汎用性: 様々な研究分野に適用可能

高感度: CCDカメラによる検出で従来型フローサイトメトリーよりも分解能が飛躍的に向上

アフォーダブル: 研究目的や予算にスペックを合わせやすいコンパクトモデル

情報量: 蛍光情報をもとに様々な集団解析が可能

# Amnis™ ImageStream™X Mk II

イメージングフローサイトメーター



ハイスループット: 最大60倍の倍率で数千/秒でイベント取得

直感的: リアルタイムのプロットとゲーティングが可能な洗練されたインターフェース

拡張性: 最大6種類のレーザー搭載が可能

**適用性**: 微小粒子や様々な細胞種に対応する対物レンズを搭載可能

## 比類なきフローサイトメトリー

ImageStream Mk IIとFlowSight システムは、フローセル中の各細胞の明視野像、暗視野像 (SSC) そして最大10種の蛍光を含む様々な画像情報を高速で取得します。 ImageStream Mk IIに搭載可能なカメラは、60X/40X/20Xの各倍率の対物レンズにおいて (60倍と20倍はオプション)、それぞれ0.1、0.25、 $1\mu$  m² のピクセルサイズで作動し、細胞膜、細胞質、細胞内小器官、核からの蛍光の位置を高解像度で可視化します。 FlowSight システムは、20倍の倍率において  $1\mu$  m²のピクセルサイズで作動します。

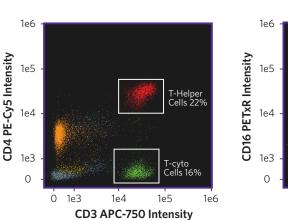
Amnis フローサイトメーターの革新的なデザインは、シグナル/ノイズ比を最大化させ、かつてないフォトニック感度を実現します。専用の側方散乱光レーザー、レーザー強度の自在な調整、細胞サイズを直接測定できる明視野画像などの緻密な設計によって、本システムは高額なフローサイトメーターに比べてより効果的に細胞集団を分離することができます。使いやすさ、優れた性能、各細胞の画像情報は、フローサイトメトリーの初心者たけでなくエキスパートの皆様のニーズをも満たすものです。

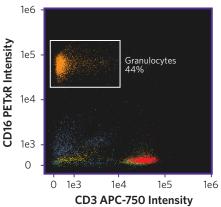
### 前方散乱光(FSC)、側方散乱光(SSC)に加えて明視野画像を取得

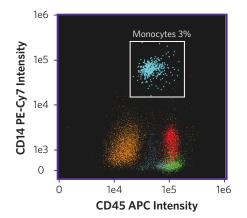
従来のフローサイトメーターは、細胞サイズの概算と細胞内粒度を解析する際に低解像度の散乱光を用いています。一方、Amnis イメージングフローサイトメーターは一般的な「前方散乱光と側方散乱光」の散布図作成に加え、20倍/40倍/60倍(20倍と60倍はオプション)の倍率で明視野画像内の実際の物体の直径を測定することで、相対的な細胞サイズではなく絶対サイズを測定できます。

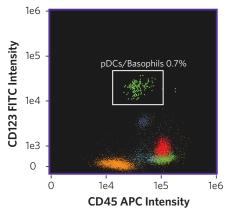
### マルチカラーイムノフェノタイピング

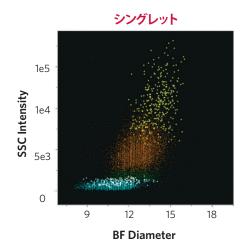
イムノフェノタイピングにはFSCとSSCに加えて複数の蛍光チャネルを必要とします。以下はCD3、CD4、CD14、CD16、CD45、CD123に対する抗体とDAPIを用いたヒト末梢血単核球 (PBMC) のイムノフェノタイピングの結果です。検出チャネルの組み合わせとレーザーオプション、自動補正ウィザードにより、複雑な細胞集団の直接的な解析が可能です。







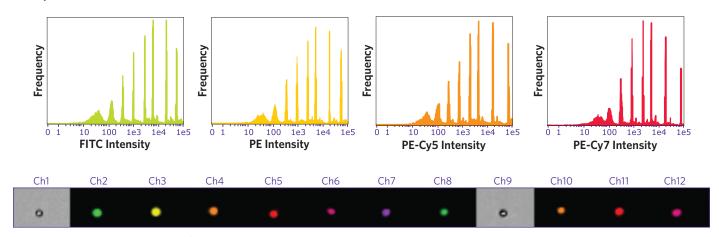




## 感度と柔軟性で幅広い研究ニーズに 適用可能

#### 比類なき蛍光感度

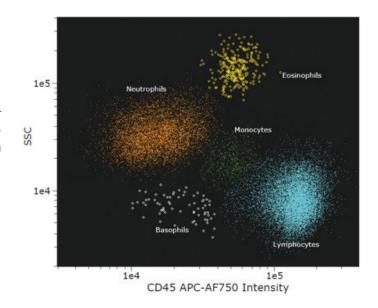
Amnis イメージングフローサイトメーターは特許取得済みの光学技術により、可視スペクトル測定において他のイメージングデバイスを凌駕する蛍光感度を提供します。下の4つのヒストグラムは、FITCからPE-Cy7のスペクトルにおける8ピークキャリブレーションビーズセット(Spherotech社)の分離能テストの結果です。各ピークは明瞭に分離され、FITCからPE-Cy7チャネルまで低い変動係数で高感度に測定されていることがわかります。



直径3ミクロンの8ピークバリデーションビーズのFlowSight™12チャネル画像

### 血球細胞を5種類に明瞭に分離

イメージングフローサイトメーターはその高感度な測定解析能力により、ヘテロな細胞集団のサブポピュレーションの分離に優れています。右の図は、ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) がCD45の発現と側方散乱光の強度を用いて5種類の細胞集団に分離された結果です。高い蛍光感度とタイトな変動係数 (CVs) により、単球 (緑色) をリンパ球 (青色) から分離でき、少ないポピュレーションの好塩基球 (白色) の検出を容易に実施いただけます。専用の側方散乱光レーザーは好中球 (橙色) から好酸球 (黄色) を明瞭に分離します。

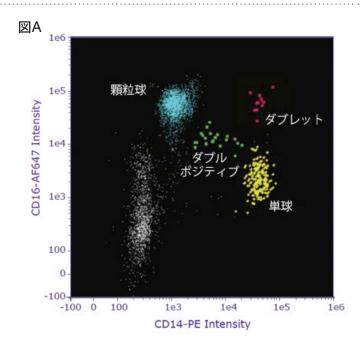


### 感度と柔軟性

### 細胞一つ一つの画像情報を取得

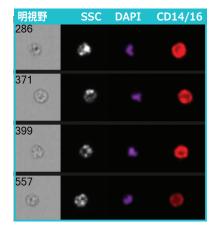
イメージングフローサイトメーターは、従来のフローサイトメーターと同様のオペレーションで機能しながら、細胞一つ一つの画像情報も取得していきます。強力で直感的な分析ソフトウェアは、取得した定量イメージ画像の結果に直接リンクされます。

- プロット内のドットをクリックして、対応する画像を表示
- ヒストグラムの各区間 (bin) をクリックして、その領域内の 各細胞を確認
- ドットプロット上でゲーティングして、その母集団を表示して結果を検証

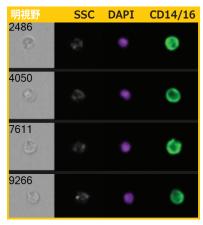


イメージング機能を使用するとポピュレーションから外れた測定値に戸惑ったり、ゲーティングに不安をいだくことがなくなります。CD14とCD16で展開したプロット(図A)の各ドットをクリックし細胞画像を比較すると、ゲーティングの適否をすぐに判断できます。イメージングフローサイトメーターの視覚的なフィードバックにより、ゲーティングサイズ、形状、局在を最適化し、データの品質を向上させることができます。

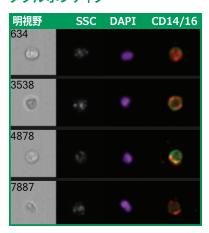
#### 顆粒球



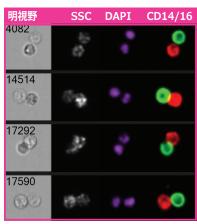
#### 単球



#### ダブルポジティブ



ダブレットアーティファクト

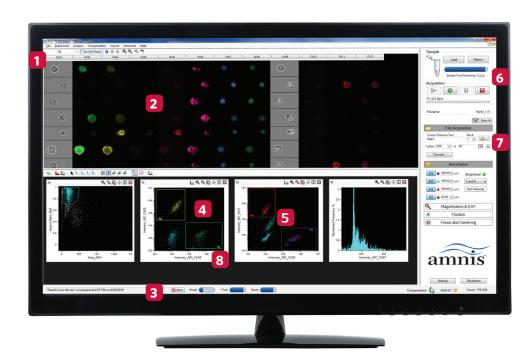


## データ取得用ソフトウェア INSPIRE™ Software

### 手軽で簡単

Amnis イメージングフローサイトメーターには、データ取得用のソフトウェアINSPIRE<sup>™</sup>が 実装されています。 INSPIRE ソフトウェアは、強力な画像ベースのゲーティングおよびリアルタイムの 蛍光補正を提供します。

### INSPIRE<sup>™</sup> ソフトウエア

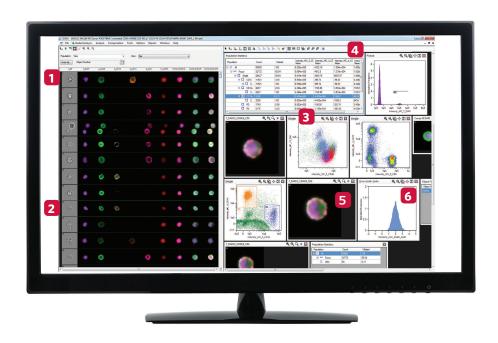


- **1. インスタントポピュレーションビューア:** ゲーティングすると各ゲーティングに含まれる細胞集団名がプルダウンリストに自動追加され、関心のある集団をイベント取得中にプルダウンリストから選択して測定できます。
- **2. イメージギャラリー:** 細胞画像が取得されるとイメージギャラリーに表示され、形態確認、染色評価、レーザー 出力設定の最適化を実施できます。
- **3. 機器のステータス確認:** 便利な計測ゲージ、インディケーター、テキストアラートにより継続的に更新される機器のステータスを確認できます。
- **4. リアルタイムコンペンセーション:** 簡単なコンペンセーションウィザードでマルチカラー解析時のコンペンセーションマトリックスの設定を素早くガイドします。
- **5. 確実なゲーティング:** ゲーティングはグラフィックツールで簡単に実施でき、ゲーティングした細胞画像を確認して正確に検証できます。
- **6. 無駄なくサンプルをロード:** サンプル容量の最大95%が利用され、希少細胞の分析も可能です。未使用サンプルの回収も可能です。
- 7. **直感的なイベント取得:** シンプルで直感的なインターフェースにより、サンプル取得設定とデータ保存基準を 制御できます。
- **8. 汎用的なドットプロットとヒストグラム:** データプロットは従来のフローサイトメーターと同様にリアルタイムで更新され、面積、細胞の幅、細胞の高さ、アスペクト比などの形態学的パラメータをプロットできます。

## 理解を導くデータ解析ソフトウェア IDEAS™ ソフトウェア

IDEAS™ ソフトウェアは、画像解析や統計解析、画像確認の手法を使いやすいパッケージにしたものです。

### IDEAS™ ソフトウェア



- **1.** ポピュレーションの検証: イメージギャラリーで各細胞の画像を表示し、特定の集団内の細胞をバーチャルソーティングして解析可能です。
- **2. 各ドットと細胞画像情報が直結:** スキャッチャードプロットの各ドットは対応する細胞画像にリンクしているため、ドットをクリックすると画像結果の確認が可能です。その逆にも対応できます。
- 3. グラフィックツールによる集団解析: 細胞集団をゲーティングする様々なグラフィックツールを提供します。
- **4. 包括的な統計解析:** 幅広い統計分析で細胞集団を定量解析し、細胞の形態、表現型、機能の違いを明確化します。
- **5. 柔軟な画像表示ツール:** レポート作成や論文作成のための画像、疑似カラー表現、画像変換を柔軟に実施できます。
- **6. 画像情報をそのまま解析:** 測定物の画像を取得後、ヒストグラムまたはドットプロットで結果を表示します。 蛍光強度、蛍光局在、細胞形態、細胞の質感、形態、何百もの形態画像のフィーチャーについて、細胞ごとに数百のパラメータで解析可能です。

### 豊富なアプリケーション

### アプリケーションの創出

### 代表的なアプリケーション

ここでご紹介するアプリケーションは、イメージングフローサイトメーターと本装置に搭載されているIDEAS 画像解析ソフトウェアで可能となるアプリケーション例です。

### 研究目的に合わせて利用可能

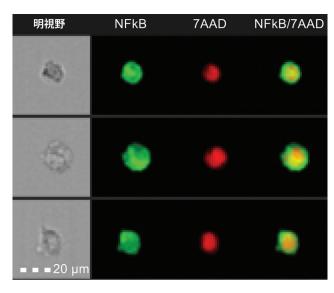
イメージングフローサイトメーターは、細胞研究用の汎用プラットフォームとして設計されており、以下に示されているアプリケーション以外の適用も可能です。



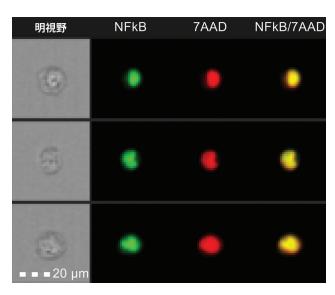
## 核移行の定量化

### 20倍の解像度による解析

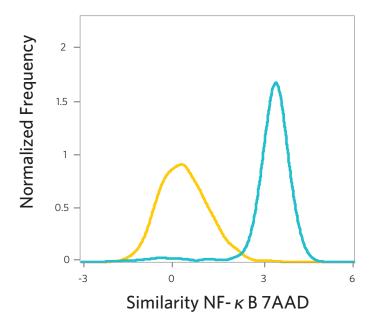
細胞質から細胞核へのNF-  $\kappa$  Bの局在変化は細胞のストレス応答として重要です。イメージングフローサイトメーターを用いると、細胞集団レベルで各細胞内のNF-  $\kappa$  Bの局在変化を定量分析できます。下記実験では、FlowSight システムの20倍の対物レンズを使用して、リポ多糖 (LPS) で刺激したTHP-1細胞の細胞核を7-AADで染色しNF-  $\kappa$  Bの局在を定量解析しました。IDEAS ソフトウェアのSimilarity フィーチャーによってNF-  $\kappa$  Bおよび7-AADの共局在が定量化され、すべての細胞についてスコアを生成します。



THP-1コントロール(LPS -) Mean similarity score = 0.4



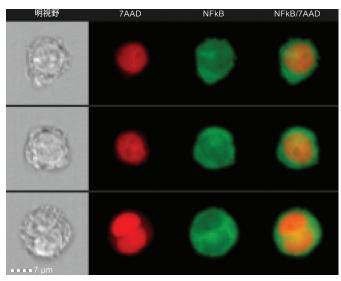
THP-1 + 1  $\mu$ g/mL LPS Mean similarity score = 3.2



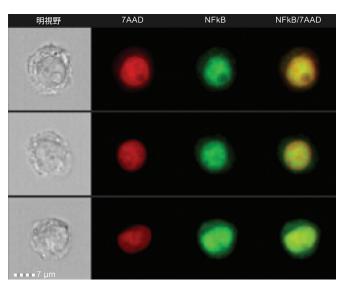
## 蛍光画像によるSimilarity解析

### 60倍の倍率によるNF-κ Bシグナル伝達の詳細解析

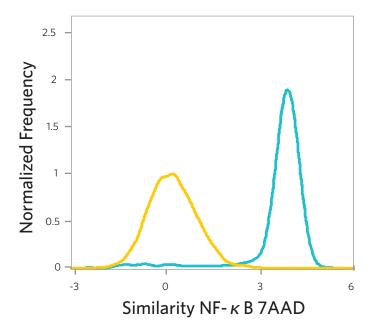
本測定ではTHP-1細胞をLPSで刺激し、Anti-NF-кB抗体と7-AADを用いて共染色後、60倍の対物レンズを搭載した ImageStream Mk II システムで解析しました。 IDEAS ソフトウェアの「Similarity」機能はFlowSightを用いて得られるヒストグラムと一致することを示しており、ImageStream Mk II システムによる詳細な画像解析を確立します。



コントロール (LPS -) Mean similarity score = 0.2



THP-1 (LPS+) Mean similarity score = 3.8



# 蛍光色素&検出器対応表

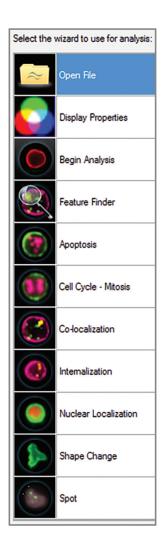
Laser	Fluorophore	Ex	Em	<del>`</del> ;	Fluorophore	Ex	Em	<del>-</del> ☆-	Fluorophore	Ex	Em	<del>-</del> ☆-	
	CH	1				CH 2				CH 3			
	Ch1/Ch9 BF *or*				QD525	350-450	525	5	eFluor565 NC	UV - 405	565	2	
	Alexa Fluor® 350	346	442	1					QD565	350-450	565	5	
375	BV421™	405	421	5					QD585	350-450	585	5	
(with installed	Cascade Blue	377	420	1									
405)	DAPI	345	461	1									
	Hoechst	352	455	1									
	Pacific Blue	410	455	1									
					Alexa Fluor® 488	496	514	3	СуЗ	514	566	1	
					BODIPY FI	503	512	3	DSRed	557	592	1	
					DiO	484	501		PE	496,565	578	5	
					DyLight™ 488	493	518	3	RFP	555	584	2	
					FITC	494	520	3					
					GFP/EGFP	475/488	509						
488					LysoTracker Green	504	511						
					MitoTracker Green	490	516						
					PKH2 & PKH67	490	504						
					Rhodamine 110	496	520						
					SYBR® Green	494	521						
					Syto13 (DNA/RNA)	488D/491R	509D/514R						
	BRIGHT	FIELD			YFP	514	527						
									Alexa Fluor® 546	556	573	5	
									CellMask/Tracker	522	535		
									Dil	549	565		
									DSRed	557	592	3	
									DyLight™550	562	576	3	
									Nile Red	515-530	525-605	Ĭ	
									PE	496,565	578	5	
									PKH26	551	567		
									Spectrum Orange	559	588		
									Sytox Orange	547	570		
									7 2 2 2 2 3 <del>1</del> <del>0</del>				
													-
Ch width	435-	480				480-560				560-595			
Ch width Bandpass*	435- (457)					480-560 (528/65)				560-595 (577/35)			
		/45)											
	CH Alexa Fluor® 350	/45)	442	1	eFluor525 NC	(528/65)	525	1		(577/35)			
Bandpass*	(457, CH Alexa Fluor*350 BV421™	/45) 7	421	1 5	eFluor525 NC QD525	(528/65) CH 8	525 525	1 5		(577/35)			
Bandpass*	CH Alexa Fluor® 350	<b>7</b> 346				(528/65) CH 8 UV - 405				(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405	(457, CH Alexa Fluor*350 BV421™	<b>7</b> 346 405	421	5		(528/65) CH 8 UV - 405				(577/35)			
Bandpass*	(457, CH Alexa Fluor*350 BV421™ Cascade Blue	<b>7</b> 346 405 377	421 420	5 1		(528/65) CH 8 UV - 405				(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405	(457, CH Alexa Fluor® 350 BV421™ Cascade Blue DAPI	7 346 405 377 345	421 420 461	5 1 1		(528/65) CH 8 UV - 405				(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405	(457, CH Alexa Fluor® 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue Alexa Fluor® 405	7 346 405 377 345 352	421 420 461 455	5 1 1 1	QD525  Alexa Fluor* 430	(528/65) CH 8 UV - 405				(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405	(457, CH Alexa Fluor® 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue	7 346 405 377 345 352 410	421 420 461 455 455 421	5 1 1 1 1	QD525	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450	525	5		(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405	(457, CH Alexa Fluor® 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue Alexa Fluor® 405	745) 7 346 405 377 345 352 410 402	421 420 461 455 455 421 421	5 1 1 1 1	QD525  Alexa Fluor* 430	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450	<b>525</b> 541	1		(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405	(457, CH Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue Alexa Fluor* 405 BV421*	745) 7 346 405 377 345 352 410 402 405	421 420 461 455 455 421 421	5 1 1 1 1 1 5	QD525  Alexa Fluor* 430 BV510 <sup>TM</sup>	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450	525 541 510	1 3		(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405	(457, CH Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue	745) 7 346 405 377 345 352 410 402 405 377	421 420 461 455 455 421 421 420 485	5 1 1 1 1 1 5	QD525  Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450 434 405 402	525 541 510 545	1 3 1		(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350  BV421™  Cascade Blue  DAPI  Hoechst  Pacific Blue  Alexa Fluor* 405  BV421*  Cascade Blue  CFP	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461	5 1 1 1 1 1 5 1 2	Alexa Fluor* 430 BV510 <sup>TM</sup> Cascade Yellow Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450 434 405 402 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350  BV421™  Cascade Blue  DAPI  Hoechst  Pacific Blue  Alexa Fluor* 405  BV421*  Cascade Blue  CFP  DAPI	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420	5 1 1 1 1 5 1 2	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551 551	1 3 1 1		(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420	5 1 1 1 1 5 1 2 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35)			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)  405	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)  405	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)  405	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
375 (with 405 not installed)  405	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
Bandpass*  375 (with 405 not installed)  405	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet	7 346 405 377 345 352 410 402 405 377 435 345 400 352 416 410	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			
375 (with 405 not installed)  405  592	(457, CH  Alexa Fluor* 350 BV421™ Cascade Blue DAPI Hoechst Pacific Blue  Alexa Fluor* 405 BV421* Cascade Blue CFP DAPI DyLight™405 Hoescht LIVE/DEAD Violet Pac Blue	7 346 405 377 345 352 410 402 405 345 400 352 416 410	421 420 461 455 455 421 421 420 485 461 420 455 451	5 1 1 1 1 5 1 2 1 1	Alexa Fluor® 430 BV510™ Cascade Yellow Pacific Orange Pacific Orange	(528/65) CH 8 UV - 405 350-450  434 405 402 410 410 350-450	541 510 545 551	1 3 1 1		(577/35) CH 9			

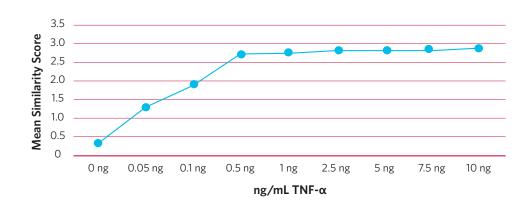
	(610/30) CH 10				(702/85) CH 11				745-780 (762/35) CH 12				n wid	
					(702/85)				(762/35)					ss*
					(702/85)				(762/35)					
					(702/85)				(762/35)					
	(610/30)													
	595-642			I	042-/45									
	505-642				642-745				SSC					ėle.
												•		•
піспетту	367	OIU	4											
RFP mCherry*	555 587	584 610	4	PE-Cy5	496,565	670	4					•		
PE-Alexa Fluor*610	496,565	628	5	PE-Alexa Fluor® 647	496,565	669	5							
DyLight™594 PE-Texas Red®(ECD)	593 496,565	618 613	2	DRAQ5 LDS751	646 543	697 712		PE-Cy7	496,565	774	4			
Alexa Fluor® 568	578	603	3	7-AAD	546	647	5	PE-Alexa Fluor®750	496,565	775				
				PI	535	617								
				PerCP-Cy5.5	482	690	3							
				PE-Cy5.5 PerCP	496,565 482	690 675	3					•	•	
				PE-Cy5	496,565	670	4							
RFP	555	584	2	LDS751 PE-Alexa Fluor® 647	543 496,565	712 669	5							
PE-Texas Red®(ECD)	496,565	613	2	FuraRed-lo	472	657								
PE-Alexa Fluor® 610	496,565	630	3	DRAQ5	646	697		PE-Cy7	496,565	774	4			
AldeRed	488	615		7-AAD	546	647	3	PE-Alexa Fluor® 750	496,565	775	3			
													•	
Q5 025	350 150	020		25705	330 .30	700	J							
eFluor625 NC QD625	UV - 405 350-450	625 625	5 5	eFluor700 NC OD705	UV - 405 350-450	700 705	1 5	QD800	350-450	800	5			
	CH 4				CH 5				CH 6			Flo	ë ë	a B B B
Fluorophore	Ex	Em	- <u>;</u> ;	Fluorophore	Ex	Em	<del>-</del> ☆-	Fluorophore	Ex	Em	<del>-</del> ☆-	wSig	age Si mera	age S mera
Eluaranhara	Ev	Em		Fluorophoro	Ev	Em	- *-	Eluorophoro	Ev	Em	- X-	FlowSight	ImageStream <sup>×</sup> Camera 1	ImageStream <sup>×</sup> Camera 2

## 定量イメージング解析と堅牢な統計解析

定量イメージング解析が可能なイメージングフローサイトメーターは、核移行、形態変化、内在化、アポトーシスといった様々な画像ベースの解析アプリケーション向けに数千のパラメータと最適化されたウィザードによる直感的な画像プロセス機能を有しています。

細胞集団に対する客観的な画像定量解析は、多数の統計パラメータをもとに算出されています。



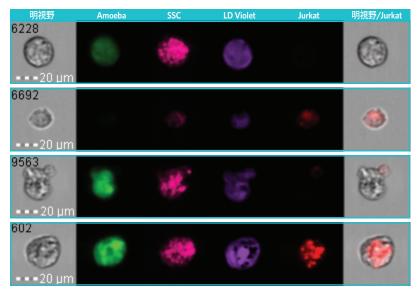


File	Count All	Count Focus	Count Singles	Count Positive	Mean Similarity	Std Dev Similarity
TNF-α_0ng_2_2016.daf	10000	4903	4265	3740	0.34	0.71
TNF-α_0-05ng_3_2016.daf	10000	4621	4060	3635	1.28	0.81
TNF-α_0-1ng_4_2016.daf	10000	4280	3739	3365	1.90	0.82
TNF-α_0-5ng_5_2016.daf	10000	4861	4167	3516	2.68	0.66
TNF-α_1ng_6_2016.daf	10000	3811	3311	2910	2.72	0.63
TNF-α_2-5ng_7_2016.daf	10000	3893	3425	3070	2.80	0.58
TNF-α_5ng_8_2016.daf	10000	4162	3685	3180	2.80	0.52
TNF-α_7-5ng_9_2016.daf	10000	4361	3782	3387	2.82	0.58
TNF-α_10ng_10_2016.daf	10000	4005	3456	2988	2.90	0.55

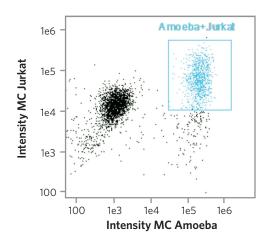
## 内在化測定によるトロゴサイトーシス解析

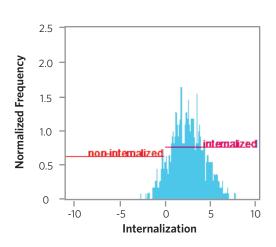
### 20倍の対物レンズで広い実視野を測定

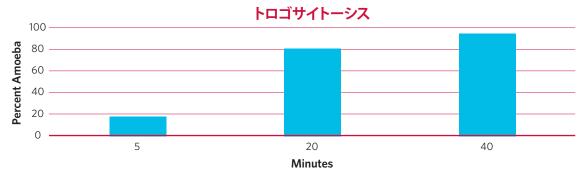
FlowSight システムは上皮細胞、マクロファージ、好中球、線維芽細胞、真核生物に感染する寄生虫などの比較的大きな対象物の測定に適しています。下記測定では、赤痢アメーバが免疫細胞に感染し形態的に生じたアメーバ様のトロゴサイトーシスを解析しました。赤痢アメーバはJurkat細胞に接着してJurkat細胞を取り込んだり、細胞表面上に局在しますが、FlowSightはそれらのマーカーをもとに細胞集団レベルでの定量解析を可能にします。



データはカリフォルニア大学デービス校のKatherine Ralston博士のご厚意によって提供されたものです。

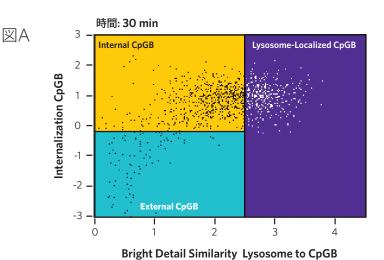






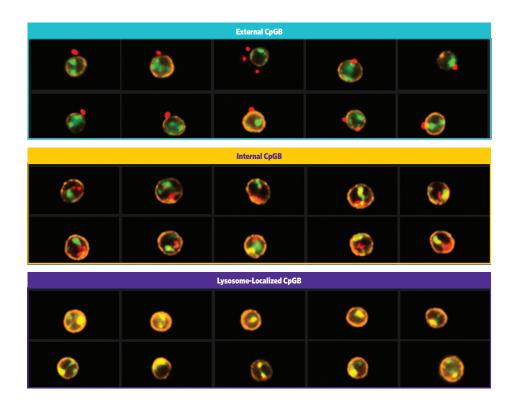
## 共局在とトラフィッキング

ImageStream<sup>x</sup> Mk II システムは、詳細な明視野像の「Similarity」測定による細胞集団解析により、共局在解析を大幅に改善します。



例:初代形質細胞様樹状細胞(pDC)におけるCpGBの内在化とトラフィッキング

図B



図A: 形質細胞様樹状細胞 (pDC) 内のCpGBのリソソームへの輸送を、Internalization (y軸) とBright Detail Similarity (x軸) のスコアを用いて定量した結果です。

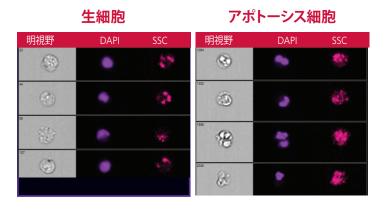
図B: pDC (橙)、CpGB (赤)、リソソーム (緑) の局在像を重ね合わせた定量結果です。本結果は40倍の対物レンズを用いて得られた画像で、上から (1) 細胞表面に結合したCpGBの画像、(2) 細胞内に内在化しているCpGBの画像、(3) リソソームとCpGBの共局在画像を示しています。CpGBがリソソームに移動すると、Bright Detail Similiarity Lysosome to CpGBのスコアが大きくなりました。

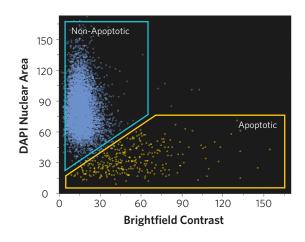
データは、ニュージャージー州医学歯学部パトリシア・フィッツジェラルド・ボカルスリー博士のご厚意によって提供されたものです。

## アポトーシスとネクローシス

### 画像解析によるアポトーシスの検出

アポトーシスウィザードは、各細胞の核形態や明視野像のコントラストを分析し、試料中のアポトーシス細胞を検出し、定量します。





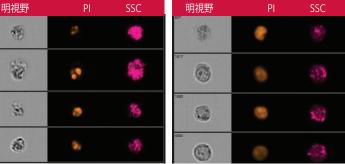
### ネクローシスとアポトーシス

従来のフローサイトメーターは、細胞膜の完全性を失った死細胞または細胞死に向かう集団を同定するために膜不透過性の染色試薬を用いています。その場合、細胞死がアポトーシスによるものかネクローシスによるものかを判断することは容易ではありません。FlowSight システムは、細胞集団レベルで各細胞の核形態を明らかにすることで、この測定を単純化します。Pl (ヨウ化プロピジウム) 標識したTHP-1細胞の結果に示されるように、ネクローシスが誘導された細胞核は正常な核形態を有する一方、アポトーシス細胞の核は縮小され、断片化されていることがわかります。

 PI染色(+)

 アポトーシス細胞
 ネクローシス細胞

 野 PI SSC 明視野 PI SSC
 明視野 PI SSC





PI染色(-)

### オートファジー

オートファジーが誘導されると細胞質内のLC3はプロセシングされ、オートファゴソームの外膜にリクルートされます。オートファジーが進行している細胞ではLC3スポットがみとめられ、IDEAS ソフトウェアのスポットカウント機能を用いるとスポットを同定し、定量できます。







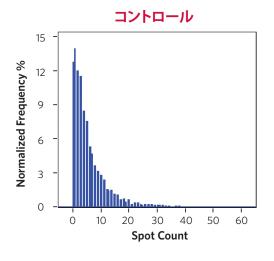


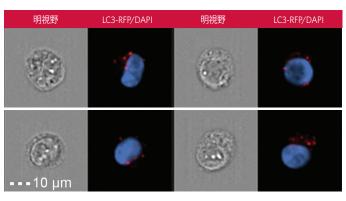
ImageStream  $^{\times}$  Mk II システムに搭載されているIDEAS ソフトウェアは、細胞集団規模で各細胞のスポット数を定量します。左に示す例では、さまざまな数のLC3-RFP (赤色) スポットを持つ細胞がスポット数とともに表示されています。

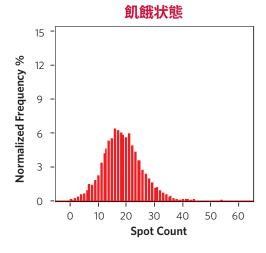
### 例:ヒト骨肉腫細胞株U2OS細胞のオートファジー

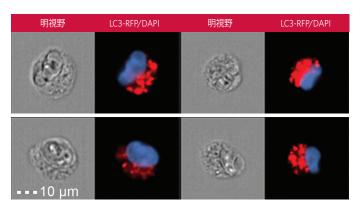
**Spot Count Scores** 

U2OS 細胞を飢餓状態にしてオートファジーを誘導した結果です。このデータはIDEAS機能の一つであるスポットカウントのアプリケーションを用いて得られたもので、健康な細胞とオートファジーが誘導された細胞の間で認められるテクスチャーの変化を定量しています。









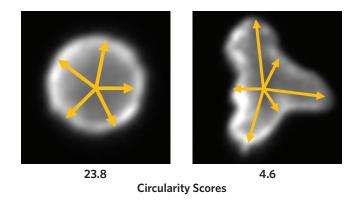
U2OS RFP-LC3ヒト骨肉腫レポーター細胞株(製品番号FCCH100183)を37℃で1時間飢餓状態にして培養後、コントロールと飢餓誘導細胞の双方に分解抑制剤を投与しLC3を定量測定した結果です。

## 細胞形態

細胞形態の変化は、特にマクロファージの活性化、幹細胞分化、薬物に対する細胞応答時の変化と相関します。

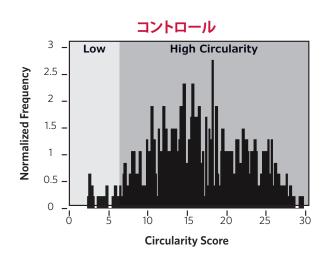
ImageStream<sup>X</sup> Mk II は、IDEAS 画像解析ソフトウェア内で 定義されている機能を用いて細胞形態を測定します。その中 の機能の一つがCircularityスコアです。

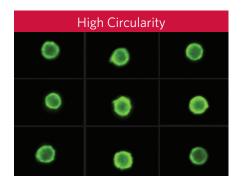
Circularityスコアは、細胞の半径がどれだけ変化するかを示すパラメータです。丸い細胞(左)は高いCircularityスコアを持ち、不規則な形をした細胞(右)は低いCircularityスコアになります。

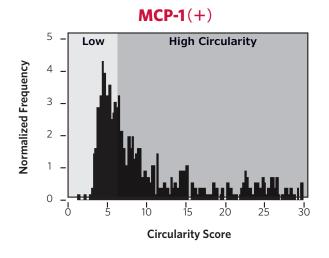


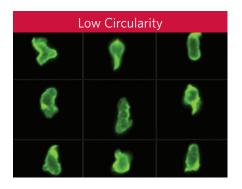
### 例:初代単球の形態変化

化学誘引物質MCP-1は、単球の形態変化と炎症部位への移動を誘導します。これは、陰性コントロールに比してMCP-1 処理サンプルのCircularityスコアが有意に減少していることから明らかです。対照的に、自己免疫疾患の治療薬など炎症反応を軽減させる治療法では、Circularityスコアが上昇します。





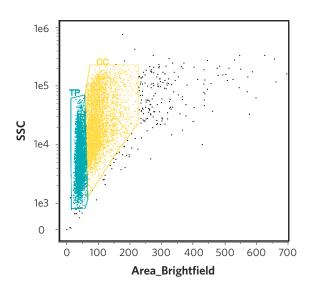




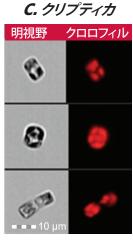
### 藻類

### 藻類の混合培養解析

 $Image Stream^X Mk II$  に搭載されている対物レンズを40倍にして形態学的パラメータをもとに混合培養物中の藻類を定量解析した結果です。

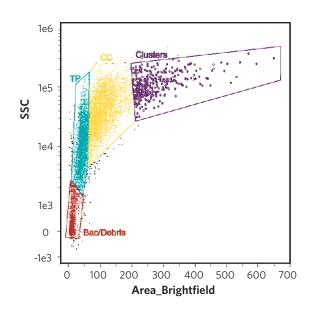






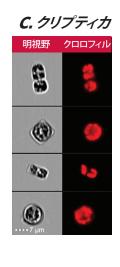
### 藻類の品質管理

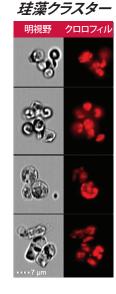
藻類の混合培養における細菌のデブリスとクラスター解析結果です。細菌を含む T. シュードナナと C. クリプティカの混合培養物を60倍の対物レンズで測定しました。





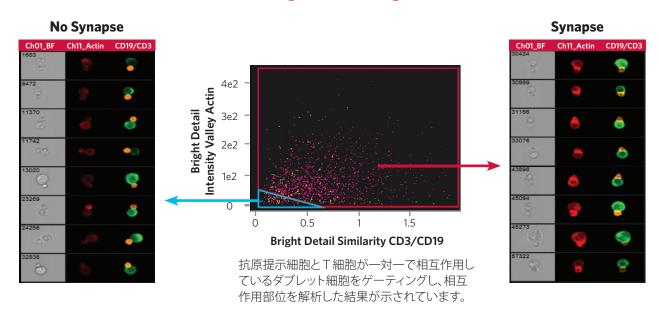
T. シュードナナ



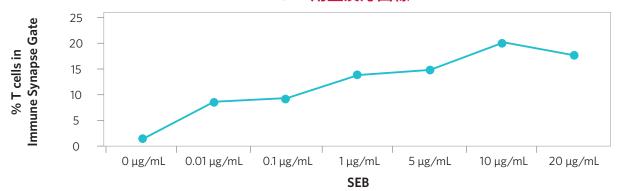


## イムノシナプスにおける細胞間相互作用

### FlowSight 20X images



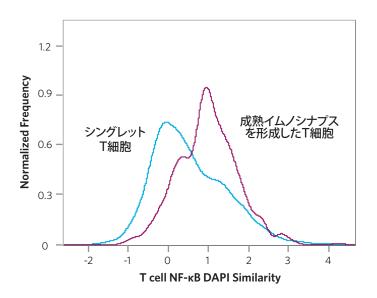
### SEB 用量反応曲線



Raji B細胞にStaphylococcal enterotoxin B (SEB: 0~20 µg/mL)を投与後、ヒト初代T細胞と共培養してイムノシナプスの定量解析を実施した結果です。

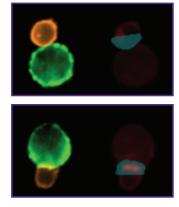
## 高解像度フローサイトメトリーによる 一歩進んだ解析

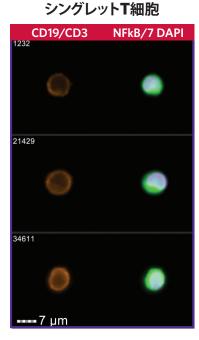
- T細胞とAPCの細胞間相互作用は形態学的な特徴から同定されます。
- 細胞間の接触領域はマスク機能を用いて同定します(下記のマスクオーバーレイをご参照ください)。
- 免疫シナプスの形成を示すマスク内のアクチンの蓄積有無から免疫シナプスを確認します。
- APCに対するT細胞の結合有無を同定します。
- 上記のプロセスで同定した T 細胞においてNF-κ Bの核移行が特異的に認められるかどうかを測定します。



### ImageStream<sup>X</sup> Mk II 60X images

免疫シナプスの領域を 示すマスクオーバーレイ (シアン色部分)





CD19/CD3 NFkB/7 DAPI
1339
10868
16202

T細胞:APC結合細胞体

## FlowSight およびImageStream<sup>x</sup> Mk IIの オプション



### 励起レーザーの追加

励起波長488 nmのブルーレーザーは、FlowSight とImageStream<sup>X</sup> Mk IIに標準搭載されています。他の励起レーザーを追加いただくと、広範囲の蛍光マーカーを使用できるため、実験の柔軟性が高まります。すべてのレーザーは実験用途に合わせて強度調整が可能です。



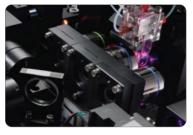
#### 12チャネルでの検出

ImageStream<sup>X</sup> Mk II システムの検出カメラー台をオプションで追加いただき計2台のカメラを用いると、最大12チャネルにて高解像度画像を取得できます。



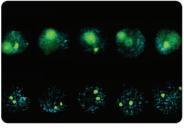
#### 96ウェルプレートオートサンプラー

96ウェルプレートを用いた測定が可能なオートサンプラーの搭載でスループットを高められます。自動化されたオートサンプラーオプションは、用量反応測定やタイムコース測定に最適です。



### MultiMag(マルチマグ)

ImageStream<sup>X</sup> Mk II に標準搭載されている40倍の対物レンズにMultiMag (オプション)を加えると60倍と20倍の対物レンズの使用が可能になります。60倍の対物レンズは酵母やバクテリアといった小サイズの測定物に対して高分解能の解析を可能にし、20倍の対物レンズはサイズが比較的大きい測定物に対して120ミクロンの実視野での測定を可能にします。



#### EDF(被写界深度)

EDFオプションにはOmniVision CDM OpticsのWavefront Coding技術が組み込まれています。これは、特殊な光学系と独自の画像処理アルゴリズムを組み合わせたもので、セル内のすべての構造を鮮明な焦点面に投影します。自動FISHスポットカウントに最適です。

オプション	FlowSight™	lmageStream™X Mk II
追加励起レーザー	標準搭載: 488 オプション: 405, 561, 642	標準搭載: 488 オプション: High Power 488, 375, 405, 561, 592, 642
12チャネル検出	標準搭載: 12 チャネル	標準搭載:6 チャネル オプション:12 チャネル
96ウェルプレートオートサンプラー	96ウェルプレート	96ウェルプレート
MultiMag(マルチマグ)	/	標準搭載: 40x オプション: 20x, 60x
EDF(被写界深度)	/	オプション搭載可能

## 絶え間ない進化

### FlowSight 仕様

性能	対物レンズ <b>20X</b>
開口数	0.6
ピクセルサイズ	1.0 x 1.0 μm
実視野	60 x 256 μm
イベント数	4,000 cells/sec

### サンプルフォーマット

- ・サンプル量 20-200 μL
- ・サンプル利用効率 最大サンプルの95%

### 自動機器操作

- 起動とシャットダウン
- サンプルロードと取得
- レーザーアライメント、フォーカス調整、キャリブレーション、 セルフテスト

### 運用要件

- 400W、100-240 VAC、50/60 Hz
- 外気や水は避けてください。

### 外形寸法•重量

- 457 mm (W) x 465 mm (H) x 635 mm (D)
- 61 kg

### 光学系仕様

・ 励起レーザー

標準搭載: 488 nm

オプション: 405 nm、561 nm、642 nm

- **SSC** 標準搭載: 785 nm
- ・明視野 マルチチャネル



## 卓越したパフォーマンス

### ImageStream<sup>x</sup> Mk II 仕様

性能	対物レンズ						
江邦と	40X	60X	20X				
開口数	0.75	0.9	0.5				
ピクセルサイズ	0.5 x 0.5 μm	0.3 x 0.3 μm	1.0 x 1.0 μm				
実視野	60 x 128 μm	40 x 170 μm	120 x 256 μm				
イベント数	2,000 cells/sec	1,200 cells/sec	5,000 cells/sec				

#### サンプルフォーマット

- ・サンプル量 20-200 μL
- サンプル利用効率 最大サンプルの95%

#### 自動機器操作

- 起動とシャットダウン
- サンプルロードと取得
- レーザーアライメント、フォーカス調整、キャリブレーション、 セルフテスト

### 運用要件

- 450W、100-240 VAC、50/60 Hz
- 外気や水は避けてください。

### 外形寸法•重量

- 889 mm (W) x 660 mm (H) x 635 mm (D)
- 182 kg

### 光学系仕様

励起レーザー

標準搭載: 488 nm

オプション: High Power 488 nm、375 nm、405 nm、

561 nm, 592 nm, 642 nm

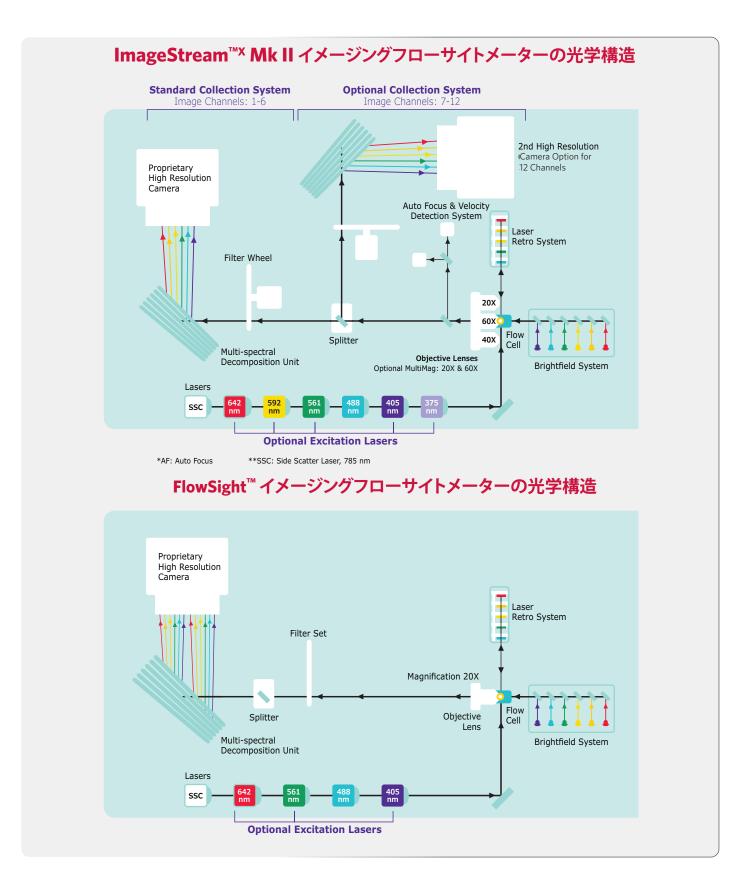
• **SSC**- 標準搭載: 785 nm

・明視野 - マルチチャネル



## 新知見への新たな一歩

Amnis™のマルチスペクトル分解技術により、各細胞の明視野像、散乱光、複数の蛍光画像の同時測定が可能になります。



# ご注文情報

製品名	製品番号
装置	
Amnis™ FlowSight™ フローサイトメーター	100370
Amnis™ ImageStream™X Mk II フローサイトメーター	100220
キャリブレーション試薬	
Amnis™ SpeedBead™ Kit	CN-0440-01
FlowSight™ Calibration Beads	CN-0441-01
キット	
Amnis™ NF- κ B Translocation Kit	ACS10000
Amnis™ Protein Aggregate and Silicone Oil Detection Kit	APH10001
Amnis™ Intracellular Staining Kit	ACS10002
トレーニングオプション	
ImageStream™ Mk II training at Luminex, 3 days - per person	500200
Onsite ImageStream™ Mk II or FlowSight™ training - FAS 1 day - up to 5 people	500200-1
Onsite ImageStream™X Mk II or FlowSight™ training - FAS 2 consecutive days; up to 5 people	500200-2
Onsite ImageStream™X Mk II or FlowSight™ training - FAS 3 consecutive days; Up to 5 people	500200-3
Onsite ImageStream™X Mk II or FlowSight™ training - FAS 4 consecutive days; Up to 5 people	500200-4
Onsite ImageStream™ Mk II or FlowSight™ training - FAS 5 consecutive days; Up to 5 people	500200-5
ソフトウェア	
Amnis™ IDEAS™ Image Analysis Software – 21CFR- enabled	IFC300202
Amnis™ INSPIRE™ Software & Amnis™ IDEAS™ Software – 21CFR-enabled, Amnis™ FlowSight™	IFC300203
Amnis™ INSPIRE™ Software & Amnis™ IDEAS™ Software - 21CFR-enabled, Amnis™ ImageStream™ Mk II	IFC300204
Amnis™ IDEAS™ 6.3 Image Analysis Software - Single seat license	CN-SW69-01
Amnis™ IDEAS™ 6.3 Image Analysis Software – 12 seat group license	CN-SW69-12
Amnis™ IDEAS™ 6.3 Image Analysis Software – Institutional license	CN-SW69-20
Machine Learning Module	CN-SW45-01
Amnis™ AI: Computer-aided Image Analysis Software	CN-SW70-01



### ルミネックス・ジャパン株式会社

〒 106-0041 東京都港区麻布台 1-7-2 神谷町麻布台ビル www.luminexcorp.com/ja

テクニカルサポートお問い合わせ窓口 Tel: 03.5545.7444 (受付時間 9:00 ~ 18:00) Email: supportjapan@luminexcorp.com

www.bmbio.com

©2019-2022 Luminex Corporation. A DiaSorin Company. All rights reserved.
Amnis, FlowSight, ImageStream, IDEAS, SpeedBeadは、米国および他の国々で登録されたルミネックス・コーポレーションの商標または登録商標です。本製品は研究用機器です。体外診断用には使用できません。研究用試薬と併せてお使いください。諸般の理由により、予告なく仕様を変更する場合がございますのであらかじめご了承ください。

FL168187\_AP-R-JP 03-22

販売元(ご注文窓口)

BMBio ビーエム機器株式会社 〒135-0016 東京都江東区東陽2丁目2番20号 東陽駅前ビル

商品の仕様・詳細について TEL: 03-6666-5903/FAX: 03-6666-5907

商品の在庫・ご注文について TEL: 03-6666-5902/FAX: 03-5677-4081

50158\_2022.8