



Utilizing Automated Imaging and Advanced 3D Cell Culture Techniques to Quantify Apoptosis Activity

Brad Larson, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT USA
Youko Ejiri and Andrea Alms, Kuraray Co. Ltd., Tokyo, Japan

Nessa revisão de uso, a Biotek mostra uma forma alternativa e quantitativa de mensurar apoptose em cultura de células 3D. Fazendo uso do Cytation 5, é possível analisar até 384 wells.

No trabalho, usaram cultura de fibrosarcoma (HT-1080) e de carcinoma de col retal (HCT116) crescendo em 3D em uma placa com 384 wells, incubando tais células com Doxorubicina ou Oridonina (curva-dose resposta).

Na figura 1 ao lado, as células foram incubadas com Hoeschst 33342 para avaliar os esferóides de HCT116.

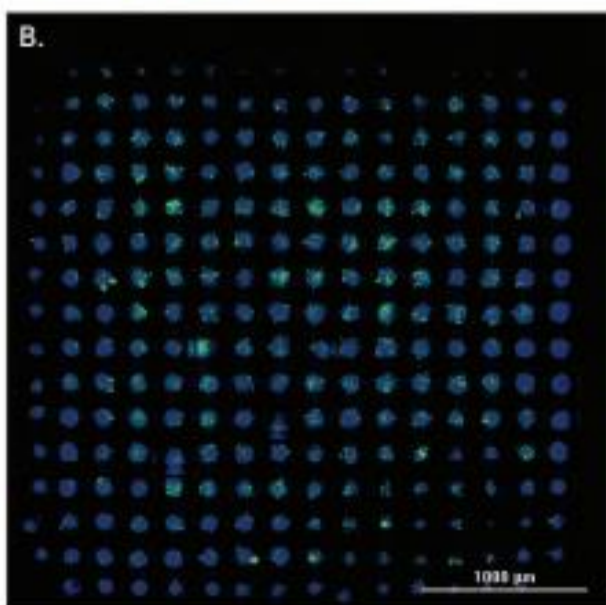
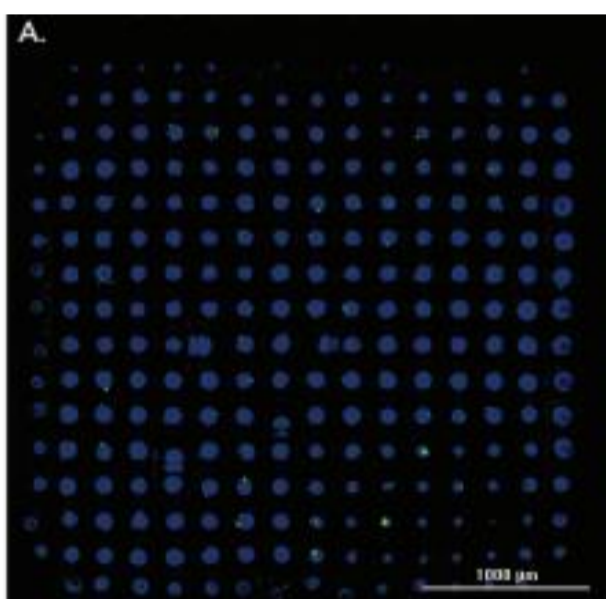
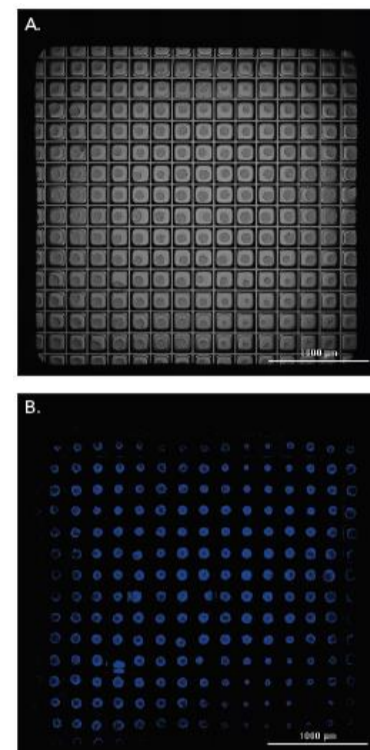


Figure 2. Apoptotic activity in HT-1080 cells treated with 400 nM doxorubicin. 4x DAPI and GFP channel imaging (A) 24 hours post-treatment and (B) 48 hours post treatment.

Então as células foram incubadas com os quimioterápicos para avaliar a morte celular (Kinetic Apoptosis Kit/Sigma – marcação em verde) por 48h (sendo analisadas a cada 4h e mantidas no Cytation 5 sob controle de temperatura e CO₂) (figura 2).

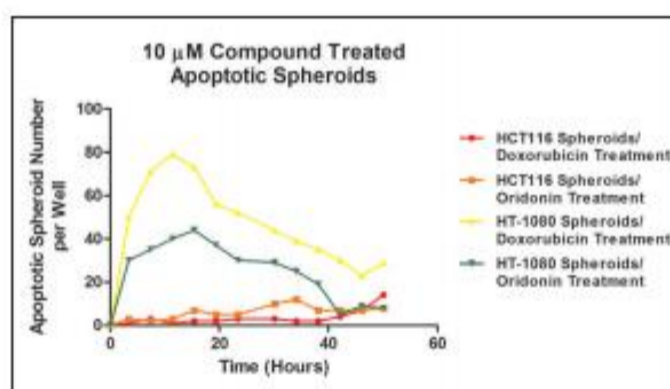


Figure 4. Apoptotic HCT116 and HT-1080 spheroid analysis over time after treatment with 10µM doxorubicin or oridonin.

Através do software do Cytation 5, todos os dados podem analisados quantitativamente (maiores detalhes na revisão) e então gerar resultados como segue na figura 4 acima.

Cytation 5 com Leitor Multi-Mode é uma sistema sensível e flexível capaz de analisar imagens fluorescentes e de brightfield de esferas celulares (ensaio 3D), apresentando-se portanto um método preciso e de fácil uso para avaliar alterações fenotípicas em culturas 3D.

Contate-nos e teremos prazer em enviar o artigo original!