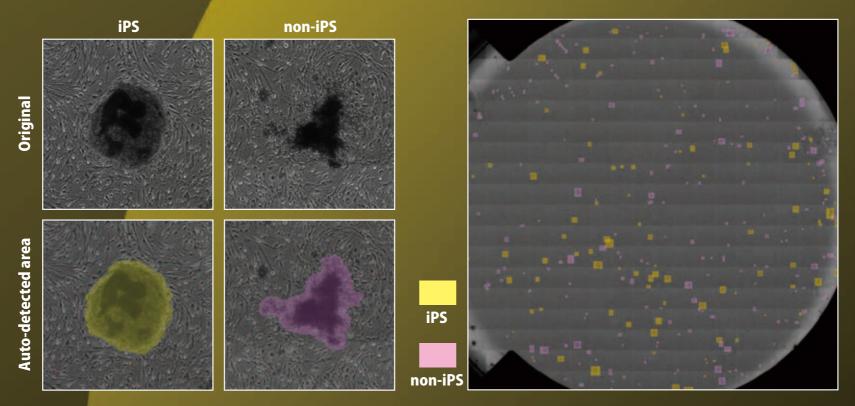


# BioStation CT CL Quant



### iPSC/non-iPSC Auto Classification iPSC/non-iPSCの自動判別

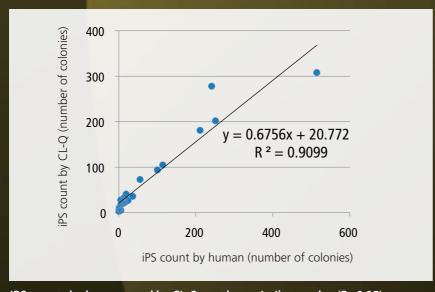
- iPS cell colony analysis algorithm co-developed with Kyoto University detects colonies and identifies iPS cell colonies based on the structure of each colony.
- Evaluation of full-well and large-quantity samples is possible when used in combination with Cell Culture Observation System BioStation CT.
- コロニーを検出し、形態情報を元にiPS/non-iPSを自動判定できるアルゴリズムを京都大学と共同開発しました。
- 細胞培養観察装置 BioStation CTと組み合わせることで、大量サンプルかつ容器全域の定量評価が行えます。



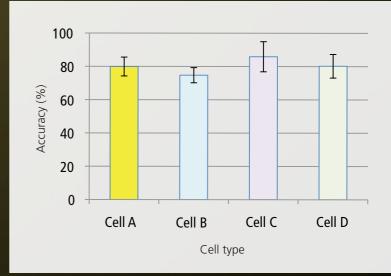
Cell Culture Observation System BioStation CT scans the entire area of a 100 mm dish and captures phase contrast images, while Analysis Software CL-Quant automatically classifies data into iPS and non-iPS cell colonies (iPS=yellow, non-iPS=pink). Variations in evaluation during iPS cell generation are reduced, saving time and work.

細胞培養観察装置 BioStation CT により、100mmディッシュの全域をスキャン撮影し(位相差画像)、解析ソフトウェア CL-Quant で iPS/non-iPS を自動判定。iPS (黄)、non-iPS (ピンク)。iPS 細胞樹立時の評価のバラつきを軽減し、省力化を実現。

Courtesy of Dr. Koji Tanabe, Department of Reprogramming Science, Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Kyoto University データご提供:京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA) 初期化機構研究部門 田邊剛士先生



iPS counts by humans and by CL-Quant have similar results. (R=0.95) 人によるiPS コロニーカウントとCL-Quant によるiPS コロニーカウントは 高い相関性を持っています。(R=0.95)



Fibroblast (Cell A), used for creating an algorithm, indicates an accuracy of 80%. Other fibroblasts (Cell B, C, D) also indicate accuracies of approx. 80%.

アルゴリズム作成に用いた fibroblast (Cell A) においても、異なる個人由来の fibroblast (Cell B, Cell C, Cell D) においても共に約80%の高い精度を示しています。



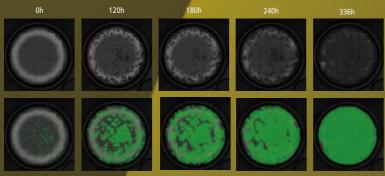
## BioStation CT **CL Quant**



### Stem Cell Proliferation Analysis 幹細胞增殖解析

- Quantitative analysis of time-lapse data is possible from immediately after cell seeding to confluent.
- In combination with Nikon Cell Culture Observation System BioStation CT, other analysis, such as drug screening, is also possible.
- 細胞播種直後から confluent 状態までの経時的な定量化解析が行えます。
- 細胞培養観察装置 BioStation CTと組み合わせることで、薬剤スクリーニング等にご利用頂けます。

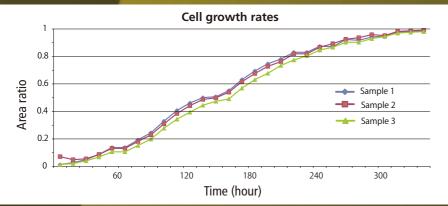
#### 1. Proliferation analysis of iPS (201B7) /iPS(201B7) の増殖解析



Time-lapse full-well scan images (phase contrast) captured by BioStation CT BioStation CTで容器全域を経時的にスキャン撮影(位相差画像)。

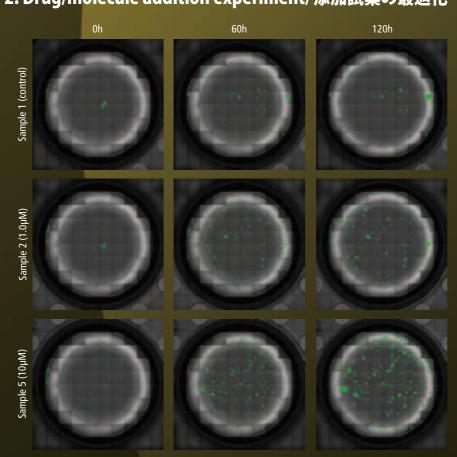
Quantitative Image Analysis Software CL-Quant automatically detects cell areas (green), enabling label-free quantitative analysis.

解析ソフトウェアCL-Quantで細胞領域を自動認識 (緑)。 ラベルフリーで定量解析が可能です。



Cell: hiPSs:201B7 Coating: Matrigel Vessel type: 6-well plate Culture medium: ReproFF2 Medium change: Mon, Wed, Fri/ 1 week Magnification: x2 (Full scan) Capture day: Lapse for 12 hours to 7 days Area ratio: Colony detection area for whole well area

### 2. Drug/molecule addition experiment/ 添加試薬の最適化



User can quantify the change of cell growth rates which depend on thiazovivin concentration.

Thiazovivinによる濃度依存的な細胞増殖率の変化を数値化します。 薬剤スクリーニングや播種密度決定等にご利用可能です。

Cell: hiPSs:201B7 Coating: Matrigel Vessel type: 6-well plate Culture medium: ReproFF2 Medium change: Mon, Wed, Fri/ 1 week Magnification: x2 (Full scan) Capture day: Lapse for 3 hours to 5 days

Added drug: Thiazovivin (10  $\mu$  M、 1  $\mu$  M、 0  $\mu$  M)

Area ratio: Colony detection area for whole well area

The cell growth rates with different concentration of thiazovivin Sample 1 (control
Sample 2 (1.0μM)
Sample 5 (10μM) Area ratio Time (hour)

- Attachment ratio of monocellular is raised to 5x after 120 hours.
- Attachment ratio is concentration-dependent.
  単細胞化した Attachment ratioが、120 時間後に5倍に上昇している。
- •Attachment ratioは添加試薬濃度依存的である。



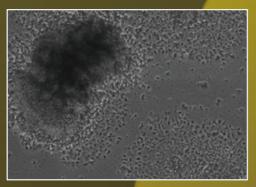
# BioStation CT CL Quant



## Neural Differentiation Analysis 神経分化解析

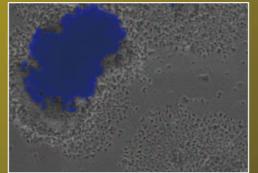
#### 1. Rosette structure detection/ロゼッタ構造検出

- Auto detection of cell's characteristic structure (rosette structure), observed at neural differentiation from stem cell, is possible.
- Quality evaluation of neural differentiation detects rosette content rate of each sample.
- 幹細胞から神経細胞への分化誘導過程で見られる特徴的な構造 (ロゼッタ構造)を自動検出します。
- 各サンプルのロゼッタ含有率を算出することで、神経分化の品質評価を実現します。



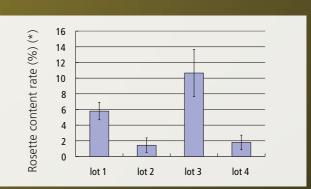
Phase contrast image captured by Cell Culture Observation System BioStation CT.

細胞培養観察装置 BioStation CTで取得した 位相差画像



Quantitative Image Analysis Software CL-Quant automatically detects rosette structure areas (blue).

解析ソフトウェアCL-Quantでロゼッタ構造の 領域を自動検出 (青)



Different protocols for neural differentiation (lot 1 to lot 4) were compared in terms of rosette content rate.

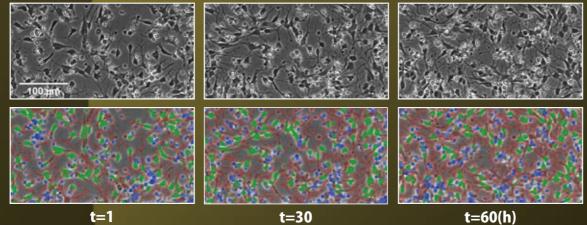
\*Rosette content rate was determined as the ratio of rosette area / total cell area.

分化誘導プロトコルの異なる4つのロットについて、ロゼッタ含有率を求め、 比較したグラフ。

\*ロゼッタ含有率の定義:(ロゼッタ面積/細胞全部の面積)

### 2. Neurite identification/神経突起検出

- User can automatically identify neuron cell body, neurites and dead cells in phase contrast images.
- Applicable to drug efficacy evaluations. Detects growth rates of neurites and increases in dead cell rates.
- 位相差画像から神経細胞の細胞体、樹状突起、死細胞を自動検出できます。
- 神経突起伸長速度や死細胞の増加率などを測定することにより薬効評価に応用可能です。

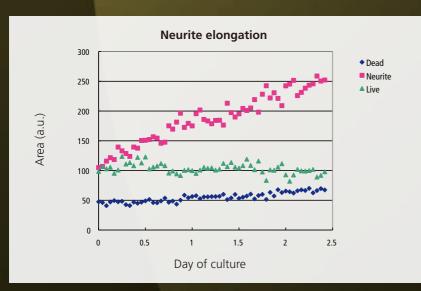


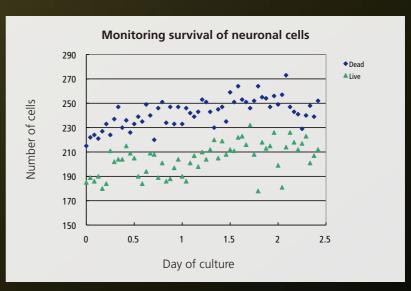
Time-lapse images captured by BioStation CT (phase contrast)

BioStation CTで取得したタイムラプス画像 (位相差画像)

CL-Quant automatically identifies neuron cell bodies (green), neurites (red) and dead cells (blue), enabling quantification of number, area and length of cells.

CL-Quantを使い、神経細胞の細胞体(緑)、神経 突起(赤)、死んだ細胞(青)を自動認識。ラベル フリーで個数、面積、長さなどの数値化が可能。







## BioStation CT

Label free ラベルフリー

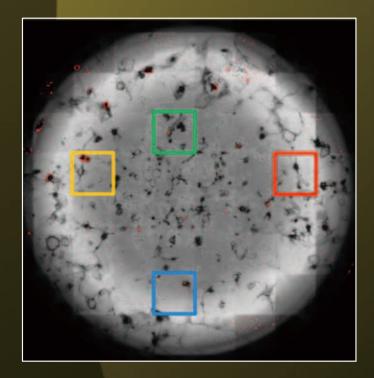
## Detection of Beating Cardiomyocyte 心筋細胞塊の拍動検出

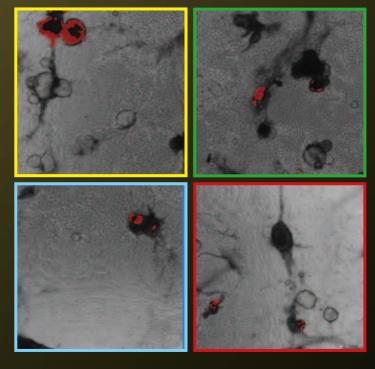
- Fully automated cell incubation, image acquisition and beating detection.
- Non-invasive detection using phase contrast images applicable to quality evaluation of cardiomyocyte.
- 培養、画像撮影、拍動検出までの完全自動化を実現。
- 位相差画像を用い非侵襲的に検出するので、心筋の品質評価に利用可能です。



Images captured by Cell Culture Observation System BioStation CT are transferred to an external PC and detected by heartbeat detector (software). Beating detection is executed in a cell culture environment and does not damage cells being observed. Non-invasive detection using phase contrast images allows samples to be used for other experiments after cardiomyocyte evaluation.

細胞培養観察装置BioStation CTで画像を取得後、外部のPCにデータを自動転送し、拍動検出ソフトウェアで検出します。培養環境下で拍動検出を行うため、細胞へのダメージがありません。位相差画像を用いて非侵襲的に検出するので、心筋の品質を評価した上で、サンプルを次の実験に用いることができます。





Results of beating detection of cardiomyocyte differentiated from human iPS cells. Detected beating areas are in red. Left: Full-well image captured by BioStation CT (6 well plate). Right: Enlarged image of inset at left.

ヒトiPS細胞から分化誘導した心筋細胞塊の拍動検出結果例。自動検出した拍動領域を赤で表示。 左: BioStation CTで撮影したウェルの全域画像(6ウェルプレート)。 右: 左図枠の拡大画像。