



Application

## ibidiポンプシステムを用いたHUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞) の灌流 (perfusion) アッセイ

製品名

ibidi Pump System (ibidiポンプシステム)

メーカー名

イビディ  
ibidi 社

### はじめに

HUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞) などの内皮細胞は、灌流 (perfusion) 培養などによりシェアストレス (すり応力/剪断応力) を与えると、一般的な静置培養と比較して、より生体内に近い細胞形態や細胞応答を示します。

このように、細胞を、より *in vivo* に近い環境で培養することで、より *in vivo* に近いデータが得られます。

そこでibidi社では、長期間の灌流実験を可能とする独自のibidiポンプシステムを開発しました。

本アプリケーションノートでは、国内で実際にibidiポンプシステムを使用されているお客様のアプリケーションデータをご紹介させていただきます。

本稿のデータにつきましては、愛媛大学プロテオ医学研究センター 愛媛-ニコンバイオイメージングコアラボラトリー井上博文様、愛媛大学プロテオ医学研究センター細胞増殖・腫瘍制御部門 東山繁樹様、愛媛大学大学院医学系研究科 心臓血管呼吸器・再生外科学 鹿田文昭様、泉谷裕則様のご厚意により掲載させていただきました。

ここに深く感謝申し上げます。

#### <井上先生コメント>

ペリスタポンプと違って、安定したシェアストレスをかけられるのが、良かった。

操作が思ったよりも簡単であった。

ゲル内での血管形成に対してシェアストレスがかけられるようなデバイスがほしい。

並列して異なるシェアストレスがかけられるようにしてもらいたい。

#### <鹿田先生、泉谷先生コメント>

下準備も簡易であり、装置の操作手技自体も容易に習得可能です。

種々のシェアストレス条件下で細胞の形態の観察が可能であり、細胞を回収すればmolecularな手法でも検討可能です。

オーダーメイドのディッシュにも対応して下さり、感謝致しております。



お客様のコメント

### 灌流 (フロースルー) 条件下の細胞観察システム

イビディ社

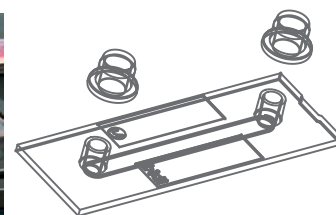
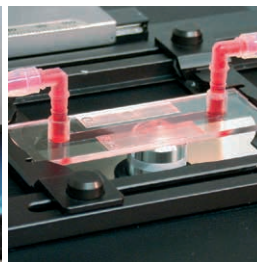
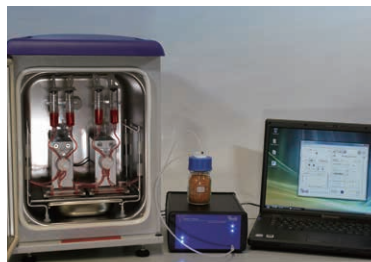
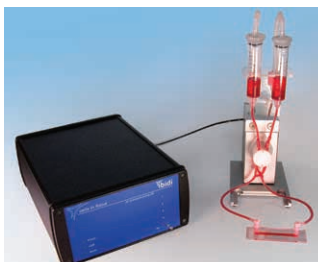
ポンプシステム

## ibidi PumpSystem



### HUVECなどの内皮細胞(endothelial cell)をより生体内に近い条件で培養して観察が可能!

- ・ 灌流 (フロースルー) 条件下の細胞観察に最適です。
- ・ 左右シリンジのチャンネル切り換えで、途切れることなく長期間一定方向の還流が可能です。
- ・ ibidi社の様々なタイプのフロー培養用スライドから選択できます。
- ・ 専用ソフトにより、簡単にフロー条件のプログラムが可能です。
- ・ シェアストレスの強さや、定流速/脈動など自由自在です。



マイクロスライドイラスト

## 実験1 HUVECの静置培養と灌流 (perfusion) 培養の細胞形態の比較 (蛍光染色)

### 実験方法

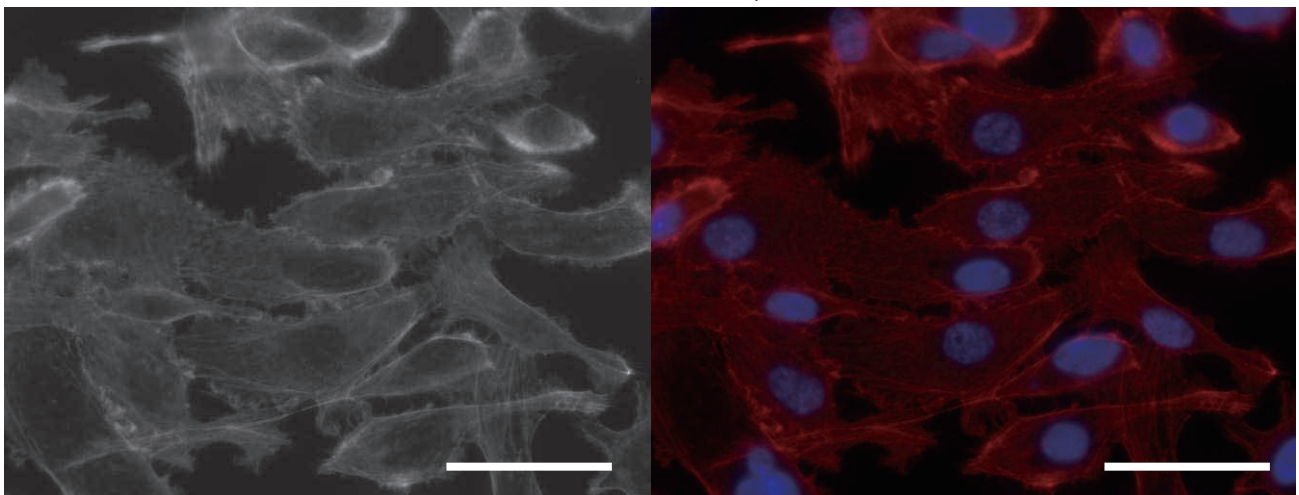
HUVECをibidi社チャンネル式スライドチャンバー $\mu$ -Slidel Luer0.6に播種し、CO<sub>2</sub>インキュベーター内で細胞を接着させた後、そのまま静置培養を継続した細胞、およびibidiポンプシステムを用いてシアストレス条件下 (10dyne/cm<sup>2</sup>) で灌流培養した細胞について、培養10時間後にそれぞれ核およびアクチンフィラメントを蛍光染色し、細胞形態を比較しました。

- ・細胞名 : HUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞)
- ・灌流培養システム : ibidiポンプシステム (ibidi社)
- ・培養容器 :  $\mu$ -Slidel Luer0.6, ibiTreat (ib80186 ibidi社)
- ・培地 : EGM-2
- ・蛍光染色試薬 : DAPI (核)、PE-phalloidin (F-actin)
- ・顕微鏡 : オリンパスIX70
- ・解析ソフト : Roper社 Image-Pro Plus

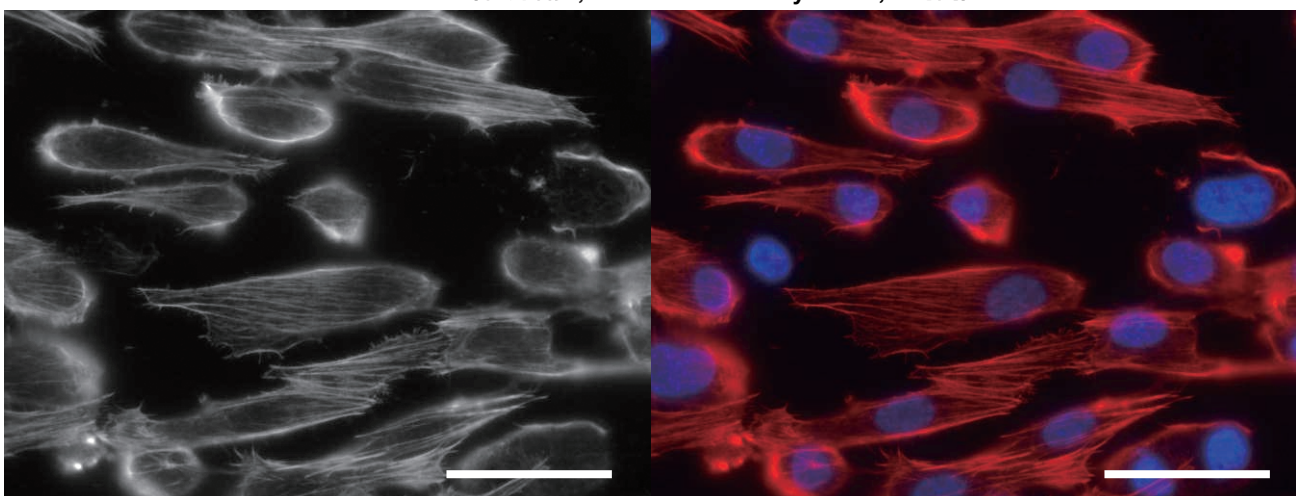
### 結果

静置培養したHUVECと比較し、ibidiポンプシステムを用いてシアストレス条件下で培養したHUVECでは灌流方向に沿って細胞が並び、より生体内に近い細胞形態を示しました。

static condition (静置培養,10時間)



fluidic condition (灌流培養, シアストレス10dyn/cm<sup>2</sup>,10時間)



(scale: 500 $\mu$ m)

データご提供

愛媛大学プロテオ医学研究センター 愛媛-ニコンバイオイメージングコアラボラトリー 井上博文先生

愛媛大学プロテオ医学研究センター 細胞増殖・腫瘍制御部門 東山繁樹先生

愛媛大学大学院医学系研究科 心臓血管呼吸器・再生外科学 鹿田文昭先生、泉谷裕則先生

## 実験2 HUVECの灌流 (perfusion) 培養によるシェアストレス条件下でのsprouting assay

### 実験方法

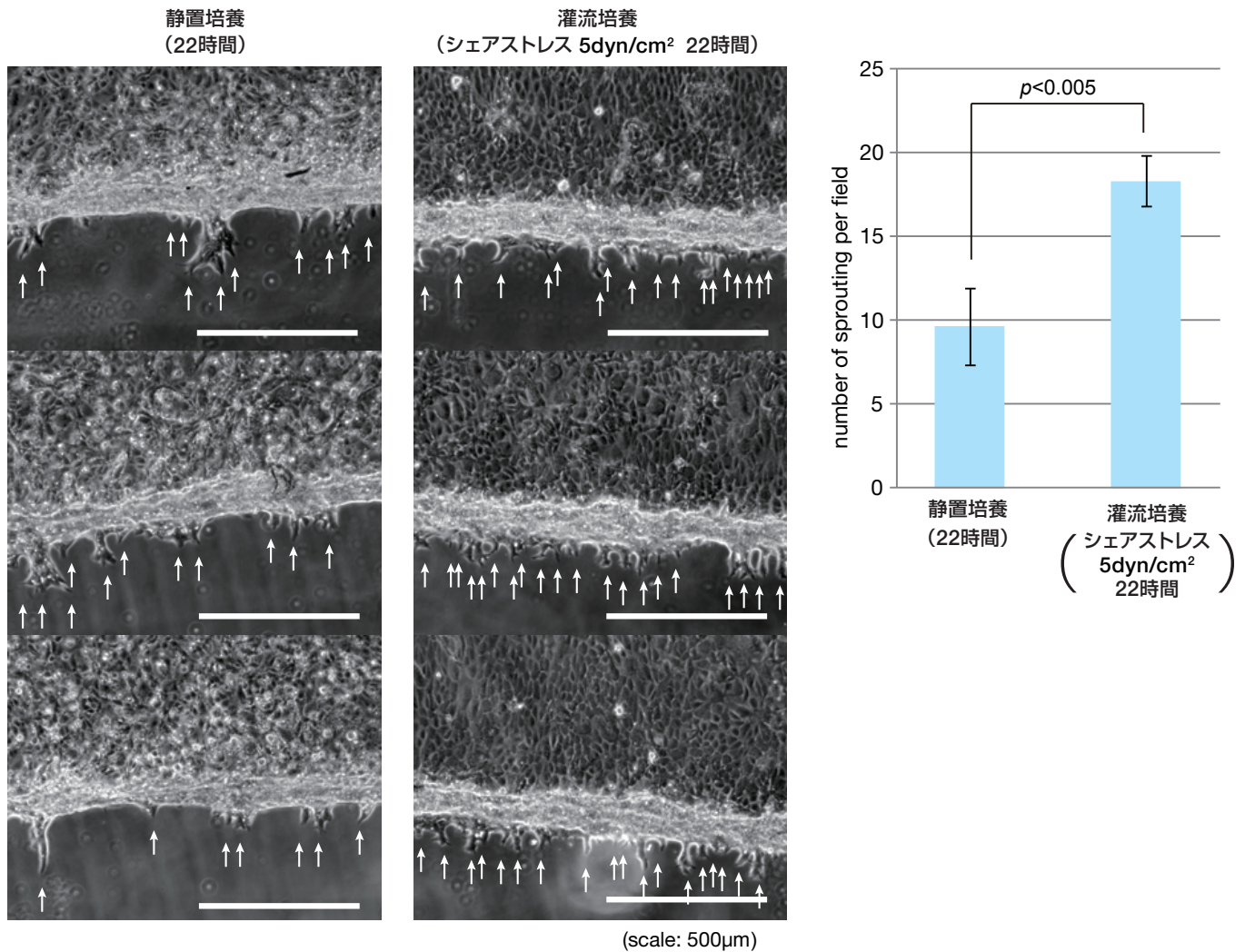
チャンネル式培養チャンバーの陥入部にマトリゲルを注入し、マトリゲル面にHUVECを重層しました。細胞の接着後、そのまま静置培養を継続した細胞、およびibidiポンプシステムを用いてシェアストレス条件下 (5dyne/cm<sup>2</sup>) で灌流培養した細胞について、培養22時間後に位相差顕微鏡でsproutingを観察しました。

- ・細胞名 : HUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞)
- ・灌流培養システム : ibidiポンプシステム (ibidi社)
- ・培養容器 : 特注仕様 チャンネル式培養チャンバー (右の写真)
- ・培地 : EGM-2
- ・ゲルマトリクス : マトリゲル (BD)
- ・顕微鏡 : オリンパスIX70
- ・解析ソフト : Roper社 Image-Pro Plus



### 結果

静置培養したHUVECと比較し、ibidiポンプシステムを用いてシェアストレス条件下で培養したHUVECではsproutingが促進されました。



データご提供

愛媛大学プロテオ医学研究センター 愛媛-ニコンバイオイメージングコアラボラトリー 井上博文先生

愛媛大学プロテオ医学研究センター 細胞増殖・腫瘍制御部門 東山繁樹先生

愛媛大学大学院医学系研究科 心臓血管呼吸器・再生外科学 鹿田文昭先生、泉谷裕則先生



## 製品のご紹介

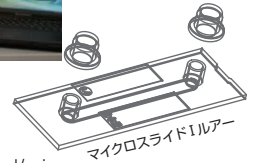
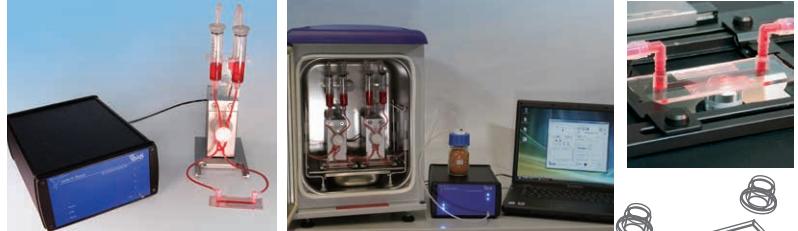


## 灌流（フロースルー）条件下の細胞観察システム

## ibidi PumpSystem

HUVECなどの内皮細胞(endothelial cell)をより生体内に近い条件で培養して観察が可能！

- ・ 灌流（フロースルー）条件下の細胞観察に最適です。
- ・ 左右シリンジのチャンネル切り換えで、途切れることなく長期間一定方向の還流が可能です。
- ・ ibidi社の様々なタイプのフロー培養用スライドから選択できます。
- ・ 専用ソフトにより、簡単にフロー条件のプログラムが可能です。
- ・ シェアストレスの強さや、定流速／脈動など自由自在です。



Cat.No.	包装単位	価格(税抜)
<b>ib10902</b> ibidi Pump System (ポンプ本体、シリンジ固定ユニット、PC)	1式	¥2,400,000
<b>ib10903</b> オプション 追加用シリンジ固定ユニット(Fluidic Unit)	1台	¥298,000
<b>専用消耗品 パフュージョンセット (Perfusion Set)</b>		
<b>ib10965</b> 15cm, ID 0.5mm, 2mL	3セット	お問合せください
<b>ib10961</b> 15cm, ID 0.8mm, 10mL	3セット	¥51,000
<b>ib10962</b> 15cm, ID 1.6mm, 10mL	3セット	¥51,000
<b>ib10966</b> 50cm, ID 0.5mm, 2mL	3セット	お問合せください
<b>ib10963</b> 50cm, ID 0.8mm, 10mL	3セット	¥51,000
<b>ib10964</b> 50cm, ID 1.6mm, 10mL	3セット	¥51,000

**【仕様】**

流速範囲 : 0.03 - 35 ml/min  
 シェアストレス : 0.3 - 150 dyn/cm<sup>2</sup>  
 培地量 : 2.5 - 12ml  
 (シリンジ消耗品セットに依存します。)

**(ポンプ本体)**

ポンプ圧 : 5 - 95mbar (推奨使用範囲)  
 使用環境 : 15 - 40℃  
 (湿度80%で31℃まで、湿度30%で40℃まで)  
 サイズ : 170×230×90mm (W×D×H) 2.4kg

**(Fluidic Unit : シリンジ固定用ユニット)**

使用環境 : 15 ~ 45℃(湿度100%まで対応)  
 サイズ : 85×135×270mm (W×D×H) 1.1kg  
 Fluidic Unitは4台まで接続可能です。

## 灌流培養用スライド

マイクロスライド I ルアー フロー キット

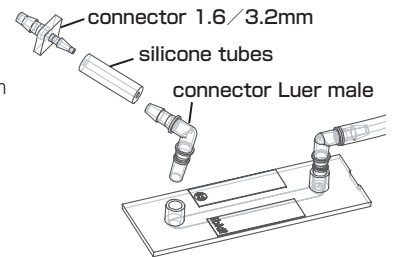
## μ-Slide I Luer flow kit

**■ チャンネル断面**

	0.2 Luer	0.4 Luer	0.6 Luer	0.8 Luer
仕様	0.2 Luer	0.4 Luer	0.6 Luer	0.8 Luer
チャンネル内の容積	50μl	100μl	150μl	200μl
チャンネル内の高さ	0.2mm	0.4mm	0.6mm	0.8mm
チャンネルの長さ	50mm	50mm	50mm	50mm
チャンネルの幅	5mm	5mm	5mm	5mm

**灌流（フロースルー）実験用セットパッケージ 内容**

- ・ 1× μ-Slide I Luer
- ・ 2× connector Luer male
- ・ 2× connector 1.6/3.2mm
- ・ 2× silicone tubes
- ・ 40cm : 2.0mm ID



0.2 Luer	0.4 Luer	0.6 Luer	0.8 Luer	コーティング	包装単位	価格(税抜)
<b>ib80066</b>	<b>ib80076</b>	<b>ib80086</b>	<b>ib80096</b>	滅菌済	1セット	¥10,000
<b>ib80061</b>	<b>ib80071</b>	<b>ib80081</b>	<b>ib80091</b>	滅菌済	1セット	¥10,000

\*接着細胞用表面処理

\* μ-Slide I Luerスライド単品 (15枚入り) 製品や、他の形状のスライドチャンバー製品もございます。  
 詳細はお問い合わせください。