



Application

初代ヒト線維芽細胞を用いたDNA損傷応答の観察

製品名

^{イビトリート}
μ-Plate 96well, ibiTreat (ib89626)

メーカー名

イビディ
ibidi 社

下記フィードバックは、広島大学 原爆放射線医科学研究所 放射線障害機構研究部門 放射線細胞応答研究分野 河合 秀彦様の御厚意により掲載させていただきました。

実験1

初めに、本アプリケーションに適した細胞観察用の96ウェルプレート製品を選定するため、5社7製品について、細胞接着性や細胞密度のバラつきなどを比較評価した。

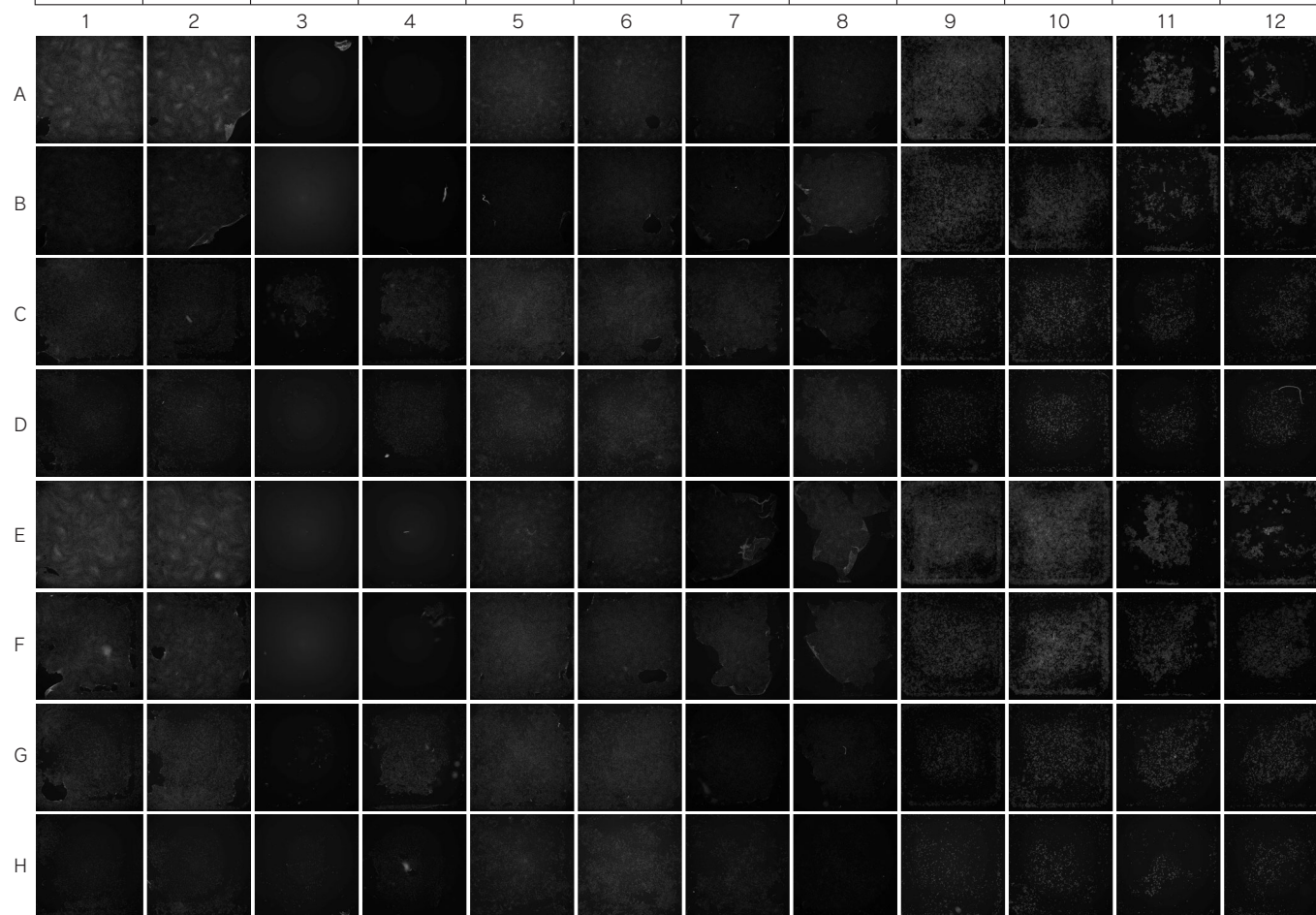
〈使用条件〉

細胞名 : TIG3, BJ1, MCF7
顕微鏡・撮影装置 : GE In Cell Analyzer 2000
細胞培養容器 : ibidi μ-Plate 96 well, ibiTreat (ib89626) を含む
96ウェルプレート5社7製品 (詳細は次ページ)
培地 (組成) : alpha-MEM+10%FBS

〈アッセイプロトコール〉

1. 1ウェルあたりの細胞播種数/方法 :
1×10³, 2×10³, 4×10³, 8×10³ cells/well
2. 播種後、2または4日間培養
3. 4%PFAで20分間室温で固定後、DAPI染色し、
IN Cell Analyzer 2000 2倍レンズで撮影

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	TIG3	TIG3	TIG3	TIG3	BJ1	BJ1	BJ1	BJ1	MCF7	MCF7	MCF7	MCF7
A	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³
B	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³
C	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³
D	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³
E	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³	8×10 ³
F	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³	4×10 ³
G	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³	2×10 ³
H	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³	1×10 ³



ibidi社 μ-Plate 96well ibiTreat (ib89626) の培養結果 (全ウェル)

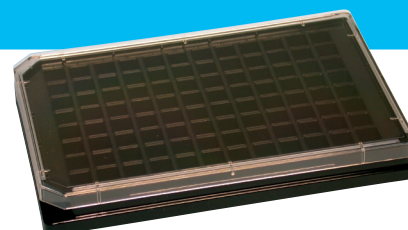
〈比較評価した96ウェルプレート 5社7製品〉

	底面の材質	底面の処理	培養結果 (抜粋)		
			E2	A7	B9
(1) ibidi社 μ-Plate 96well	独自のプラスチック素材フィルム	ibiTreat : 細胞培養処理			
(2) A社	ポリスチレン製フィルム	細胞培養処理			
(3) A社	カバーガラス	細胞培養処理			
(4) B社	クリスタルグレード ポリスチレン製フィルム	細胞培養処理			
(5) C社	高純度ポリスチレン製フィルム	細胞培養処理			
(6) D社	ポリスチレン製フィルム	Poly-D-Lysine コート			
(7) D社	ポリスチレン製フィルム	Collagen I コート			

ibidi社 μ-Plate96wellでは、他社製品で見られた著しい細胞の剥離 (矢印A) が少なく、細胞の付着が良好であった。また、細胞がウェルに均一に付着し、データのバラつきにつながるような細胞密度のバラつき (矢印B) が少なかった。結果として、ibidi社 μ-Plate96wellで最も良好な培養結果が得られた。

ibidi μ-Plate 96well ハイスループットアプリケーション対応プレート

- ibiTreatによる高い細胞接着性
- プレート底は共焦点顕微鏡に使用可能な、薄いプラスチックフィルム
⇒ ibidi社独自のプラスチックフィルムを使用 (ガラスと同等の光学性能、低い自家蛍光)
- ANSI/SBS規格に対応
- マルチチャンネルピペット、自動分注ロボットに対応可能
- 化合物スクリーニングや、トランスフェクションアッセイに使用可能

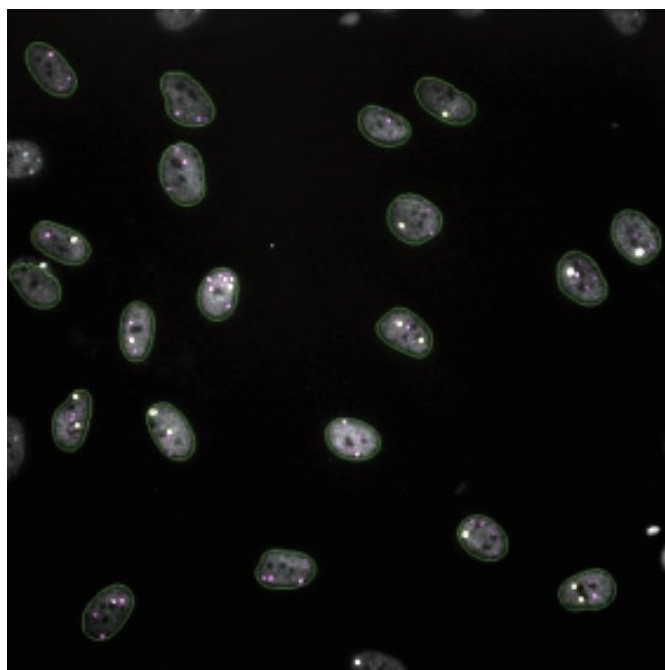
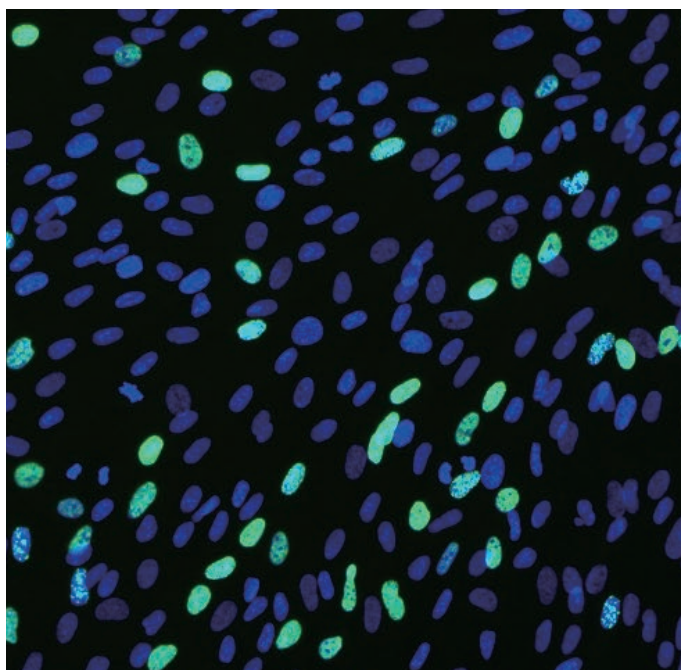


実験2

次に、選定されたibidi社 μ -Plate96wellを用い、実際のアプリケーション（初代ヒト線維芽細胞を用いたDNA損傷応答の観察）を試みた。

〈使用条件〉

細胞名 : ヒト正常線維芽細胞
 顕微鏡・撮影装置 : GE In Cell Analyzer 2000
 細胞培養容器 : ibidi μ -Plate 96 well, ibiTreat (ib89626)
 培地（組成） : alpha-MEM+10%FBS



ヒト正常線維芽細胞の蛍光染色画像のINCell Analyzer2000 (GE Healthcare) による撮影及び解析
 左側) Eduの取り込みによって複製DNAを蛍光標識し、細胞周期分布を解析（緑：Edu, 青：Hoechst 33342）
 右側) 電離放射線によるDNA損傷を53BP1抗体で蛍光免疫染色し、DNA損傷応答を定量化した。

その結果、ibidi社 μ -Plate96wellで良好な観察結果が得られ、本アプリケーションに適していることが確認された。



お客様のコメント

一般に96-wells plateに培養細胞を播種した場合、well底への細胞の付着および増殖が不均一となる傾向があるが、ibidi社のplateを用いた場合には、細胞は均一に付着し、増殖する。
 IN Cell AnalyzerやMulti-plate readerなどによる細胞を用いた多検体解析を行う場合、well内の細胞密度のばらつきがデータのばらつきにつながる事があるが、ibidi社の96-wells plateの使用によって、より正確なデータ取得と解析を行うことができる。
 また、他社の様々なコーティングplateと比較して、細胞の付着性もよく、多くのアプリケーションに用いることができる。
 また、各wellのサイズも大きい事から、ピペッティングや吸引などの操作も行いやすく、また、他社のplateに比べ、1wellあたり多くの細胞数を扱う事ができる。
 ibidi社のPlateの方が他社に比べて細胞の剥離が極めて少なく、そのためアプリケーションに用いる細胞をより多く得る事ができる。