



テクニカルレポート 102:

# UniFlex™ Culture System

単層細胞培養系への  
単軸性機械的負荷の適用法

Authors: Albert J. Banes, Ph.D., David Anderson, B.S., Jie Qi, Ph.D.

Document: UniFlex Tech Report, Rev 1.7

08-18-09

*Culturing Cells in a Mechanically Active Environment™*  
Flexcell International Corporation • 437 Dimmocks Mill Road, Suite 28 • Hillsborough, NC 27278  
800-728-3714 • (919) 732-1591 • FAX: (919) 732-5196 • [www.flexcellint.com](http://www.flexcellint.com)

COPYRIGHT © 2009 FLEXCELL® INTERNATIONAL CORPORATION



## アプリケーション

UniFlex™ フレキシブルボトム培養プレートは、単層培養系細胞に単軸性緊張(伸縮力)を適用するためにデザインされています。

## 背景

UniFlex™ (図 1)は、BioFlex® とTissue Train® に始まる、Flexcell® 社の特許製品フレキシブルボトム培養プレート族として加えられた最新メンバーです。既に実証されたFlexcell® の機械的負荷テクノロジーに基づく UniFlex™ の独自デザインにより、研究者は単層培養系細胞に対する単軸性伸縮力の効果を調べることができます。Flexcell® のBioFlex®, Tissue Train® 培養プレートと同様、そのアプリケーションは広範囲に及び、分子生物学研究の多領域に拡大しています。UniFlex™ とBioFlex® 培養プレートアプリケーションでの重要な相違点は、BioFlex® 培養プレートが単層培養系に同等双軸性伸縮を適用するのに対し、UniFlex™ は単軸性伸縮を適用できることです。同様に、UniFlex™ と線状 Tissue Train® 培養プレートアプリケーションでの重要な相違点は、線状 TissueTrain® 培養プレートが単軸性伸縮を三次元組織培養コンストラクトに適用するのに対し、UniFlex™ は単層培養系に適用できることです。アプリケーションの比較を要約して、表 1 に示します。

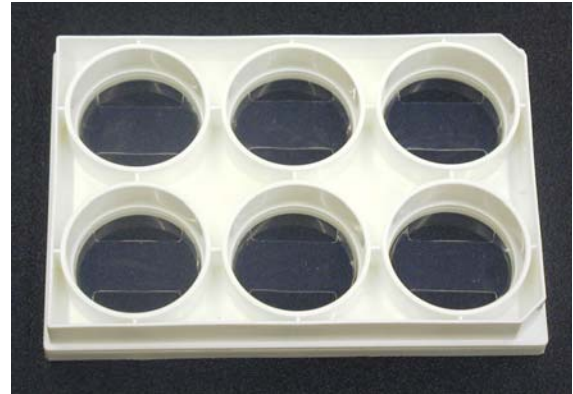


図 1. UniFlex™ フレキシブルボトム培養プレート

## 装置

UniFlex™ 培養プレートは、FX-5000™ Tension (図 2)、TissueTrain® のシステムすべてに含まれているスタンダード型BioFlex® ベースプレート(図 3)と作動するようにデザインされています。UniFlex™ には、線状 Tissue Train® 培養プレートと用いるのと同じ弧状 Arctangle™ Loading Stations™ (図 4、5)も必要です。BioFlex®, TissueTrain® 培養プレートを使用する際と同じく、FX-5000™ Tension システムをハードウェア、FlexSoft® をソフトウェアのプラットフォームとして、UniFlex™ 培養プレートで望みの単軸性伸縮レジメンを制御します。調節された単軸性伸縮レジメンをUniFlex™ 培養プレートに適用するためには、適切な伸縮特性データを用いてレジメンを作成する必要があります。その手順とインフォメーションに関しては、Flexcell® 社の培養プレートとLoading Station™ ユーザー用マニュアルをご覧ください。

表 1. Flexcell® 培養プレート/Loading Station アプリケーションの比較

培養プレートの型	培養系 アプリケーション	伸縮方向	Loading Stations™
UniFlex™	単層培養系	単軸性	Arctangle™
BioFlex®	単層培養系	同等双軸性	平円筒状
Tissue Train®	3-D組織培養系	単軸性	Arctangle™



図 2. Flexercell® FX-5000™ Tension System

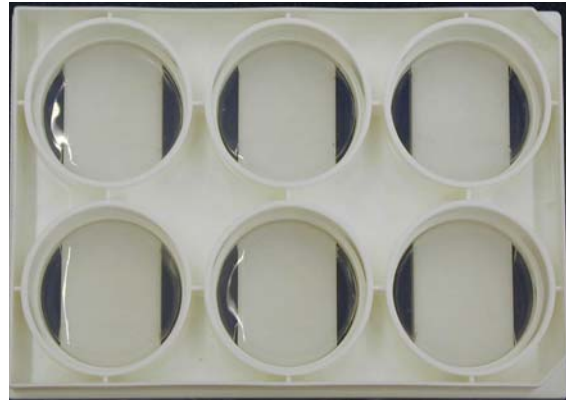


図 5. UniFlex™ 培養プレートをArcangle™ Loading Stations にセットした様子



図 3. スタンダード型BioFlex® ベースプレート

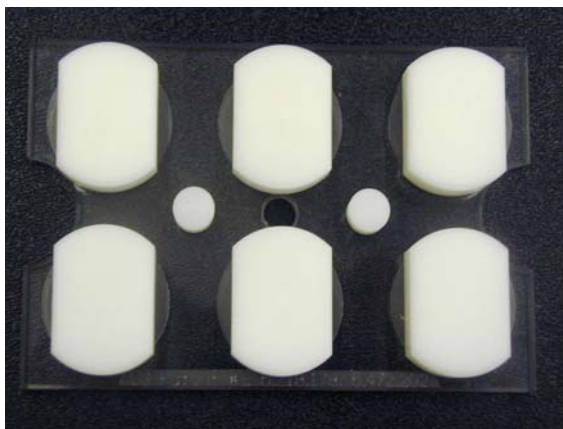


図 4. Arcangle™ Loading Stations™

### 寸法的特徴

UniFlex™ 培養プレートは、6-ウェル型で、各ウェルの直径は35 mm、全体としてBioFlex® および Tissue Train® 培養プレートと同一の形状をしています。単軸性伸縮が適用されるのは、UniFlex™ ウェル面中央にできる長方形部分に当たります(図 6、7)。その領域のサイズは15.25 mm x 24.18 mm (0.600" x 0.952")です。単軸性緊張は、伸縮方向24.18 mm の軸沿いに、総面積3.68 cm<sup>2</sup> (0.57 in<sup>2</sup>)に適用されます。

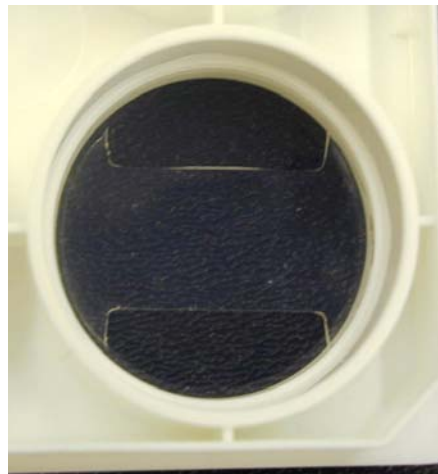


図 6. UniFlex™ 単一ウェル

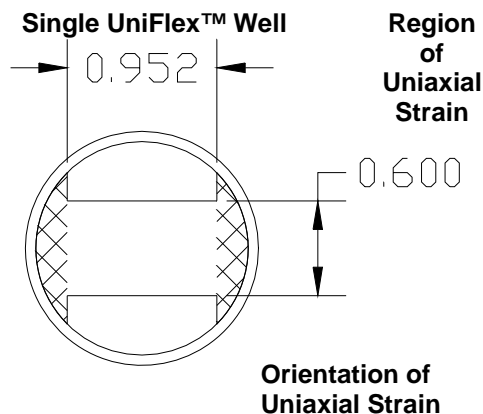


図 7. UniFlex™ ウェル面の図で、単軸性伸縮の部位と方向を示します。総面積=3.68 cm<sup>2</sup>

## 単軸性伸縮特性

UniFlex™ 培養プレートの伸縮特性に関する特徴付けとその結果は、Flexcell® 社の培養プレートと Loading Station™ ユーザー用マニュアルに表で説明されています。表のデータから、この特定の単軸性伸縮域にわたる真空圧レベルと平均伸縮度(%伸長度)の関係が示されます。この単軸性伸縮域全面において平均伸縮度のバラツキは±1.5%です。最大平均伸縮度は 0.122 (12.2%伸長度)まで得られ、最小平均伸縮度は 0.011 (1.1%伸長度)です。

## 細胞外マトリックス(ECM)コーティング

UniFlex™ 培養プレートにおいても、BioFlex® フレキシブルボトム培養プレート族にあるすべての標準表面処理から選択できます。これら種々のECMコーティング処理は、フレキシブルボトム上の単軸性伸縮領域のみになされています(図 7)。Flexcell® 社の標準ECMコーティング処理の種類: I 型コラーゲン、ラミニン、エラスチン、プロネクチン(Pronectin®、ヒトのフィブロネクチンを遺伝子工学的に変換したもの)、無処理。コーティングによる製品番号(ID)を下記の表 2 で示します。

ECM コーティング	製品番号(ID)
I 型コラーゲン	UF-4001C
プロネクチン	UF-4001P
ラミニン	UF-4001L
エラスチン	UF-4001E
アミノ基	UF-4001A
無処理	UF-4001U

表 2. UniFlex™ 培養プレートECM標準表面処理

## UniFlex™ プレート上への細胞プレatingと顕微鏡観察

UniFlex™ のシリコン片上に細胞を直接プレatingします。その後20-30分間において、ウェルに培養メデュムを満たす前に細胞を接着させる必要があります(細胞のタイプによってこの時間的枠は変わります)。倒立顕微鏡下に、10x 対物レンズを用い、二重のシリコンメンブレンを通して細胞を直接観察することができます。40x レンズを用いるには、厚さ1mm (0.040")の二重メンブレンを通して見るに足る作動距離(working distance)を必要とします。正立顕微鏡を用いて細胞を上方から観察することもできます。

## 特殊なコンフィギュレーション

標準ECMコーティングの他に、Flexcell® 社では特殊なUniFlex™ のコンフィギュレーションを提供してユーザーの皆様の特定のニーズを充たしています。例として、UniFlex™ のメンブレンを個別にFlexcell® の単一ウェル型顕微鏡用伸展装置StageFlexer® に使用する形が挙げられます。その他、UniFlex™ の特殊な形状例として、配列した("aligned")コラーゲンECM、樋状面("troughed")や凹凸面("textured")などの幾何学的表面をフレキシブルボトム表面に埋め込むことも挙げられます。このような特殊アプリケーションについては、個々別々に考慮の上、見積もりいたします。

**UniFlex™ 参考文献**

**Bhatt KA, Chang EI, Warren SM, Lin SE, Bastidas N, Ghali S, Thibboneir A, Capla JM, McCarthy JG, Gurtner GC.** Uniaxial mechanical strain: an in vitro correlate to distraction osteogenesis. *J Surg Res* 143(2):329-336, 2007. Epub 2007 Oct 22.

**Hamilton DW, Maul TM, Vorp DA.** Characterization of the response of bone marrow-derived progenitor cells to cyclic strain: implications for vascular tissue-engineering applications. *Tissue Engineering* 10(3-4):361-369, 2004.

**Jones BF, Wall ME, Carroll RL, Washburn S, Banes AJ.** Ligament cells stretch-adapted on a microgrooved substrate increase intercellular communication in response to a mechanical stimulus. *J Biomech* 38(8):1653-1664, 2005.

**Lee WC, Maul TM, Vorp DA, Rubin JP, Marra KG.** Effects of uniaxial cyclic strain on adipose-derived stem cell morphology, proliferation, and differentiation. *Biomech Model Mechanobiol* 6(4):265-273, 2007. Epub 2006 Aug 12.

**Matheson LA, Jack FN, Maksym GN, Paul SJ, Labow RS.** Characterization of the Flexcell Uniflex cyclic strain culture system with U937 macrophage-like cells. *Biomaterials* 27(2):226-233, 2006.

**Matheson LA, Maksym GN, Santerre JP, Labow RS.** Differential effects of uniaxial and biaxial strain on U937 macrophage-like cell morphology: Influence of extracellular matrix type proteins. *J Biomed Mater Res A* 81:971-981, 2007.

**Flexcell® 特許**

Flexcell® International Corporation の製品は、以下に掲げる合衆国あるいは国際的な特許と、その他申請中の特許により保護されています:

US Patent	4,789,601
US Patent	4,822,741
US Patent	4,839,280
US Patent	5,122,470
US Patent	5,518,909
US Patent	5,593,891
US Patent	6,037,141
US Patent	6,048,723
US Patent	6,218,178
US Patent	6,472,202
US Patent	6,586,235
Japanese Patent	25-28174
German Patent	3855631.6
United Kingdom Patent	0,365,536
Canadian Patent	2,204,862