



テクニカル レポート 103:

StageFlexer®

メンブレンレベルにおける伸縮度の定量

Authors: Colin Frazier, B.S., David Anderson, B.S., Michelle E. Wall, Ph.D., Ruwan Sumanasinghe, Ph.D., and Albert J. Banes, Ph.D.

Document: StageFlexer Tech Report, Rev 2.2

08-20-09

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

COPYRIGHT © 2009 FLEXCELL® INTERNATIONAL CORPORATION



イントロダクション

StageFlexer® はユーザーが細胞ストレッチ活動を顕微鏡下で観察できるようにデザインされたものです。一枚の径42 mm表面処理シリコンメンブレンの一部が細胞培養域となります。このメンブレンを小円筒形の真空チャンバー上に固定し、その中へ吸引することによりシリコンメンブレン表面上の培養細胞に伸縮刺激を加えます。メンブレンは、開放性チャンバー内で自由に変形するか、あるいはローディングステーション(Loading Station™)面にわたって変形し、細胞に均一な双軸性伸縮を適用することができます。Loading Station™ には直径の異なる三種類(25 mm、28 mm、31mm)があり、培養面積を変化させます。StageFlexer® はFlexcell® Tension システムと作動し、細胞を顕微鏡下に観察しながら特定のレジメンでストレッチすることが可能です。

STAGEFLEXER® LOADING STATIONS™

StageFlexer® Loading Station™ は、メンブレン全面にわたりすべての放射状線(半径)上で放射方向および周方向に均一な伸縮(同等双軸性伸縮)を負荷する目的でデザインされたものです。その均一性は、ストレッチ中にポスト上面と接触を保つすべての放射状線全長にわたり維持されます。Loading Station™ はアクリル製で、StageFlexer® ウェル内の中心、上面がStageFlexer® メンブレン面直下に位置するようなデザインになっています。真空を適用すると、StageFlexer® メンブレンはポスト全面にわたって牽引され、単一平面上均一にストレッチされた円を生じます。シリコン性潤滑剤を用いてポストを滑らかにし、シリコン製メンブレンとアクリル製Loading Station™ 間の摩擦を最小限に抑える効果的なグリース境界面を形成します。Loading Station™ (円形ローディングポスト)全面にわたってストレッチしているメンブレン部分には放射状線が無数に存在するとして、この領域にある個々の細胞はその中心を通る放射状線の方向において同じ伸縮力を受けることになります。

伸縮度の定量

直径の異なる三種類のLoading Stations™ を各々StageFlexer® にセットして以下の試験をしました。StageFlexer® メンブレン上に二軸性の点状

模様をプリントすることにより伸縮度を実験的に定量しました。伸縮度は対になった各2点間距離をラベルし、真空圧レベルに対する距離の変位を測定する方法で定量しました。真空度の測定はすべてデジタル式圧力計で行い、ロビナー型真空ポンプ(Robinair #15101-B; 141.6 l/min)を用いて真空をかけました。ラバーメンブレンが摩擦を生ずることなく動けるように、各デルリンポストにロクタイト(Loctite®)シリコン性潤滑剤を塗布しました。

点間距離は下記の方法で測定しました:

マクロレンズ付きコンパクトデジタルカメラ(Canon Compact EOS Digital Rebel XTI®)をメンブレンの真上に水平位になるように吊しました。対になった2点がビデオ画面内で最長距離に位置するようにカメラの解像度を調整することにより、2点間のピクセル数最大値を求め、最大限正確な測定値を得ました。FX-5000™ Tension システムで、レジメンを圧力0-90 kPaにわたり段階的に上昇させるようにデザインしました。各ステップ毎に画像をメモリーカード(Lexar™)に取り込みイメージ解析ソフトウェア(CS2、Adobe Photoshop®)を用いて各点間の距離を測定しました。

結果とディスカッション

結果から、真空圧レベルと伸縮度との間にほぼ直線に近い相関関係のあることが示されました。点を付けた2本の異なる放射状線(半径)の放射伸縮は均一であるとして、各半径は真空圧レベルに従い均一に増大すると仮定しました。この仮定により、円周の変化は単一点、即ち放射伸縮に用いたと同じ点対から測定できることになります。

以下に示す三つのグラフはこの実験結果で、各直径のLoading Station™(25 mm、28 mm、31 mm)を用いた場合の真空圧レベルと伸縮度の関係を示します。

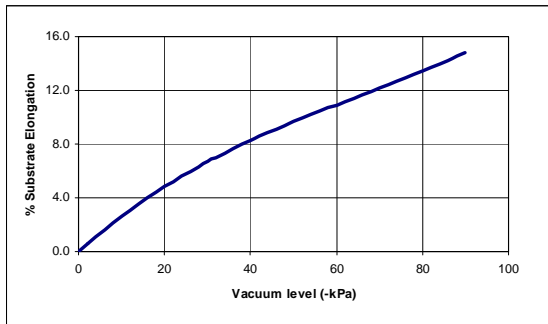


図 1. 25 mmポストをBioFlex® Loading Station™ に用いた場合のStageFlexer® メンブレン平均放射伸縮と真空レベルの関係。

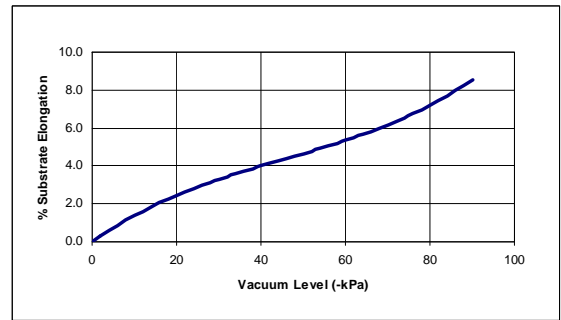


図 3. 31 mmポストをBioFlex® Loading Station™ に用いた場合のStageFlexer® メンブレン平均放射伸縮と真空レベルの関係。

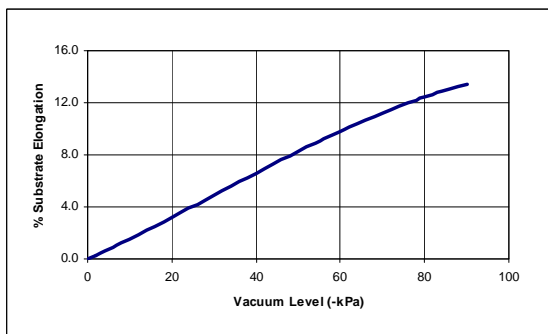


図 2. 28 mmポストをBioFlex® Loading Station™ に用いた場合のStageFlexer® メンブレン平均放射伸縮と真空レベルの関係。