



テクニカル レポート 205:

“基質ショック”

細胞増殖に関する問題対処

Document: Substrate Shock Tech Report, Rev 1.1

06-24-2009

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



細胞増殖に必要とされる条件は、細胞株間で異なると同時に、同じ細胞タイプでも分離された種間で異なってくる可能性があります。さらに、初代培養からの単一細胞型の分離には、様々な困難が伴うことがあるでしょう。多くの手順を経て細胞を初代培養から分離したその後で、実験用Flex I® プレートのフレキシブルメンブレンに細胞が接着増殖しないのには、少くともいらさらせられます。以下に述べる手段は、メンブレン上での細胞増殖を改善するためにお勧めするもので、いらさらの減少に役立つでしょう。

基質を細胞タイプに合わせる

大部分の細胞タイプは、Flex I® コラーゲンプレートのI型コラーゲン基質でよく増殖するようです。この細胞外マトリックス(ECM) (Flexcell® で使用されているその他のECMも同様)はシリコンゴム(silastic)のメンブレンに共有結合しています。すなわち、基本的にマトリックスが単層で存在するわけです。したがって、そのマトリックスが単にメンブレン上に吸収されている場合に比べ、より均一な基質が得られます。Flexcell® 製品ではその他の基質として、IV型コラーゲン、エラスチン、ラミニン、フィブロネクチン、あるいはアミノ基、カルビキシル基などの表面処理から選択でき、いずれも直径25 mm 6穴型および83 mm 単一ウェル型プレートに、特殊ラバーストック基底にも従来のプラスチック底にも同様に施されています。これらの基質は一般的に、基質適合性という観点から以下のような順に並列することができます。このランキングには共通ガイドとしての意図はなく、また、特定の細胞について最も適合性のある基質を決定する実験をする必要を省くような目的でもありません。

最も一般的 -----> 最も特殊

I型コラーゲン、フィブロネクチン、エラスチン、ラミニン、IV型コラーゲン、アミノ基、カルビキシル基

微生物によるコンタミネーション

マイコプラズマ(*Mycoplasma*)感染は細胞培養にとって有害な影響を及ぼす可能性があります。マイコプラズマコンタミネーションの潜在的影響としては、増殖速度の変化、形質転換の変化、染色体の異常、核酸合成および蛋白合成の変化、などが挙げられます(Stanbridge, 1981)。Flex I® のシリコンゴム性

基質上では、基質変化がひとつのストレスになると、新しい培養表面に細胞をプレーティングしたときには単純に、いつもより注意深く細胞観察する結果、マイコプラズマに原因するこのような影響は一層顕著になることがあります。もしFlex I® プレート培養で増殖度の低下、細胞形態変化など細胞に異常な反応が認められる場合は、マイコプラズマあるいはその他の微生物の存在を検査する必要があります。程度によっては一回の検査では十分でないことがしばしばあるので、上述のようなコンタミネーションの可能性を除外する前に、検査を何回か行うつもりで計画を立てる必要があります。

基質転換によるショック

プラスチックの培養プレート面で分離された細胞や育てられていた細胞は、プラスチックからシリコンメンブレンへ継代された時、通常に加えてさらに傷害を受けるようです。たいていの場合、細胞の回復は速やかで、基質変化により特に問題を生ずることはありません。しかしながら、細胞によっては基質スイッチへの対応が難しく、回復に時間がかかることがあります。細胞接着、粘着、増殖に関する問題に直面している方は、ラバーで表面被覆した大型の培養ディッシュが役に立つでしょう。細胞をこれで予備増殖し、それから小型の実験用プレートに移植してください。Flexcell® の直径83 mm 単穴プレート、Flex III™ はこの目的で製造されています。組織からの細胞の初代分離を、プラスチックの培養ディッシュと同じ技法を用いて、直接このプレート上で行います(Freshney, 1987)。細胞はラバー基質に順化するようになり、継代したり分割したりして実験用に6ウェルのプレート内へ移植した際に、受けるショックが少なくすみます。

参考文献

Stanbridge EJ, 1981. Mycoplasma Detection -- an Obligation to Scientific Accuracy. *Israel J Med Sci* 17:563-568.

Freshney IR, 1987. Culture of Animals Cells -- A Manual of Basic Technique. 2nd Ed. New York, Wiley-Liss.



Ryan JA, 1994. Understanding and managing cell culture contamination. Corning, Inc. Technical Publications TC-CI-559.