



テクニカル レポート 206:

Flexcell® 培養プレート上 の細胞観察法

Document: Viewing Cells 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



FLEX I®、FLEX II® シリーズ培養プレート上の細胞観察

Flex I® 培養プレートのシラスティックメンブレン上で増殖する細胞を標準型の細胞培養用顕微鏡で見るとは、空気/ラバー境界面の屈折率を修正しない限り困難な可能性があります。屈折率を変える最も簡単な方法は、Flex I® プレートは浅い皿に入れ、水をシラスティックメンブレン底部と接触するまで満たしてやります。ひとたび空気/ラバー境界面が空気/水/ラバーになると、培養面の細胞は位相差でも明視野でも容易に観察、撮影することができます。

径35 mm、6 ウェル型培養プレートの蓋は、Flex I® プレートと水を入れるに十分余裕があります。水を満たし過ぎないように、ラバーメンブレン下面と接触するに十分なレベルまでまず入れます。Flex I® プレートの片側の端を最初に浸水させて、プレートの下から気泡を追い出すようにします。メンブレン下面に気泡が入っていないことを確認してください。

Flex I® プレートの蓋に水蒸気が凝縮するとコントラストを低下させる原因になるので、プレートの蓋と底の温度を温かく保ってください。蓋が外れたり、うき上がったりしない限り、ウェルの滅菌性は損なわれません。インキュベーター内に戻す前に、Flex I® プレートの底を70%エタノールで清拭することもできます。

Flex II® プレートも上記のようにして観察できますが、通常は水うけ皿を必要としません。プレート底面のプラスチックにより屈折率が変わられるので、それ以上のセットアップをしないで細胞を観察することができます。

BioFLEX® 培養プレート上の細胞観察

BioFlex® 上の細胞は、倒立型あるいは正立型(標準型)顕微鏡を用いて観察することができます。以下は、各々を用いた細胞観察法です：

倒立型顕微鏡

倒立位相差顕微鏡では、メンブレン下面から細胞の観察を行うことができます。BioFlex® 培養プレートでは、細胞培養面が一般のプレートよりもわずかに高い、すなわち対物鏡からの距離が増している点が異なります。したがって、BioFlex® メンブレン培養面の細胞を観察するには、対物鏡の垂直運動を停止する機構を除去あるいは調整して、対物レンズをメンブレンに近づくまで上げて焦点を合わせられるようにします。代わりに、顕微鏡側タレットと対物鏡との間にスパーサーリングを装着することもできます。スパーサーリング(拡張リング)は普通ネジ込み装着するものです。最善策の決定にも、スパーサーリングに関しても、顕微鏡の製造元へお問い合わせください。細胞観察に先立ち、ラバーメンブレン表面のシリコン性潤滑剤を除去します。潤滑剤の除去法については、下記の指示を参照してください。

正立型(標準型)顕微鏡

標準型顕微鏡により、細胞を直接上方から観察することができます。観察には水浸対物レンズ(40X)を使用する必要があります。この対物レンズをBioFlex® ウェル内へ上方から挿入する必要があります。**(ご注意: ウェルの壁により、メンブレン上の観察視野がある程度制限されます。)**細胞観察に先立ち、ラバーメンブレン表面のシリコン性潤滑剤を除去します。潤滑剤の除去法については、下記の指示を参照してください。

BioFLEX® メンブレン表面のシリコン性潤滑剤(ロックタイト、Loctite®)の除去

ご注意: 細胞を固定した後に下記の手順で行ってください。

1. 乾いた綿球で、余剰の潤滑剤を出来るだけ拭き取ります。綿球が2個くらい要ります。メンブレン表面に残っているのは潤滑剤の薄膜だけになるようにします。



2. 次に、新しい綿球をクレンザー (Formula 409®)、窓ガラスクリーナー、手洗い用ソープのような刺激の少ない洗剤で湿し、濡れた綿球でウェル全表面を優しく擦ります。必要ならば新しい綿球に新たに洗剤を湿して、メンブレン表面に残った潤滑剤が完全に除かれるまでこれを繰り返してください。
3. スプレー、洗浄ピン、分注ピン等を用い、きれいにした表面を脱イオン水でリンスします。
4. 最後に、キムワイプ (Kimwipe®) のようなけぼの出ないワイプで表面を拭きます。