



Application

初代培養ラット大脳皮質アストロサイトの Ca⁺イメージング

製品名

マイクロディッシュ
 μ -Dish 35 mm, high, ibiTreat (ib81156)

メーカー名

イビディ
Ibidi 社

下記フィードバックは、山梨大学大学院 医学工学総合研究部 薬理学教室 篠崎陽一講師、森澤陽介様、井村誉史雄様、平山友里様、柴田圭輔助教、藤下加代子助教、小泉修一教授の御厚意により掲載させていただきました。

初代培養ラット大脳皮質アストロサイトのカルシウムイメージング (Fura-2法) について、ガラスボトムディッシュ、一般的なカルチャーディッシュ、ibidi社プラスチックボトムディッシュ (μ -Dish) を比較しました。

使用条件

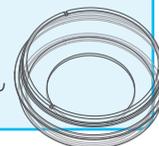
細胞名 : 初代培養ラット大脳皮質アストロサイト
顕微鏡・撮影装置 : Nikon TE-2000-U
解析ソフト : Aquacosmos (浜松ホトニクス)
細胞培養容器 : ibidi μ -Dish 35 mm, high (ib81156)
培地 : Gibco DMEM培地 [5% FBS, 5% HS, penicillin (200 U/mL), streptomycin (200 μ g/mL)]

ibidi プラスチックボトムディッシュ μ -Dish

プラスチック細胞培養容器そのままの培養条件でアッセイが行えます!

一般的なガラスボトムディッシュと比べて…

- 細胞が安定に接着します
- センシティブな細胞でも形状が変化しません
- 同等の光学性能です (蛍光観察も可能)



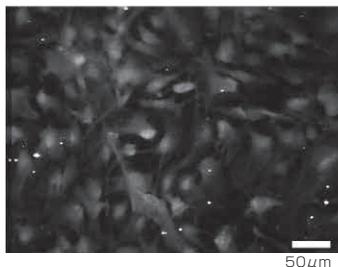
アッセイプロトコール

1. 1×10^5 cells/mLの細胞懸濁液を μ -Dishに0.5 mLで播種
2. 1週間インキュベートし、Ca²⁺測定用バッファー (150 mM NaCl, 10 mM D-glucose, 25 mM HEPES, 5 mM KCl, 1.2 mM MgCl₂, 1.8 mM CaCl₂) にてfura-2AM (10 μ M)を細胞に導入(室温、45分間)
3. Ca²⁺測定用バッファーにて細胞外のfura-2AMを洗浄・除去し、測定

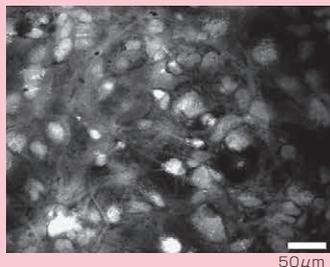
結果

1. Fura-2 蛍光画像(excitation : 340 nm, emission : 510 nm)

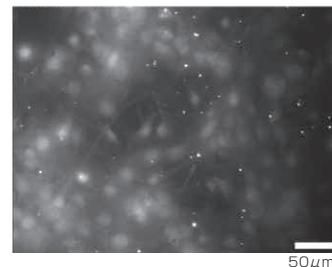
一般的なガラスボトムディッシュ



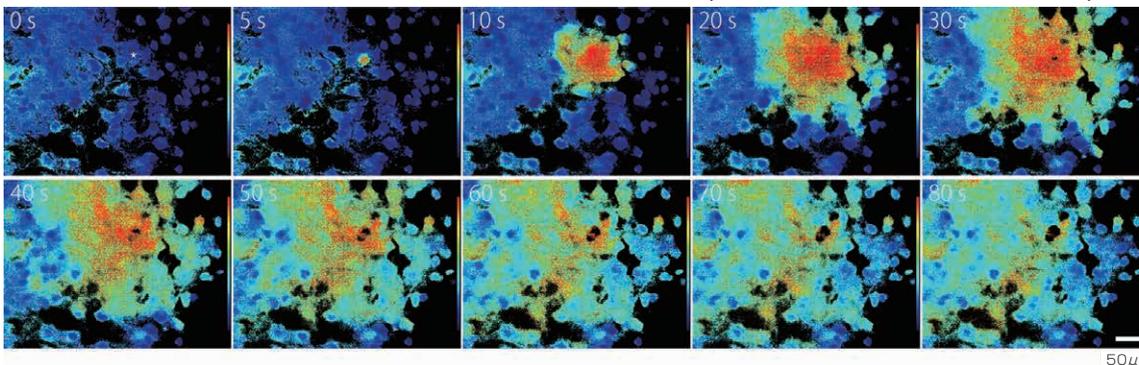
μ -Dish (プラスチックボトムディッシュ)



一般的なカルチャーディッシュ



2. アストロサイトにおける機械刺激によるカルシウムウェーブの広がり(*の位置を刺激, 340/380 nmの励起比画像)



ibidi社 μ -Dish
プラスチックボトム
ディッシュ使用



お客様のコメント

ガラスボトムディッシュよりも細胞の接着及び生育がよく、カルシウム測定時のバックグラウンドが低くfura-2のシグナルも良好に得られる。