



Application

ibiTreat表面に対する細胞接着性の検証 および、位相差顕微鏡を使用した、 アポトーシスに伴う細胞形態変化の観察事例

製品名

ibidi μ -Dish 35mm High, ibiTreat (Cat.No. ib81156)

メーカー名

ibidi 社

下記のデータは、筑波大学 医学医療系 宮本 崇史様のご厚意により掲載させて頂きました。

概要

本アプリケーションノートでは、ibiTreatを行ったibidiポリマーの使用感を検証するために、本素材が採用されたibidi μ -Dish 35mm Highを、位相差顕微鏡を用いた細胞形態観察に使用し、ガラスボトムディッシュと比較検討を行いました。

その結果、播種24時間後、細胞の接着状態に差が見られ、ibidiポリマー上では、細胞が速やかに定着されることがわかりました。

次に、このibidi μ -Dish 35mm Highを、アポトーシス誘導後の細胞観察に使用した結果、アポトーシス誘導に伴う細胞形態変化が明瞭に観察できました。

背景

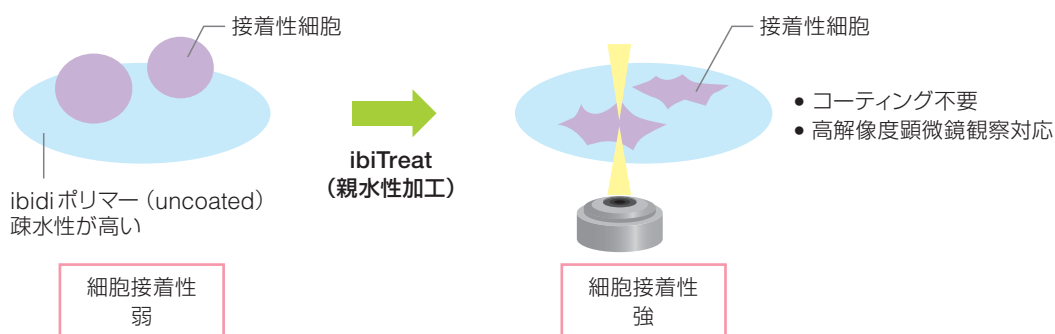
キーワード：ibiTreat

ibidiポリマーに対して行う親水性表面加工のこと。プラスチック製培養ディッシュ同様の細胞接着力が得られる。

培養ディッシュの多くは、ポリスチレンを素材としています。このポリスチレンは、元来、疎水性が高く、細胞が接着しにくい素材です。このため、接着性細胞の培養に用いられるディッシュの多くは、ポリスチレンに対し、親水性表面加工を施すことで細胞が接着できるようにしています。

ibidiで採用されている素材「ibidiポリマー」も、疎水性の高いibidiポリマーに対し、親水性表面加工を施し、細胞接着力を高めています。この加工をibidi独自の技術として「ibiTreat」と言います。

ibiTreatは、ibidiポリマーが持つ、顕微鏡観察に適した、ガラスと同等の光学特性を損なうことなく、細胞の接着力を高めることができます。このため、ibiTreatした表面上では、コーティング不要で十分な細胞接着力が得られる上に、しっかりと接着した状態の細胞を高解像度で観察することが出来ます。



使用機器

顕微鏡観察用ディッシュ：

ibidi μ -Dish 35mm High, ibiTreat (Cat.No. ib81156)

<比較対象>M社製ガラスボトムディッシュ

顕微鏡：Nikon 倒立顕微鏡 Eclipse Ts2R

対物レンズ：

Nikon CFI Plan Fluor DL 4xF

Nikon CFI S Plan Fluor ELWD ADM 20xC

細胞：Hela 細胞

培養液組成：

DMEM (Thermo Fisher, 11965118)

FBS (Thermo Fisher, 10270-106, lot 42Q9180K)、終濃度 10%

Zell Shield (Minerva Biolabs GmbH, 13-0050)、終濃度 1%

手順

接着性検証実験

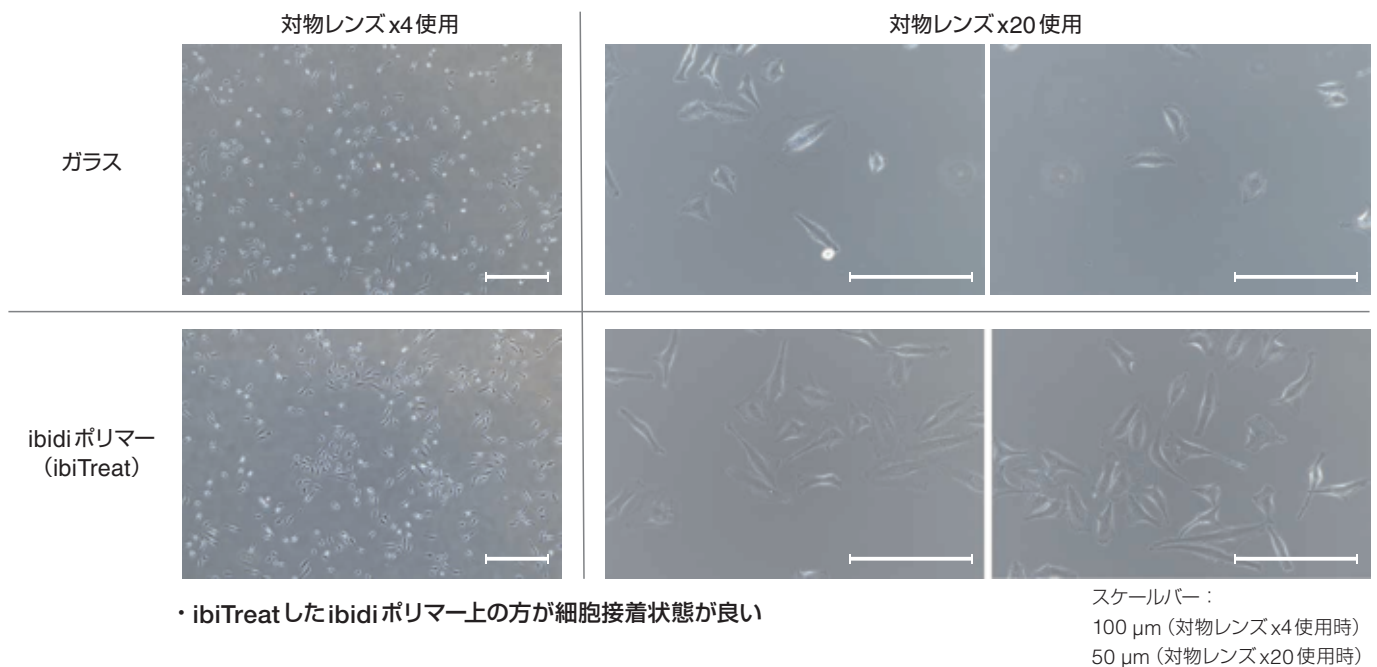
1. HeLa 細胞を 2×10^4 cells/dish となるように播種した。
2. 24 時間後および 72 時間後、細胞の明視野観察を行い、撮影を行った。

STS によるアポトーシス誘導実験結果

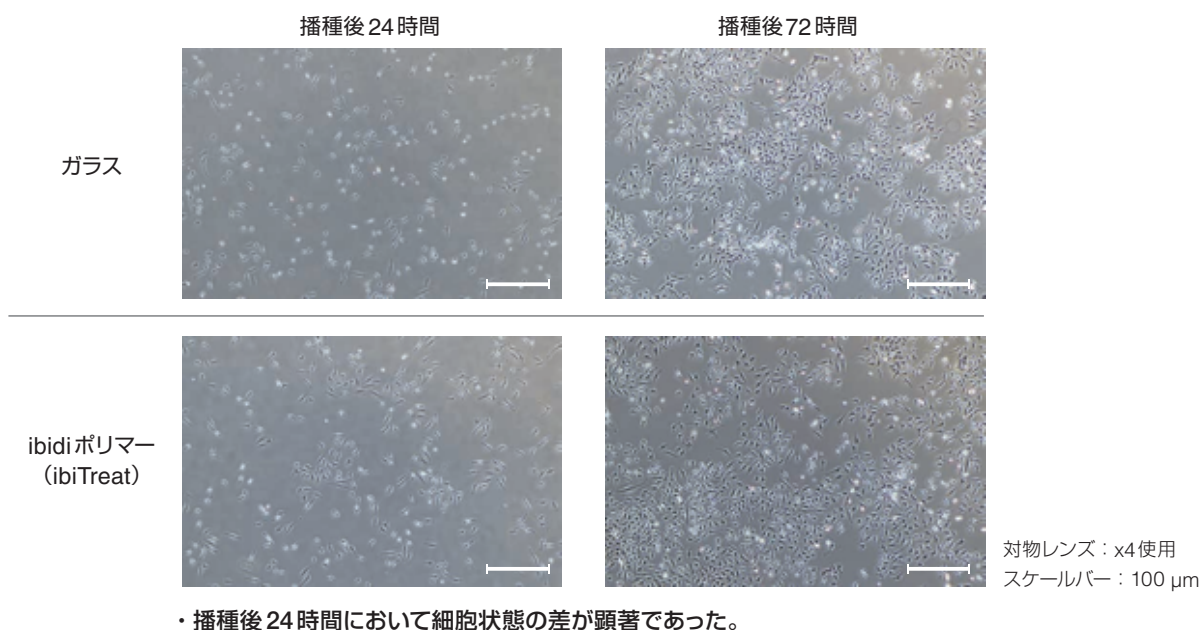
1. HeLa 細胞を 2×10^5 cells/dish となるように播種した。
2. 24 時間後に DMSO または Staurosporine (STS, MERCK, 569396-100UGCN, 終濃度 $1 \mu\text{M}$) を培地に添加し、6 時間静置した。
3. 1 mL の PBS で 1 回洗浄した後、4% PFA (Wako, 163-20145) で室温、10 分処理し、細胞を固定。その後、1 mL の PBS で 2 回洗浄した。
4. 明視野顕微鏡観察を行った。対物レンズは $\times 4$, $\times 20$ で撮影を行った。

結果

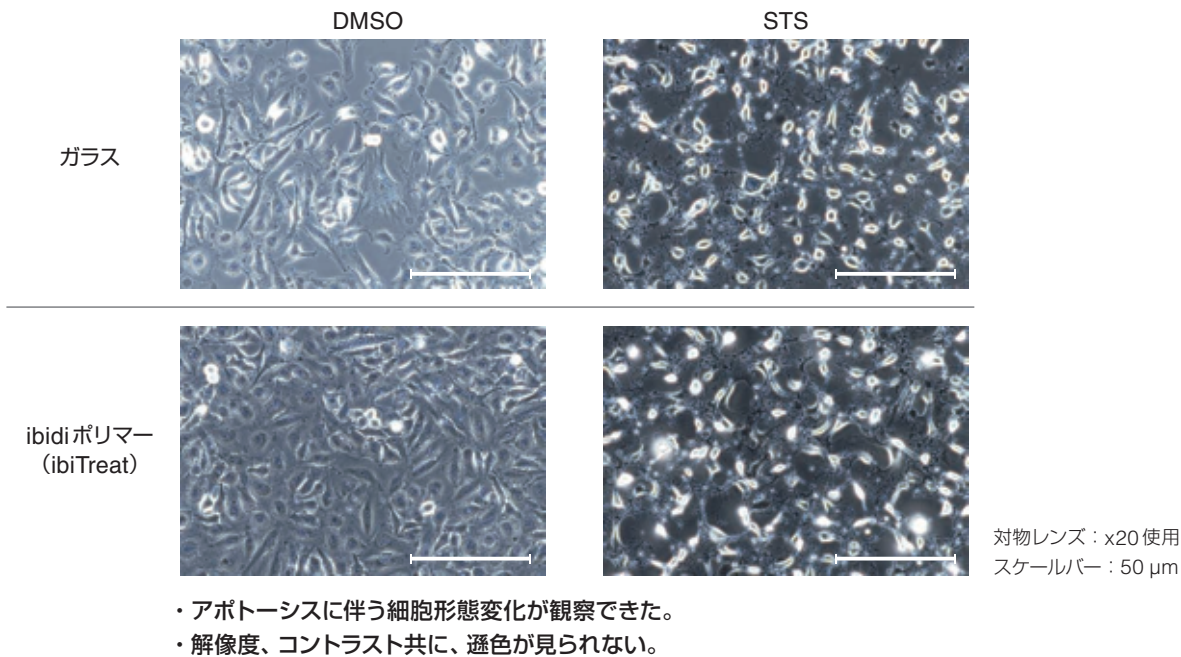
結果 1-1：播種後 24 時間における細胞接着性の検証



結果 1-2：細胞状態の経時変化



結果2：STSによるアポトーシス誘導実験結果



結論

ibiTreatを行ったibidiポリマー上では、①ガラスボトムディッシュと比較して細胞の定着が早く、かつ②明瞭な明視野観察ができることがわかった。このことは、ibiTreatを行ったibidiポリマー表面の細胞形態観察における有用性を示しており、播種後短い時間で形態観察したい場合や、ガラスでは接着力が十分に得られにくい細胞の形態観察する場合に、よりその効果を発揮することが期待される。



お客様のコメント

ガラスボトムディッシュと比較した際、明視野撮影では、ibidiポリマー製ディッシュのほうが綺麗に見えました。また、別実験で、蛍光観察にも使用しましたが、全体的にやや明るく映る点以外の違いは感じませんでした。ibidiポリマー製ディッシュは、ガラスボトムディッシュと同じ感覚で使用できるディッシュだと言えます。



■ 研究用倒立顕微鏡「ECLIPSE Ts2R」

コストパフォーマンスに優れたコンパクト研究用顕微鏡

- 長寿命・調整フリーで簡単立ち上げのLED照明採用
- コンパクトさと優れた操作性を両立
- 多岐にわたる研究用途に合わせ、幅広い観察法に対応

※ ニコン独自の技術による「新位相差観察」では位相差特有のハロを低減し、細胞内の細かい構造の観察が可能です。



株式会社ニコンソリューションズ
バイオサイエンス営業本部
TEL (フリーダイヤル)：0120-586-617
E-mail：Nsl-bio.Marketing@nikon.com
製品紹介ページ：https://www.microscope.healthcare.nikon.com/ja_JP