

# ibidi $\mu$ -Slide および $\mu$ -Dish のコーティング手順

細胞接着を最適化するために、 $\mu$ -Slideおよび $\mu$ -Dishシリーズにはさまざまな処理およびコーティングの種類があります。ibidiプラスチックの表面を親水化したibiTreatは、標準的な組織培養処理済みのプラスチック製品に相当します。多数の細胞株および初代細胞を用いて示されているように、この表面では細胞を直接増殖させることが可能です。ibiTreatと比較すると、未コーティング製品は疎水性の表面となっており、大部分の細胞を接着させるためには何らかの接着因子でコーティングしなければなりません。

## 1 各コーティングに推奨されるibidi社製品の表面

- 1) コラーゲンIVの場合 : 未コーティング (疎水性)
- 2) フィブロネクチンの場合 : 未コーティング (疎水性)
- 3) ポリ-L-リジンの場合 : ibiTreat (組織培養用表面処理済)
- 4) ポリ-D-リジンの場合 : ibiTreat (組織培養用表面処理済)

別のコーティングを行う場合には、ibiTreatと未コーティング表面の両方を試されることが推奨されます。一部のibidi社製品は、ガラス底でも提供されています。

$\mu$ -Slide V、 $\mu$ -Slide I<sup>0.1</sup> Luer、 $\mu$ -Slide III<sup>0.1</sup>および $\mu$ -Plate 384wellにはibiTreatバージョンがないことにご注意ください。この場合には、すべてのコーティングに疎水性の未コーティング表面を使用してください。

## 2 コーティング溶液の調製

すべてのコーティング溶液は、単位面積あたりのタンパク質量 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) がメーカーの参考資料で推奨されている一定の値となるようにされています。

- 1) コラーゲンIVの場合 : ( $1.5\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )  
コラーゲンIV (例、Becton-Dickinson、マウス腫瘍、No.356233) を0.05 M HClで希釈して、希望する濃度の溶液を調製します。
- 2) フィブロネクチンの場合 : ( $1.5\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )  
フィブロネクチン (例、Becton-Dickinson、ヒト血漿、No.354008) を $\text{Ca}^{2+}$ および $\text{Mg}^{2+}$ 不含PBS (pH 7.2) で希釈して、希望する濃度の溶液を調製します。
- 3) ポリ-L-リジンの場合 : ( $2\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )  
PLL (例、Sigma-Aldrich、0.01%溶液、 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 、P4832) を超純水で希釈して、希望する濃度の溶液を調製します。
- 4) ポリ-D-リジンの場合 : ( $5\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )  
PDL (例、Becton-Dickinson、No. 35 4210) を超純水で希釈して、希望する濃度の溶液を調製します。

以下のタンパク質濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) を使用してください。

チャンネルスライド	コラーゲンIV	フィブロネクチン	ポリ-L-リジン	ポリ-D-リジン
$\mu$ -Slide I	75	75	100	250
$\mu$ -Slide I <sup>0.1</sup> Luer	300	300	400	1000
$\mu$ -Slide I <sup>0.2</sup> Luer	150	150	200	500
$\mu$ -Slide I <sup>0.4</sup> Luer	75	75	100	250
$\mu$ -Slide I <sup>0.6</sup> Luer	60	60	80	200
$\mu$ -Slide I <sup>0.8</sup> Luer	38	38	50	125
$\mu$ -Slide III <sup>0.1</sup>	300	300	400	1000
$\mu$ -Slide III <sup>3in1</sup>	75	75	100	250
$\mu$ -Slide VI <sup>0.4</sup>	75	75	100	250
$\mu$ -Slide VI <sup>0.1</sup>	300	300	400	1000
$\mu$ -Slide VI flat	75	75	100	250
$\mu$ -Slide y-shaped	75	75	100	250
$\mu$ -Slide V	75	75	100	250
$\mu$ -Slide upright <sup>0.7</sup>	60	60	80	200
$\mu$ -Slide Chemotaxis <sup>1)</sup>	45	45	60	150
$\mu$ -Slide Chemotaxis <sup>2)</sup>	100	100	133	330
$\mu$ -Slide Chemotaxis 3D <sup>1)</sup>	40	40	55	130
$\mu$ -Slide Chemotaxis 3D <sup>2)</sup>	70	70	90	230

開放系 (チャンネルでない) スライド

	コラーゲンIV	フィブロネクチン	ポリ-L-リジン	ポリ-D-リジン
$\mu$ -Dish <sup>35mm, low</sup>	15	15	20	50
$\mu$ -Dish <sup>35mm, high 3)</sup>	15	15	20	50
$\mu$ -Dish <sup>50mm, low</sup>	18	18	25	60
$\mu$ -Slide 8 well	11	11	15	35
$\mu$ -Slide 2x9 well	12	12	17	40
$\mu$ -Slide 18 well	12	12	17	40
$\mu$ -Slide Angiogenesis	38	38	50	125
$\mu$ -Plate 96 well	12	12	15	35
$\mu$ -Plate 384 well	24	24	30	70
$\mu$ -Chamber 12 well	11	11	15	35
Culture-Insert	18	18	25	60
Culture-Insert StemCell	35	35	47	115

1) チャンバー全体をコーティングする場合

2) 観察エリアのみをコーティングする場合

3) ガラス底およびESSバージョンにも有効です

希釈率は以下のコーティング面積および容積を用いて算出されています。

チャンネルスライド	増殖領域 [cm <sup>2</sup> ]	コーティング面積 [cm <sup>2</sup> ]	コーティング容積 [ $\mu$ l]
$\mu$ -Slide I	2.5	5.4	100.0
$\mu$ -Slide I <sup>0.1</sup> Luer	2.5	5.1	25.0
$\mu$ -Slide I <sup>0.2</sup> Luer	2.5	5.2	50.0
$\mu$ -Slide I <sup>0.4</sup> Luer	2.5	5.4	100.0
$\mu$ -Slide I <sup>0.6</sup> Luer	2.5	5.6	150.0
$\mu$ -Slide I <sup>0.8</sup> Luer	2.5	5.8	200.0
$\mu$ -Slide III <sup>0.1</sup>	0.43	0.86	4.5 チャンネルあたり
$\mu$ -Slide III <sup>3in1</sup>	1.23	3.05	60.0
$\mu$ -Slide VI <sup>0.4</sup>	0.60 チャンネルあたり	1.20 チャンネルあたり	30.0 チャンネルあたり
$\mu$ -Slide VI <sup>0.1</sup>	0.17 チャンネルあたり	0.34 チャンネルあたり	1.7 チャンネルあたり
$\mu$ -Slide VI flat	0.60 チャンネルあたり	1.20 チャンネルあたり	30.0 チャンネルあたり
$\mu$ -Slide y-shaped	2.8	5.6	110.0
$\mu$ -Slide V	0.25 チャンネルあたり	0.5 チャンネルあたり	30.0 チャンネルあたり
$\mu$ -Slide upright <sup>0.7</sup>	4.35 チャンバーあたり	10.31 チャンバーあたり	250.0
$\mu$ -Slide Chemotaxis <sup>1)</sup>	0.96 チャンバーあたり	2.40 チャンバーあたり	80.0 チャンバーあたり
$\mu$ -Slide Chemotaxis <sup>2)</sup>	0.07 チャンバーあたり	0.39 チャンバーあたり	6.0 チャンバーあたり
$\mu$ -Slide Chemotaxis 3D <sup>1)</sup>	1.24 チャンバーあたり	3.50 チャンバーあたり	130.0 チャンバーあたり
$\mu$ -Slide Chemotaxis 3D <sup>2)</sup>	0.06 チャンバーあたり	0.27 チャンバーあたり	6.0 チャンバーあたり

#### 開放系（チャンネルでない）スライド

	増殖領域 [cm <sup>2</sup> ]	コーティング面積 [cm <sup>2</sup> ]	コーティング容積 [ $\mu$ l]
$\mu$ -Dish <sup>35mm, low</sup>	3.5	4.1	400
$\mu$ -Dish <sup>35mm, high 3)</sup>	3.5	4.1	400
$\mu$ -Dish <sup>50mm, low</sup>	7.0	7.9	700
$\mu$ -Slide 8 well	1.10 ウェルあたり	2.20 ウェルあたり	300 ウェルあたり
$\mu$ -Slide 2x9 well	0.40 小さいウェルあたり	0.55 小さいウェルあたり	70 小さいウェルあたり
$\mu$ -Slide 18 well	0.20 ウェルあたり	0.25 ウェルあたり	30 ウェルあたり
$\mu$ -Slide Angiogenesis	0.12 ウェルあたり	0.23 ウェルあたり	10 内側のウェルあたり
$\mu$ -Plate 96 well	0.55 ウェルあたり	2.35 ウェルあたり	300 ウェルあたり
$\mu$ -Plate 384 well	0.11 ウェルあたり	0.80 ウェルあたり	50 ウェルあたり
$\mu$ -Chamber 12 well	0.56 ウェルあたり	1.90 ウェルあたり	250 ウェルあたり
Culture-Insert	0.22 ウェルあたり	0.82 ウェルあたり	70 ウェルあたり
Culture-Insert StemCell	0.03 ウェルあたり	0.23 ウェルあたり	0 ウェルあたり

1) チャンバー全体をコーティングする場合

2) 観察エリアのみをコーティングする場合

3) ガラス底およびESSバージョンにも有効です

チャンネルスライドのすべてのチャンネル内壁がコーティングされていることにご注意してください。開放系（チャンネルでない）スライドの製品は増殖領域だけでなく、側壁もコーティングされています。コーティング面積は、表に記載されているコーティング容積の値が厳守された場合のみにあてはまります。

### 3 チャンネルまたはウェルにコーティング溶液を注入します。

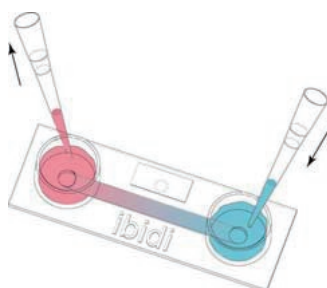
チャンネルスライドへの注入は、すばやく注入することで簡単に実施できます。無菌条件下で行ってください。不完全な注入は細胞増殖の抑制につながります。ibiTreat表面は親水性であるため、疎水性の未コーティング表面と比べるとかなり湿りやすくなっています。極細チャンネルへの注入の場合、オスルアーチップ付きの小容量シリンジを使用するとさらに容易になります。

### 4 室温で60分間インキュベートします。

### 5 チャンネルまたはウェル内からすべての液体を吸引します。

### 6 超純水またはPBSで慎重にリンスします。

リンスの際には、チャンネルまたはウェル容積の10倍量のリンス液の使用が推奨されます。チャンネルスライドをリンスする際には、片側のチャンネルの端に溶液を添加すると同時に反対側から吸引すると簡単に行えます。



### 7 ウェルまたはチャンネルの使用準備は整いました。オプションとして、室温で乾燥させてください。

注意：コーティングされたタンパク質の一部は乾燥中に分解します！乾燥させ過ぎないようにご注意ください。

### 7 無菌条件下で保管して、できるだけ早く使用してください。

#### 重要な注意

接着タンパク質は生体由来物質であるため、メーカーのロット間で品質が変動する可能性があります。したがって、ロット番号ごとに検査の実施が推奨されます。他のコーティング剤は、メーカーの仕様書または参考資料にしたがって調製および使用してください。