

## アプリケーションノート #09

Tissueoid cell culture system

## 【概要】

滋賀医科大学病理学講座提案のがん細胞培養システムです。生体の疎性結合組織の構造を模倣する Cellbed を用い、がん細胞を潤沢な培地条件下かつ培地交換頻度を最小限に抑えながら長期培養することで、がん組織本来の形態に近い構造を再現できます。がんの基礎研究や創薬研究の *in vivo* 試験の前段階評価に適しています。

## 【用意するもの】

## 器具・機器・資材:

- 12 ウェルプレート
- 滅菌済みの平先ピンセット
- Cellbed 12 ウェル用担体 (品番 CB-12CT2)
- 6 cm ディッシュ

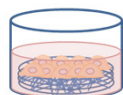
## 試薬:

- 常用の培養培地 (フェノールレッド含有)

## 【方法】

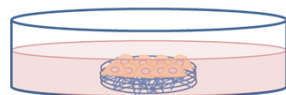
1. 12 ウェルプレートに 1 mL の培地を入れ、そこにピンセットを用いて Cellbed を沈めます。さらに、その上から  $4 \times 10^4$  cells/mL の細胞懸濁培地 1 mL を穏やかに播種します。その後、 $37^{\circ}\text{C}$  の 5%  $\text{CO}_2$  インキュベーター内で培養を開始します。
2. 培養 7 日後に、6 mL の培地を入れた 6 cm ディッシュを用意します。そこに、12 ウェルプレート中の Cellbed をピンセットを用いて移します。
3. 培養 10 日目に 6 cm ディッシュの培地交換を行います。その後は週に 1 ~ 2 回の頻度で培地交換を行います。また、Cellbed 中心部の細胞にも十分な培地が供給されるように、培地交換を行わない日でも 2 ~ 3 日に一度はディッシュを軽く旋回して培地を攪拌してください。
4. 培養 2 ~ 4 週間後に、任意の細胞評価に使用してください。

12 ウェルプレート



7 日後

6 cm ディッシュへ移して培養



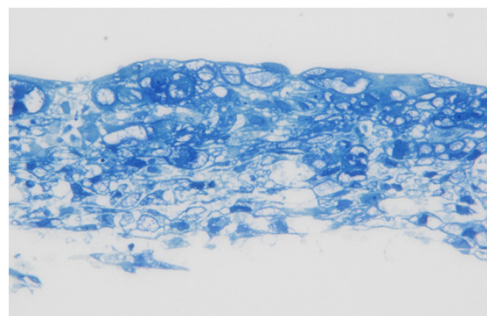
- 培地量 2 mL (培地 1 mL +  $4 \times 10^4$  cells 細胞懸濁培地 1 mL)

- 培地量 6 mL
- 週に 1 ~ 2 回、培地交換
- 2 ~ 3 日に 1 回、旋回して攪拌

※ 培養期間や培地交換頻度などの条件は、細胞の性質(増殖速度など)によって異なります。培地の色(劣化具合)を観察しながら調整してください。

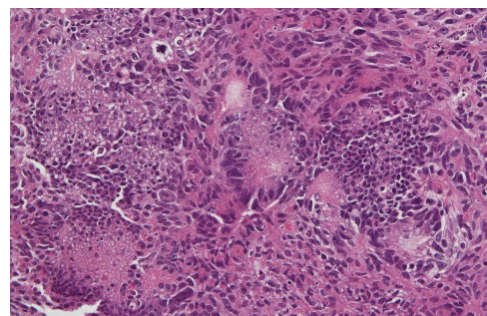
## 【実施例】

## ヒト舌扁平上皮癌細胞株 HSC-4 (垂直断):



本システムによって 4 週間培養した後、トルイジンブルー染色を施しました。その結果、扁平上皮癌に特徴的な層構造が形成されました。

## ヒト大腸腺癌細胞株 DLD-1 (水平断):



本システムによって 3 週間培養した後、パラフィン包埋切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施しました。その結果、高分化腺癌に特徴的な管腔構造が形成されました。

## 参考文献:

- Noi M et al., *Int J Oral Sci.*, 2018 Oct 22;10(4):30, DOI: 10.1038/s41368-018-0033-y.
- Murakami S et al., *Pathobiology*, 2020;87:291-301, DOI: 10.1159/000509133.
- Murakami S et al., *Cancer Science*, 2020;00:1-14, DOI: 10.1111/cas.14749.
- Ikari R et al., *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22(4), 1805, DOI: 10.3390/ijms22041805

注) 上記方法は一例であり、諸条件によって異なりますので、結果を保証するものではありません。上記を参考にいただき、お客様の実験条件に合わせて調整を行ってください。

## 【お問い合わせ】

(技術的なお問い合わせ) 日本バイリン(株) 研究所 TEL: 0280-92-7276

(販売に関するお問い合わせ) 日本バイリン(株) Cellbed 営業担当 TEL: 080-9020-7986