

シングルスフェロイド薬剤評価

Collaboration with SCIVAX Life Sciences, Inc. (formerly part of JSR Corporation)

Introduction

2次元の単層細胞アッセイは、生体内で見られる複雑な3次元の多細胞組織とは異なることは広く認められています。その代わりとして多細胞スフェロイドは、細胞が体内や腫瘍内で見られる微小環境をより良く再現するのに適した細胞モデルであるともされています(1)。したがって、スフェロイドは、より適した方法で薬物に反応することが期待されています。スフェロイドを創薬プロセスに導入するためには、均一な大きさの集団に分離する必要があります。本アプリケーションノートでは、マイクロ流体チップを用いたセルソーター「On-chip® Sort」とシングルセル分注機「On-chip® SPiS」を組み合わせることで、HT-29ヒト大腸腺がん細胞で形成したスフェロイドに対するプロテアーゼ阻害剤MG132の使用効果を解析することができました。

Methods

HT-29ヒト大腸腺癌細胞は、SCIVAX Life Sciences, Inc.提供のスフェロイド形成プロトコルに従い、ナノカルチャープレート (NCP-LH96) 上で3~4日かけてスフェロイドに培養しました。150µm流路チップを採用したOn-chip® Sortを用いて、100µm程度の大きさのスフェロイドを約1800個分離しました。培養液はソーティングのためのシース液として使用しました。分離したスフェロイドを500µLの培養液(現在は300µL)に懸濁し、On-chip® SPiSを用いて96ウェルプレートに分注しました(1ウェルに1個のスフェロイドとして)。プロテアーゼ阻害剤MG132を0、0.01、0.1、1、10µMの濃度でスフェロイドに直接添加し、3日間培養しました。スフェロイドの生存率は、CellTiter-Glo® luminescent cell viability assay (Promega Co., Ltd., Wisconsin, USA) およびInfinite 200 PROマイクロプレートリーダー (Tecan Co., Ltd., Kanagawa, Japan) を用いてATPを測定することにより解析しました。

Results

3~4日間培養したスフェロイド (図1a) をOn-chip® Sortを用いてサイズを指標にソーティングしました。スフェロイドの大きさは30~190µmで、80および120µm以内のものだけを分離しました (図2)。分離されたスフェロイドの大きさはおよそ100 µmでした (図1b)。MG132濃度依存下におけるスフェロイドの生存率は、ATPアッセイを用いて確認しました (図3)。

Application Note

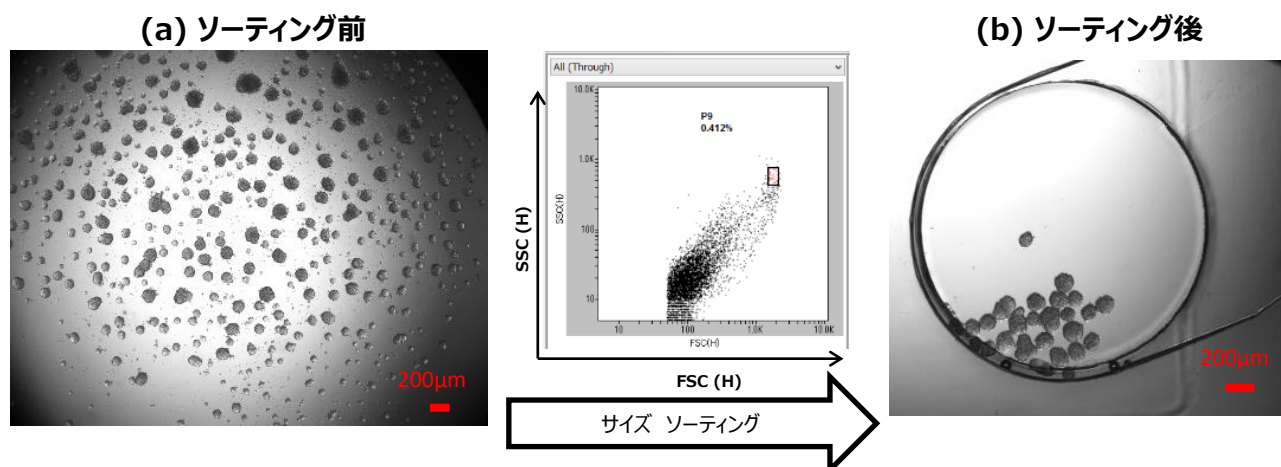


図1. 培養したHT-29大腸腺癌細胞スフェロイドの顕微鏡写真。(a) ソーティング前(b) On-chip® Sortでソーティング後

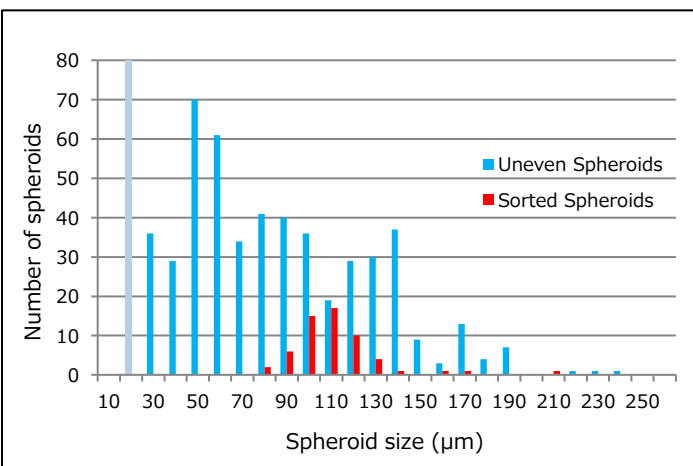


図2. スフェロイドのサイズ分布。青いバーはソーティング前。赤いバーはソーティングしたサイズ幅

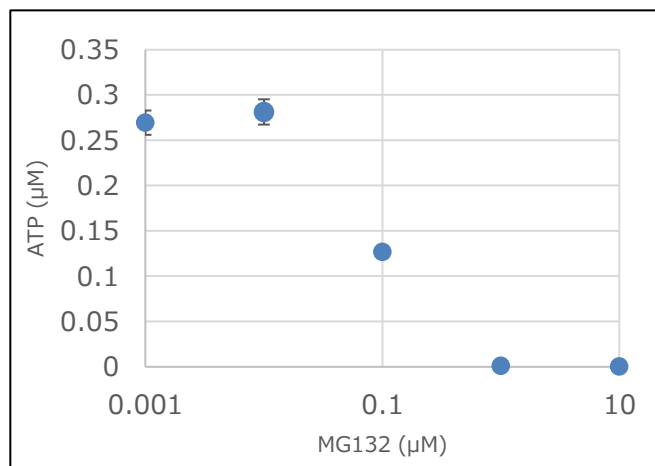


Fig. 3. ソーティング後のスフェロイドにおけるMG-132薬剤効果をATPアッセイで解析。

Conclusion

以上のことから、On-chip® SortおよびOn-chip® SPiSは、薬剤評価に貢献することができます。

References

1) Ivascu, A. and M. Kubbies. (2006). Rapid generation of single-tumor spheroids for high-throughput cell function and toxicity analysis. *Journal of Biomolecular Screening*, 11(8): 922-932.



株式会社オンチップ・バイオテクノロジーズ

〒184-0012 東京都小金井市中町2-24-16 農工大・多摩小金井ベンチャーポート203号室

TEL: 042-385-0461 Email: info@on-chip.co.jp

URL: <https://on-chip.co.jp/>