

開発品 商品の仕様、外観は予告なく変更する場合があります。

CELLNETTA MZM1シリーズ

クラスターおよびシングル細胞の分画 ～ CTC 研究への応用 ～

背景

血液中を循環している循環がん細胞（CTC）には、1細胞（シングル）の状態と複数の細胞が集まったクラスターな状態が存在し、2つの状態でがんの転移能に違いがあることに注目が集まっています。今回、熊本大学大学院 生命科学研究部 臨床病態解析学講座 前城学先生、神力悟准教授が行った、流体剪断応力を加えた浮遊培養で調整した模擬的なシングルおよびクラスターCTCをCELLNETTAで分画した事例をご紹介します。

※CELLNETTAで分画したクラスターの構成細胞は、マウス血中で効率的にCTCクラスターを形成することが示されています。

(Maeshiro, M., Shinriki, S., Liu, R. et al. Colonization of distant organs by tumor cells generating circulating homotypic clusters adaptive to fluid shear stress. Sci Rep 11,6150(2021).
doi: 10.1038/s41598-021-85743-z)

実施方法

【CELLNETTAによる処理方法】

- ① 3.0×10^6 個のヒト口腔扁平上皮癌細胞株（SAS）を培地15 mL中（15 mL遠心管）で旋回浮遊培養する。
- ② CELLNETTAを親水化処理する。※1
- ③ 2.0×10^5 個未満/回になるように細胞懸濁液をメッシュサイズ20 μm のCELLNETTAで処理する。
- ④ CELLNETTAで捕獲された細胞を、逆洗によって回収する。
- ⑤ ②～③を5回繰り返して、細胞懸濁液を全量処理する。
- ⑥ 全フロースルーを回収・混合し、さらに②～④と同様に5回に分けてメッシュサイズ15 μm のCELLNETTAで処理する。

【解析方法】

CELLNETTAのメッシュ部を顕微鏡で撮影（ $\times 100$ ）し、メッシュで捕獲されたクラスターおよびシングル細胞の数を測定する。

A、B、Cにおいて、それぞれ5視野ずつ評価し（図1）、その平均を算出する。フロースルーについても同様に解析を行い、メッシュサイズ20 μm は3 視野、15 μm は1視野を評価する。

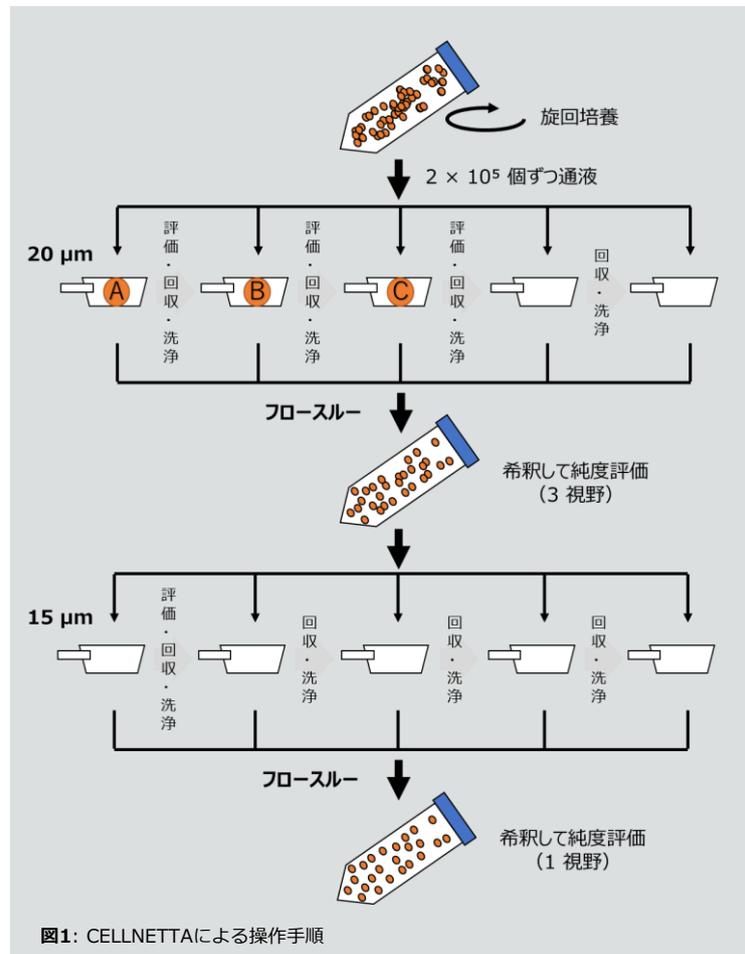
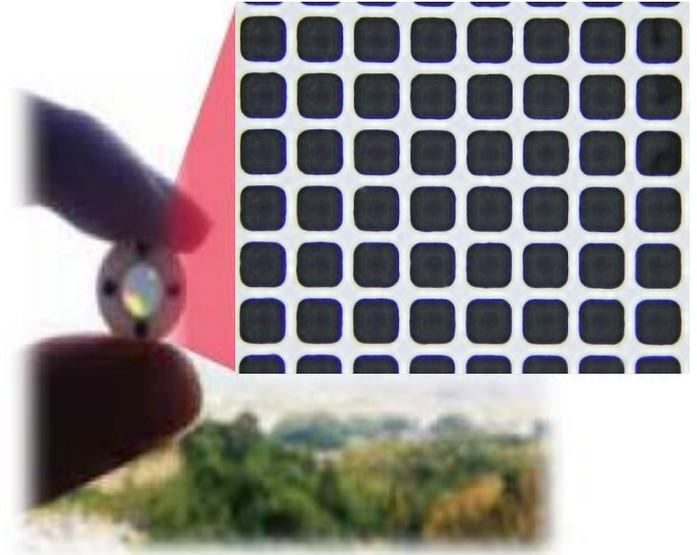


図1: CELLNETTAによる操作手順

※1 詳細は、CELLNETTAのユーザーガイド「親水化マニュアル」をご覧ください。

結果

メッシュサイズ20 μmで捕獲された細胞のクラスター存在率は約78%でした（図2A）。一方、フロースルーにも約34%のクラスターの混入が認められ、その多くはダブレットでした（図2B）。シングル細胞を純度よく回収するため、続いてフロースルーをメッシュサイズ15 μmで処理しました。その結果、フロースルーにクラスターは約4%しか認めず、ほぼ全てシングル細胞でした（図2C）。なお、メッシュサイズ20 μmで捕獲したクラスター細胞を再培養したところ、細胞接

着及び増殖に問題は見当たりませんでした（図3）。

以上の結果から、メッシュサイズ20 μmで捕獲された細胞およびメッシュサイズ15 μmのフロースルー中の細胞は、それぞれクラスターとシングル細胞として解析するのに適していると考えられました。

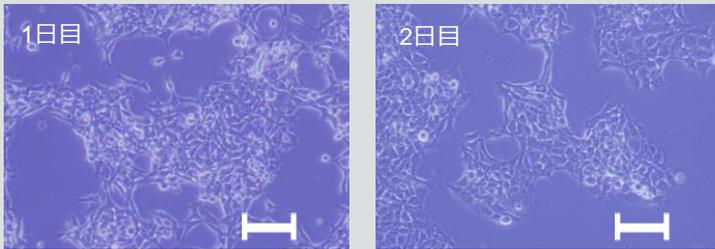
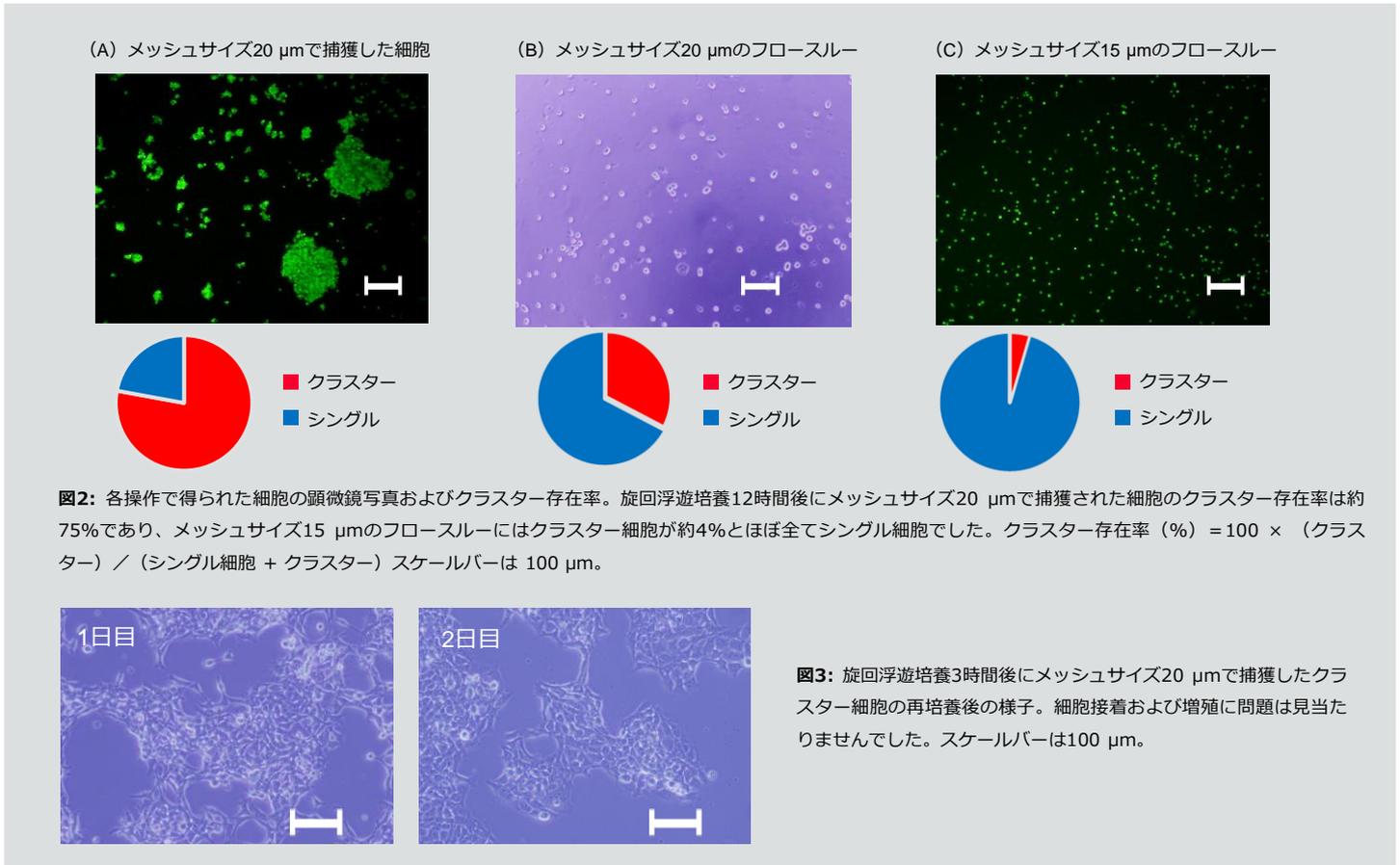


図3: 巡回浮遊培養3時間後にメッシュサイズ20 μmで捕獲したクラスター細胞の再培養後の様子。細胞接着および増殖に問題は見当たりませんでした。スケールバーは100 μm。

本アプリケーションノート使用品

メッシュサイズ	ガンマ線照射	品番
15 μm	有	MZM1B015B50G
	無	MZM1B015B50N
20 μm	有	MZM1B020B50G
	無	MZM1B020B50N

注意事項

- 本製品は医療機器ではありません。
- 当製品はサンプルです。
- 当サンプルを実装した完成品を、直接市場に出さないで下さい。
- やむを得ず市場に出す場合は、当社としていかなる責任も持てません。

