



細胞浸潤と遊走

Cell Invasion and Migration

はじめに

細胞遊走とは、細胞がある場所から別の場所に移動することですが、これは複数の段階が含まれたプロセスであり、創傷治癒、細胞分化、胚発生および腫瘍の転移において重要な役割を果たしています。細胞浸潤には細胞遊走が含まれますが、細胞浸潤は細胞が細胞外マトリックス（extracellular matrix: ECM）を超えて移動し、新しい部位に定着しなければなりません。

ECM は、基底膜抽出物（basement membrane extract）とも呼ばれ、プロテオグリカン、硫酸塩、プロテオグリカン以外の多糖、コラーゲン、エラスチン、フィブロネクチンおよびラミニンなど、多くの因子から構成されます。市販のトランスウェル製品の多くは ECM で事前にコーティングしてあります。しかしながら、独創的な研究においては、細胞遊走や浸潤への影響を検討するために、ECM への新規添加物が必要になることがあります。これらの因子への添加には、液体 ECM を厳密に 4℃ に保ち、早期ゲル化を防ぐことが求められます。

対処法として、CoolBox XT ワークステーションは、さまざまな CoolRack および CoolSink モジュールに適応し、クリーンベンチやセフティキャビネット内での使用が面倒なアイスバケツより無菌性が高く、かつトランスウェルに加える前の ECM の温度をよりよく制御します。

細胞浸潤または遊走アッセイに着手する前に、以下のポイントを考慮してください。

1. **使用する細胞株を選択する**：理想的な増殖条件や細胞密度は細胞の種類によって異なり、新規の細胞株それぞれに条件を再確立する必要があるかもしれません。American Type Culture Collection (ATCC) は、培養細胞株の適切な取り扱いに関する貴重な情報源です。
2. **ECM へ添加し、検討すべき薬剤を決定する**：マトリックスメタロプロテイナーゼから分解阻害剤、および細胞浸潤を促進するシグナルタンパク質までさまざまなものがあります。
3. **変数を少なくする**：アッセイの成功には温度などの変数に気を配る必要があります。また、無菌技術を用いて細胞培養に求められる無菌状態を保たなければなりません。

ECM の調製

ベクトン・ディッキンソン社の Matrigel™ や Trevigen 社の Cultrex®、あるいは他の会社の ECM など、市販されている ECM は、**使用用途前の固形化またはゲル化を防ぐ**ために 4℃ の温度で保つ必要があります。ECM は 4℃ では液体ですが、それより高温になると急速に固まります。ECM を 4℃ に保つことで、各ウェル中の ECM の層が一様になり、ウェル間の変動が減少します。なるべく、アッセイ開始前の一晩、ピペットチップ、トランスウェル、ECM および添加剤をしっかりと冷却しておきましょう。



氷上で直接冷却する現行法

組織培養プレートと典型的なアイスバケツに入れた氷の上に置くと、クラッシュアイスの中には不均一な断熱性エアポケットがあるため、ECM の温度が不均一になります。加えて、氷とそれが融解した水には微生物が存在するため、コンタミネーションリスクも高くなります。



CoolSink を用いた冷却

CoolSink 高熱伝導プレートアダプターは、組織培養プレートをよりよく熱制御します。特殊合金製のモジュールは、氷の温度に迅速に順応し（60-90 秒で <4℃ に到達）、すべてのチューブやプレートを同一温度に保ち（±0.1℃）、ECM が早々と固まってしまうのを防ぎます。



Coolbox XT を用いた冷却

再使用可能な冷却コアを用いることにより、プレートを 10 時間以上 ~1℃ に保ちます。CoolBox XT に CoolSink をセットし、氷に起因する問題を新たに生じることなく、組織培養プレートをよりよく熱制御します。CoolBox を用いることで、優れた秩序、熱的安定性および無菌状態が達成できます。

注意：平底の 96 ウェル組織培養プレート用には CoolSink 96F モジュール、丸底の組織培養プレート用には CoolSink 96U モジュールと、2 種の形状が入手可能です。

適量の ECM をトランスウェルに加えた後、37℃ インキュベーターに移します。37℃ で均一に熱伝達を行うために、ここでも CoolSink モジュールが使用可能です。調製次第で、ECM は 37℃ で急速に固まります。次に、準備した培養細胞を固まった ECM の上加えます。37℃ でインキュベートすれば、ECM への細胞の浸潤を評価できるようになります。CoolBox と CoolSink モジュールを 4℃ と 37℃ の両方の温度で利用した細胞「創傷（wounding）」アッセイと、その後の自動イメージングの応用事例（アプリケーションノート）は、Essen Bioscience 社の下記のサイトでご覧いただけます。

Essen BioScience Cell Invasion

<http://www.essenbioscience.com/applications/cell-invasion/>

Essen BioScience Cell Migration

<http://www.essenbioscience.com/applications/cell-migration/>