

Nunc エッジプレート 2.0 (96 ウェルプレート)

ユニークなマイクロプレート 周囲モートデザインによる長期培養時の エッジ効果抑制

まとめ

長期培養におけるエッジ効果の抑制は研究者が直面する問題点です。少量培地で培養する場合、培地の蒸発を最小に抑えることは、外周ウェルで特に重要です。本編では、外周にモートデザインがある Thermo Scientific™ Nunc™ エッジプレート 2.0 によるマイクロプレートを用いた長期培養における蒸発抑制効果を紹介します。本アプリケーションでは、蒸発レベルを通常の（モート部を有さない）96 ウェルプレートと比較します。

さらに、細胞生存率を測定し、モート部が有る場合と無い 96 ウェルマイクロプレートとを比較することで、セルベースアッセイの一貫性と再現性の点で Nunc エッジプレート 2.0 が有効であることを示しています。最後にエッジ効果で発生する対流により、細胞分布の不均一性が生じる一方で、モート部に滅菌水を添加することで対流を低減できることを示します。

序論

マイクロプレートを使用して長期培養した場合、外周ウェルで培地蒸発が発生し、エッジ効果が起こります。エッジ効果により、培地の pH、浸透性の変化や培地成分の濃縮が起こり、細胞生存率や機能に影響を与えます。長期培養において培地蒸発を抑制するのは極めて困難です。そのため、通常、96 ウェルのうち、外周の 36 ウェルは使用されておらず、37.5%のロスを生じています。ユニークなデザインのエッジプレート 2.0 はモート部に滅菌溶液を添加し、モート部を液体で満たすことによって、プレート全体の培地蒸発を抑制することができ、この問題を解消しています。結果として 96 ウェル全てにおける細胞生存率を改善することが可能です。



Experimental Details

Materials *	Brand	Catalog #
Thermo Scientific Nunc Edge 2.0 plates	Thermo Scientific	167425
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	Gibco	10938-025
L-Glutamine, 200 mM	Gibco	25030-024
Penicillin-Streptomycin (10,000 U/mL)	Gibco	15140-122
Fetal Bovine Serum (FBS)	Gibco	10099-141
Trypsin-EDTA (0.25%)	Gibco	25200-072
AlamarBlue™ Cell Viability Reagent	nvitrogen	DAL1100
Human Carcinoma Cell line, A549	ATCC	CCL-185
Methylviolet	Ampicon	AMPQ00314.1000

* Other 96-well flat bottom cell culture plates from brands N, C, and E are used for the comparison studies.

蒸発試験

蒸発量を測定するため、インキュベート前にエッジプレート 2.0 の各モート部に 1.7mL の滅菌水を添加します。エッジプレート 2.0 と通常の 96 ウェルマイクロプレートのウェルに 100μL メチルバイオレット溶液 (0.1%) を添加します。全てのプレートを 4 日間、37°C、5% CO₂ でインキュベートします。インキュベートの間、通常の使用環境を反映するため、扉を毎日 15 秒間、7 回解放します。プレート全体からのおおよその蒸発量は重量で測定します。各ウェルの蒸発量は、各ウェルから 50μL ずつ他のクリアプレートに移行し、OD590 で比色測定します。

細胞生存率試験

ヒトカルシノーマ A549 細胞 (9,000 細胞 /mL、100μL/well) を 10% FBS-DMEM (1% ペニシリン/ストレプトマイシン、2mM L-グルタミン) を用いて培養します。エッジプレート 2.0 のモート部に滅菌水を満たします。4 日間、37°C、5% CO₂ で培養後に A549 細胞の生存率を AlamarBlue アッセイで測定します。

結果と結論

滅菌水で周囲のモート部を満たすことでエッジプレート 2.0 は蒸発を抑制することができ、4 日間のインキュベートにおけるプレート全体の蒸発を有意に抑制しています。また、通常プレートと比較して優位な結果を示しています (図 1)。各ウェルの蒸発量を評価した結果として、通常プレートでは特に外周の 36 ウェルにおける蒸発量が著しく多いですが、エッジプレート 2.0 では蒸発量が抑制されています。外周ウェルと内部ウェル間の相違がエッジプレート 2.0 で最小になります。このことはエッジ効果を低減していることを示しています (図 2)。さらに、この結果は通常 96 ウェルプレートの蒸発により引き起こされるエッジ効果が A549 細胞の生存率に負の作用をもたらすことを示しています。

エッジプレート 2.0 の大きなモート部はウェル間の相違を低減することを示しています (図 3)。エッジプレート 2.0 のモート部に滅菌水を添加しない場合、外周ウェルに大きな対流が発生し、細胞の分布が不均一になります。一方、モート部に滅菌水を添加することで対流が小さくなり、細胞の不均一性が小さくなります (図 4)。

全プレートの蒸発比較

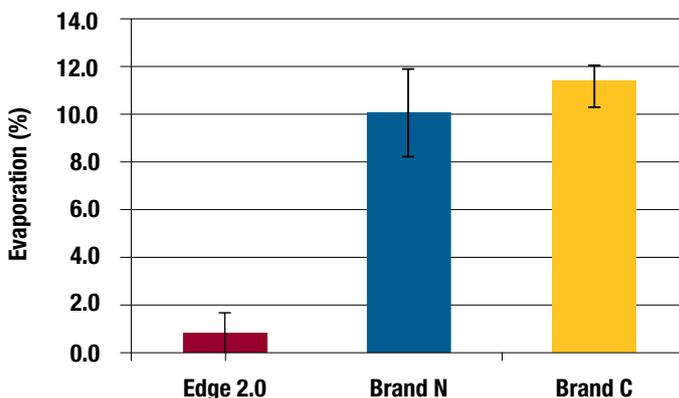


図 1. エッジプレート 2.0 のモート部は、通常プレートである Brand N や C と比較して、プレート全体の蒸発を低減させる。

各ウェルにおける蒸発量比較

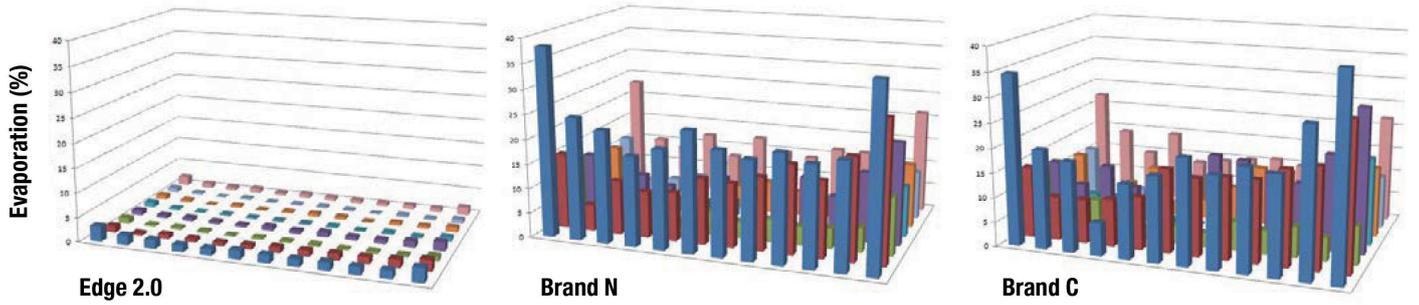


図2. エッジプレート 2.0 は周囲のモート部により、通常 96 プレートで見られる蒸発の“エッジ効果”を低減している。

細胞生存率

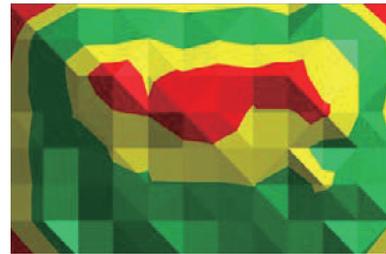
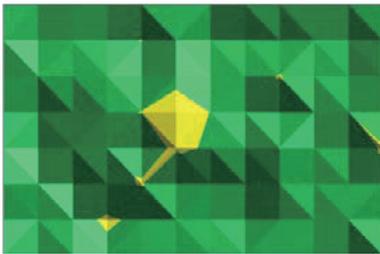
周囲モートありプレート

周囲モートなしプレート

Edge 2.0

Brand N

Brand C



生存率のバラツキ率

<5%

5%-10%

>10%

図3. 細胞生存率のバラツキは周囲モートのない通常プレート (Brand N や C) と比較して周囲モートがあるエッジプレート 2.0 で最小まで低減されている。

培地对流の比較

プレート 1

モート部に充填なし

プレート 2

モート部に充填あり

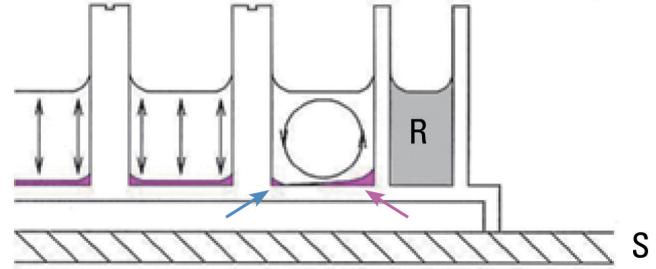
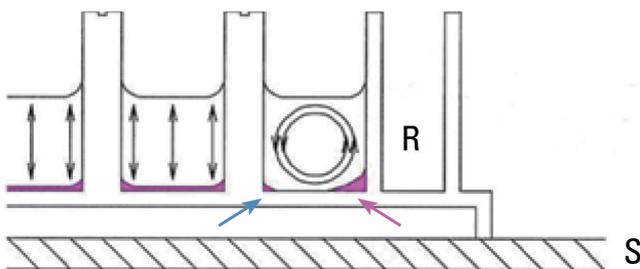


図4. エッジプレート 2.0 のモート部に滅菌水を添加しない場合、外周ウェルに大きな対流が発生し、細胞の分布が不均一に。一方、モート部に滅菌水を添加することで外周ウェルの対流が小さくなり、エッジプレート 2.0 の細胞の不均一性が小さくなっている。

結論

- モート部を有する Thermo Scientific™ Nunc™ エッジプレート 2.0 は蒸発や対流発生、さらに長期インキュベーター間のエッジ効果を有意に低減します。
- エッジプレート 2.0 のモート部があることで 96 ウェル全ての使用を可能にし、通常プレートと比較してコストやプラスチック廃棄量を低減します。
- エッジプレート 2.0 は一貫した再現性の高いパフォーマンスを発揮します。

エッジプレート 2.0

カタログ No.	表面処理	カラー	最大容量 (μL)	滅菌	フタ付	包装 (個×包)	価格
167425	D	クリア	400	●	●	1 × 50	¥25,700
167542	D	クリア	400	●	●	10 × 16	¥74,080
167574	D	クリア	400	●	—	1 × 50	¥21,500
167554	D	クリア	400	●	—	10 × 16	¥58,960
267427	—	クリア	400	●	●	1 × 50	¥25,700
267544	—	クリア	400	●	●	10 × 16	¥73,920
267576	—	クリア	400	●	—	1 × 50	¥23,100
267556	—	クリア	400	●	—	10 × 16	¥58,960
267578	—	クリア	400	—	●	10 × 16	¥66,440
267566	—	クリア	400	—	—	10 × 16	¥53,240

D : Nunclon Delta (親水性処理) — : 未処理

※価格は2016年8月1日現在のメーカー希望小売価格です。表示価格には消費税は含まれておりません。
※製品の仕様、外観、記載内容および価格は、予告なく変更させていただく場合がございます。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社
ラボプロダクツ事業本部

お問い合わせ

 TEL 0120-753-670

お問い合わせ

info.LPG.jp@thermofisher.com

www.thermofisher.com

販売店

LP-LSP16-07

ThermoFisher
SCIENTIFIC