



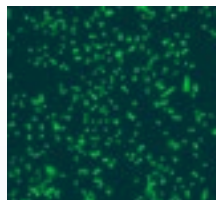
疾患モデル作製 3D がんスフェロイドモデルへの5ステップ

実証済みガイドに従って乳がん細胞株から 3D がんスフェロイド
を簡単に構築する

序章

乳がんは、女性のがんの中でもっとも頻度の高いがん種です。米国では、女性の8人に1人が生涯の間に浸潤性乳がんを発症すると推定されています。研究開発の取り組みは、医薬品開発とがん治療市場の成長に大きな推進力を与えるため、薬物応答を評価するための関連モデルシステムを持つことが重要です。そのため、がんの三次元(3D)細胞培養は、がん生物学の基礎研究だけでなく前臨床研究でも選択されるモデルとなっています [1]。

がんの3Dモデルの作製には、がんの種類を反映した適切な細胞タイプの選択、三次元培養の増殖・維持条件の最適化、モデルの特性評価および薬剤の生理的効果をよりよく理解するための薬物応答評価などが含まれます。以下の5つのステップは乳がんの3Dスフェロイドモデルの開発の概要を示しています。これらのガイドラインは、他のタイプのがん細胞にも応用することができます。

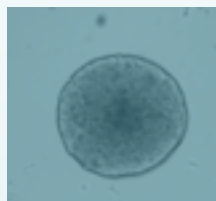


1. 培養

3Dスフェロイド培養のための代表的な細胞株を選択し、増殖させます。

主な試薬とツール: Thermo Scientific™ EasyFlask™ セルカルチャーフラスコ、

Gibco™ DMEM、RPMI 1640、Human Plasma-like Medium、FBS、TrypLE™ reagent

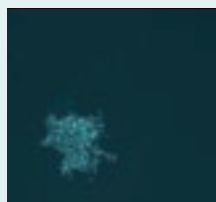


2. 作製

スフェロイド形成のために増殖条件と細胞播種密度を最適化します。

主な試薬とツール: Thermo Scientific™

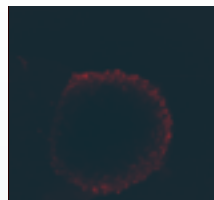
Nunc™ Sphera™ マルチウェルプレート、リザーバー、Thermo Scientific™ Finnpiptette™ マルチチャンネルピペット、Thermo Scientific™ Sorvall™ 遠心機、Invitrogen™ Countess 3 自動セルカウンター



3. 最適化

難しい細胞株のスフェロイド形成を促進するために、培地に細胞外マトリックス(ECM)を加えることを検討します。

主な試薬とツール: Sorvall 遠心機、Invitrogen™ EVOS™ シリーズ、Gibco™ Geltrex™ Matrix、rat tail collagen I

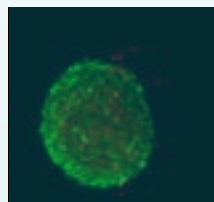


4. 特性評価

スフェロイドの大きさ、真球度、コンパクトさ、生存率を確認します。

主な試薬とツール: Thermo Scientific™ Varioskan™ LUX マルチモードマイクロ

プレートリーダー、CellInsight™ CX7 HCS platform、Invitrogen™ Dil Stain、LIVE/DEAD™ viability Kit、NucBlue™ Live ReadyProbes™ Reagent、PBS、PrestoBlue™ HS Cell Viability Reagent

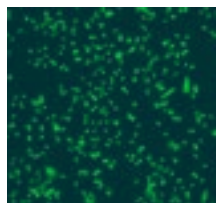


5. 測定

スフェロイドで疾患に関連するアッセイを実行し、応答を分析します。

主な試薬とツール: Invitrogen™ CellEvent™ Caspase-3/7 Green

Detection Reagent、CellInsight CX7 HCS platform、Varioskan マルチモードマイクロプレートリーダー、PrestoBlue HS Cell Viability Reagent、Invitrogen™ Click-IT™ EdU Cell Proliferation Kit



Step 1: 培養

適切な培地で細胞株を培養する

乳がんの表現型は、非浸潤性乳管がん、浸潤性乳管がん、炎症性がん、および転移性がんなど、さまざまな形態で発現することがあります。各サブタイプについて、代表的な細胞株を入手可能です [2,3]。本例では、T47D 細胞株および MDA-MB-231 細胞株が用いられています。T47D は浸潤性乳管がんサブタイプに属するエストロゲン受容体陽性細胞株です。20% ウシ胎児血清 (FBS) と 1% ペニシリン - ストレプトマイシンを添加した RPMI 培地で培養します。MDA-MB-231 は、腺がん型に属するトリプルネガティブ乳がん細胞タイプです。通常、10% FBS と 1% 抗生物質を添加した DMEM で培養します。細胞は、組織培養処理したフラスコで少なくとも 1 継代維持された後、3D 培養用の超低接着プレートに播種されます (図 1)。

製品ハイライト

Nunclon EasyFlask セルカルチャーフラスコ: このポリスチレン製フラスコは、独自の Thermo Scientific™ Nunc™ Delta 表面処理を施しており、細胞株から初代細胞、幹細胞まで幅広い種類の細胞の接着性を最大化します。フラスコの首元のデザインを工夫することで、ピペットやセルスクレーパーで簡単にアクセスできるようになっています。

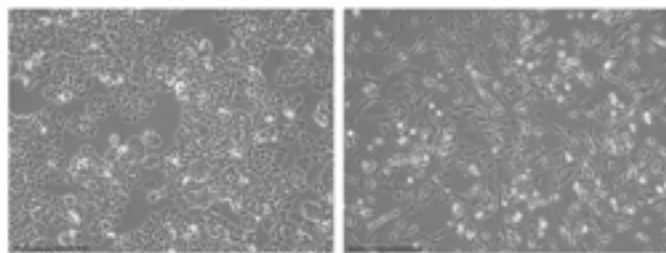
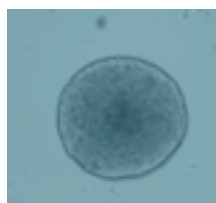


図 1. T47D (左) および MDA-MB-231 (右) 乳がん細胞株の形態を示す位相差画像。画像は Invitrogen™ EVOS™ M7000 Imaging System を用いて撮影した。スケールバー: 275 μm。

Tips

- 健全な細胞を維持するために、70 ~ 80% コンフルエントに達した時点で継代培養します。
- 細胞を細胞解離試薬中で長時間インキュベートすると、生存率と細胞の健康が損なわれます。



Step 2: 作製

Nunclon Sphera 表面を使用して均一なスフェロイドを形成する

細胞が分裂コンフルエントに達した後、TrypLE 試薬などの細胞解離剤を用いて単層を細胞培養表面から持ち上げ、単細胞懸濁液にします。この後、Invitrogen™ Trypan Blue Solution で 1:1 に希釈し、Countess 3 自動セルカウンターを用いて細胞数と生存率を求めます。細胞播種密度に基づいて、必要な数の細胞を完全培地で希釈し、Nunclon Sphera 超低接着プレートに播種します。ウェルあたり 1 つのスフェロイドを必要とするハイスルーペット薬剤スクリーニングアッセイのため、細胞はマルチチャンネルピペットを使用して 96 または 384 ウェルプレートに播種します。細胞懸濁液は、ピペットチップでウェルの底を傷つけないように、ウェルの側面に沿って添加します。細胞が播種されたら、プレートを遠心分離して、細胞がウェルの底部で凝集するのを助け、均一なスフェロイドの形成を促進する必要があります。

次に、プレートを 5% CO₂を含む 37℃インキュベーター内で静置します。培養中のスフェロイドは、一定の大きさになるまで、培養中の培地と新しい培地を 1:1 に混合したものを定期的に培地交換を行います。(図 2)。スフェロイド形成に必要な時間は細胞の種類に依存します [4-6]。子宮頸がん細胞株 HeLa や肺がん細胞株 A549 のように、24 時間以内にスフェロイドを形成する細胞株もあれば、前立腺がん細胞株 PC-3 のように、スフェロイドを形成するのに 5 ~ 9 日かかる細胞株もあります。T47D 細胞と MDA-MB-231 細胞はいずれもスフェロイドを形成するのに 3 ~ 4 日を要します。T47D の場合、96 ウェルプレートのウェルあたり 8,000 個以上を播種しても、均一なスフェロイドは得られません。しかし、MDA-MB-231 細胞は、均一で再現性のあるスフェロイド形成のために、同じウェルサイズのウェルあたり 20,000 細胞もの高密度で播種できます。

製品ハイライト

Nunclon Sphera の細胞培養表面：信頼できる一貫したアッセイ結果を得るためには、均一なスフェロイドを使用する必要があります。Nunclon Sphera プラットホームは、浮遊状態での細胞増殖を促進する超低接着表面を提供します。幹細胞を含む複数の細胞タイプの成長をサポートし、均一なスフェロイドや胚様体を一貫して形成する能力を備えています。お客様のさまざまなニーズに対応するため、超低吸着表面は、フラスコだけでなくさまざまなレート形式で提供されています。

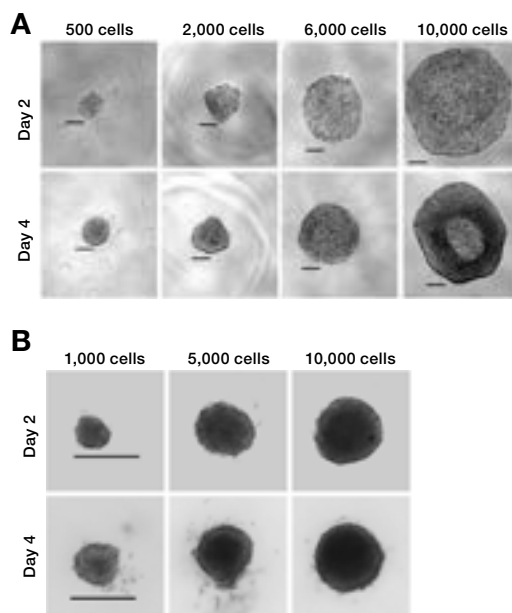
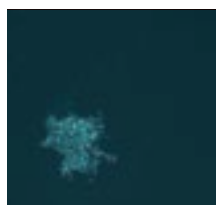


図 2. さまざまな細胞タイプでのスフェロイド形成。(A) 異なる細胞密度で播種された T47D スフェロイドを数日にわたって観察した。画像は EVOS XL Imaging System を用いて取得した。スケールバー：200 μm。(B) 異なる細胞密度で播種された MDA-MB-231 スフェロイドを数日にわたって観察した。画像は EVOS M5000 Imaging System を用いて取得した。スケールバー：400 μm。

Tips

- 生存率が 90%を超える細胞から実験を開始します。
- マルチウェルプレートでの細胞播種を容易にするために、マルチチャンネルピペットを使用します。
- ピペットチップで Nunclon Sphera プレートのウェルの底に触れないでください。触れてしまうとひっかき傷ができ、アッセイにバックグラウンドが生じます。
- 細胞を播種した後は、必ずプレートを遠心分離して、すべての細胞をまとめてください。これによりスフェロイドが均一に形成しやすくなります。



Step 3: 最適化

個々の細胞タイプに応じて増殖条件を最適化する

いくつかの細胞タイプは容易にスフェロイドを形成することができますが、一部の繊細なタイプは形成しません。後者の場合、スフェロイド形成を助けるために、増殖培地や細胞播種条件にいくつかの変更を加える必要があります。一般的に、丸みを帯びた形態を持ち、クラスターで成長する細胞はスフェロイドを形成しやすい傾向があります。一方、細長い形態を有し、クラスターで成長しない細胞は、スフェロイドを形成するために追加の培地サプリメントを必要とします。たとえば、T47D 細胞は単独でスフェロイドを形成しますが、MDA-MB-231 細胞は形成しません。メチルセルロース、Geltrex Matrix、およびコラーゲン I などの細胞間相互作用を媒介する ECM 製品は、このような細胞タイプの自己組織化およびスフェロイド形成の促進に利用できます。たとえば、MDAMB-231 の増殖培地中に少量のコラーゲン I を添加すると、スフェロイドを均一に形成する能力が大幅に向上します (図 3)。同時に、Geltrex Matrix およびメチルセルロースは、この細胞株では機能しません (図 4)。細胞が異なれば、ECM への応答も異なります。したがって、スフェロイド形成に最適な条件は、細胞タイプごとに最適化する必要があります。

製品ハイライト

Rat tail collagen I: コラーゲン I は ECM の中でもっとも豊富なタンパク質です。Rat tail collagen I は 3 mg/mL のすぐ使用できる溶液として提供され、希望の濃度に希釈することができます。スフェロイド形成とは別に、コラーゲン I は、組織培養処理表面を被覆して、初代培養細胞の接着と成長を助けるために使用することも可能です。

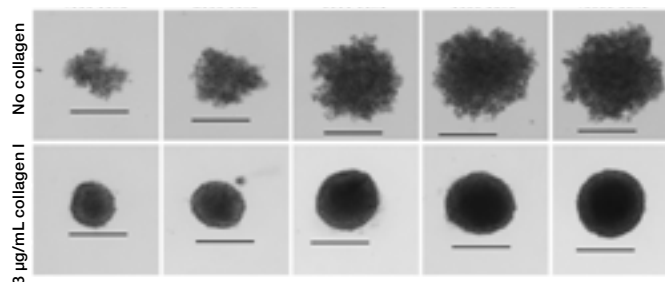


図 3. 4 日目の MDA-MB-231 細胞凝集体およびスフェロイドの明視野画像。画像は、4 倍対物レンズ付きの EVOS M5000 Imaging System を使用して撮影した。スケールバー: 400 µm。コラーゲン I の添加は、スフェロイドの形成を劇的に改善することがわかった。

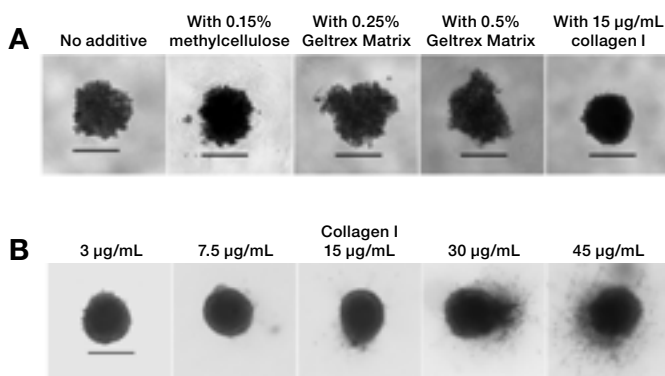
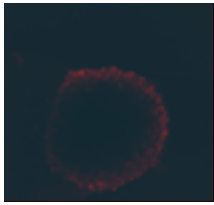


図 4. さまざまな条件下での細胞増殖最適化。(A) 10,000 個の MDA-MB-231 細胞を、さまざまな ECM を含む完全培地でスフェロイド形成のために播種した。(B) 10,000 個の MDA-MB-231 細胞を異なる濃度のコラーゲン I を含む完全培地にスフェロイド形成のために播種したすべての画像は 4 倍対物レンズ付きの EVOS M5000 Imaging System を使用して撮影した。スケールバー: 500 µm。濃度: 3 µg/mL のコラーゲン I がこの細胞株に最適だった。

Tips

- ECM 製品のストック溶液は、温度が上がるとすぐに重合する傾向があるので、常に低温培地で希釈してください。
- コラーゲン I を含む培地を添加する前に、MDA-MB-231 細胞が凝集するまで約 24 時間待ちます。これにより、均一なスフェロイド形成が促進されます。



Step 4: 特性評価

スフェロイドの大きさ、コンパクトさ、細胞の健康状態、生存率を確認する

スフェロイド形成のために懸濁液中で細胞を強制的に増殖させると、細胞はストレスを受けることになります。したがって、ダウンストリームアッセイにスフェロイドを使用する前に、細胞の健康状態と生存率を評価することが重要です。また、すべての細胞タイプが異なる形状を有するので、スフェロイドのサイズは播種細胞密度と相関しません。通常、薬剤応答アッセイでは、直径300 ~ 500 μm のがんスフェロイドが用いられます。T47D細胞はMDA-MB-231細胞よりも大きなスフェロイドを生じます。たとえば、96ウェルプレートにウェルあたり8,000個のT47D細胞を播種すると、4日で直径約600 μm のスフェロイドが得られるのに対し、MDA-MB-231の同じ播種数では、同じ日数で300 ~ 350 μm のスフェロイドが形成されます(図5)。EVOS M7000 Imaging Systemの自動イメージング設定を用いると、スフェロイドの大きさと真球度を測定でき、スフェロイドの明視野画像を数日間をかけて迅速に撮影することが可能です。また、マイクロプレートリーダーだけでなく、イメージングにより細胞の生存率および健康状態を評価する試薬も利用可能です。スフェロイドの細胞の健康状態を評価するため、一般的にPrestoBlue HS Viability DyeおよびLIVE/DEAD Imaging Kitを使用します。これらのアッセイでは、スフェロイドをそれぞれの試薬とインキュベートした後、Thermo Scientific™ CellInsight™ CX7 LZR HCSプラットフォームを用いて共焦点イメージングを行うか、Thermo Scientific™ Varioskan LUX マルチモードマイクロプレートリーダーなどを用いて蛍光/吸光度を測定します。たとえば、PrestoBlue HS Reagentを使用すると、MDA-MB-231スフェロイドの生存率が経時的に上昇することが観察され、細胞が健全に分裂していることが示されました(図6)が、それは死細胞の指標にはなり得ません。LIVE/DEAD Imaging Kitは、細胞播種密度が高いスフェロイドの中心部での死細胞の蓄積増加に見られるように、数日にわたる測定の可視化に役立ちました(図7)。その他の重要な試薬として低酸素イメージング色素、Invitrogen™ CyQUANT™ Direct Assayなどの細胞増殖検出試薬、Invitrogen™ CellROX™ Reagentといった酸化ストレス検出色素、Invitrogen™ MitoSOX™ Red Reagentのようなミトコンドリアスーパーオキシド検出試薬などが挙げられます。さらに、スフェロイドのコンパクトさはInvitrogen™ Dil Dyeなどの染色剤を用いて評価することもできます。

詳細については、thermofisher.com/cellhealthをご覧ください。

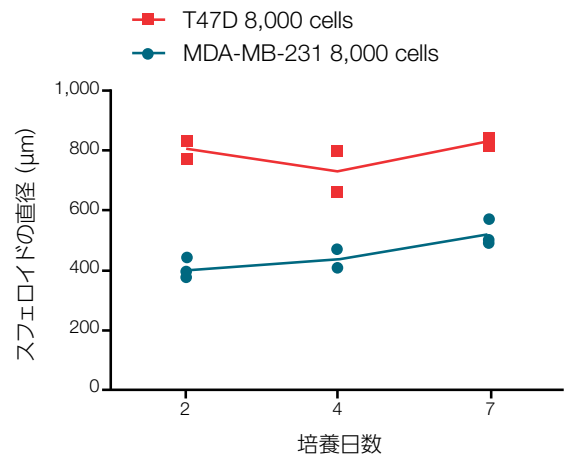


図5. スフェロイド培養日数とスフェロイド直径との相関。スフェロイドは、8,000個のT47DおよびMDA-MB-231細胞から生成した。実験ごとに少なくとも6つのスフェロイドを考慮した。N = 2。

Tips

- スフェロイドは単層よりも色素が浸透しにくいいため、3D培養の場合は色素のインキュベーション時間を長くします。
- アッセイが細胞ベースであるか、使用済み培地ベースであるかに応じて、Varioskan LUX マルチモードマイクロプレートリーダーの「上部読取」(培地ベース)または「下部読取」(細胞ベース)機能を使用します。
- 細胞の挙動と健康状態を、ステージ上のインキュベーターを備えた機器を使用して経時的に測定できます。

製品ハイライト

- **PrestoBlue HS Cell Viability Reagent:** 細胞の健康指標として使用されるレサズリンをベースとした溶液です。健康な細胞のミトコンドリアはレサズリンをレゾルフィンに還元し、蛍光シグナルを発します。

PrestoBlue HS 試薬は、細胞生存率と健康状態を経時的にモニタリングすることが可能です。実施するのは比較的簡単なアッセイで、試薬を使用済み培地に 1:10 (v/v) の割合で添加し、細胞の種類に応じて 37°C で 4 ~ 6 時間インキュベートします。その後、560/590 nm Ex/Em を持つ Varioskan LUX マルチモードマイクロプレートリーダーを用いて蛍光測定値を読み取ります。一例として、培養 7 日目の MDA-MB-231 スフェロイドの相対的な生存率は、培養 4 日目スフェロイドよりも高く、細胞が時間の経過とともに増殖していることを示しました。この試薬は死細胞集団に関する情報を提供しませんが、細胞毒性薬の効果を迅速に評価するための有用な試薬です。

- **LIVE/DEAD Imaging Kit:** Invitrogen™ Calcein AM Dye and ethidium homodimer-1 (EthD-1) をベースにしたキットで、スフェロイド内の生細胞（カルセイン AM）と死細胞（EthD-1）の個体群の可視化と評価に使用されます。生細胞はカルセイン AM をカルセインに変換し、緑色の蛍光シグナルを発します。一方、EthD-1 は死細胞に入り込んで DNA に結合し、赤色の蛍光を発します。本キットは、蛍光プレートリーダーだけでなくイメージングにも対応していますが、イメージングにより、集団特性に関する空間情報を提供します。一例として、培養 4 日目の MDA-MB-231 スフェロイドと比較して、培養 7 日目のスフェロイドは、中心部により多くの死細胞を有することが見いだされました。同様に、T47D 細胞については、細胞密度の高いスフェロイドの方が中心部により多くの死細胞が存在することがわかりました。これは、栄養素や酸素へのアクセスが少なくなるため、時間の経過とともにスフェロイド中心部により多くの死細胞が蓄積する可能性があることを示しています。

- **Dil Dye:** Dil は細胞膜に取り込まれるまで弱い蛍光を発する脂溶性の膜染色剤です。この特性は、スフェロイドのコンパクトさの評価に使用できます。コンパクトなスフェロイドは、MDA-MB-231 細胞で見られたように、その中心部に向かう色素の浸入が制限されるため、リング状の染色パターンになります (図 8)。

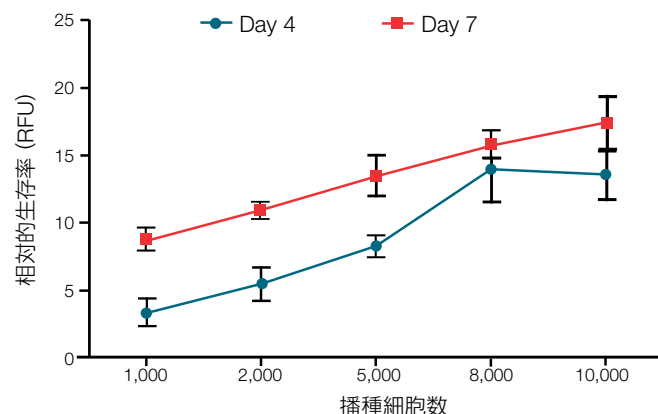


図 6. MDA-MB-231 スフェロイドの数日にわたる相対的生存率。N = 3。実験ごとに少なくとも 6 つのスフェロイドが考慮された。読み取り値は、560/590 nm の Ex/Em を使用して Varioskan LUX マルチモードマイクロプレートリーダーを用いて下部読み取り値を取得した。

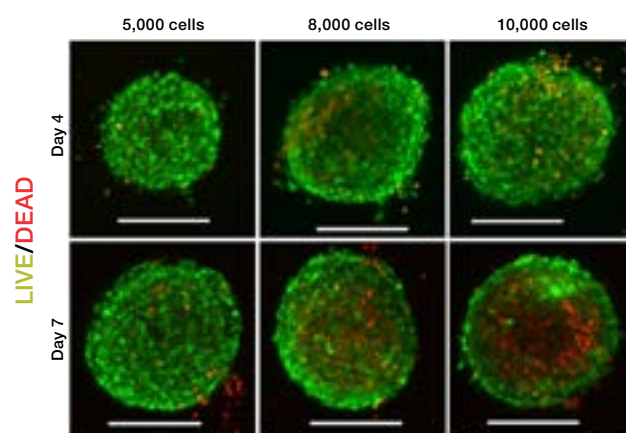


図 7. 培養 4 日目と培養 7 日目に LIVE/DEAD HCS 染色キットを使用した MDA-MB-231 スフェロイドの可視化。画像は、4 倍対物レンズを備えた CellInsight CX7 HCS プラットフォームを使用して取得した。培養 7 日目のスフェロイドは培養 4 日目よりも死細胞が多い。スケールバー：400 μ m。

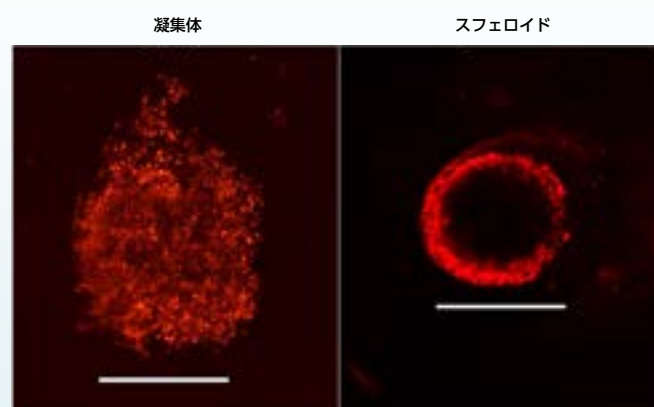
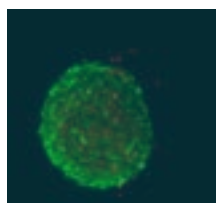


図 8. スフェロイド形成の検証。5,000 個の MDA-MB-231 細胞の培養 4 日目のスフェロイドと凝集体を Dil Dye で染色した。画像は、4 倍対物レンズ付きの CellInsight CX7 HCS プラットフォームを使用して撮影された。スケールバー：400 μ m。



Step 5: アッセイ／測定

化学療法薬の用量反応を測定する

細胞の健全性と生存率を評価した後、健康なスフェロイドはさまざまなダウンストリームのアッセイで使用できます

[7,8]。細胞毒性を測定するための LDH 放出アッセイ、Invitrogen™ CellEvent™ caspase-3/7 Detection Reagent を用いたアポトーシスアッセイ、Click-iT EdU Kit による検出または CyQUANT Direct Assay による細胞増殖アッセイ、および薬物治療に反応する遺伝子とそれらの発現変化を評価するアッセイなど、多種多様なアッセイを実施できますが、これらに限定されません。Varioskan LUX マルチモードプレートリーダー、CellInsight CX7 LZR HCS プラットフォーム、Applied Biosystems QuantStudio™ リアルタイム PCR システムなどの機器と組み合わせる試薬は、薬物応答のハイスループットリードアウトをサポートします。たとえば、CellInsight CX7 HCS プラットフォームおよび付属の Thermo Scientific™ HCS Studio™ 解析ソフトウェアを使用して MDA-MB-231 スフェロイド上のアポトーシス誘導薬エトポシドに対する反応をリアルタイムでライブセルイメージングし、解析することができました（図 9）。また、T47D スフェロイドにおける細胞増殖に対するコルヒチンの効果を Click-iT EdU Detection Kit と CellInsight CX7 HCS プラットフォームを組み合わせることでハイスループットで定量化しました（図 10）。

製品ハイライト

- **CellInsight CX7 LZR HCS プラットフォーム**：レーザーベースの自動化された細胞イメージングおよび解析プラットフォームで、ハイコンテンツ定量イメージングを実現します。7 チャンネルの共焦点イメージング機能とレーザーベースの照明により、組織、スフェロイド、オルガノイドなどの分厚い標本のイメージングが可能です。さらに、EurekaScan の「シーク&ファインディング」機能は、低倍率でスフェロイドを特定し、高倍率で画像化するのに役立つため、スキャン時間を大幅に短縮できます。HCS Studio 解析ソフトウェアを使用すると、30 種類以上の細胞ベースアッセイをリアルタイムで解析できます。このシステムを使用して、化学療法薬の細胞増殖・アポトーシスへの影響をハイスループットイメージング解析しました。

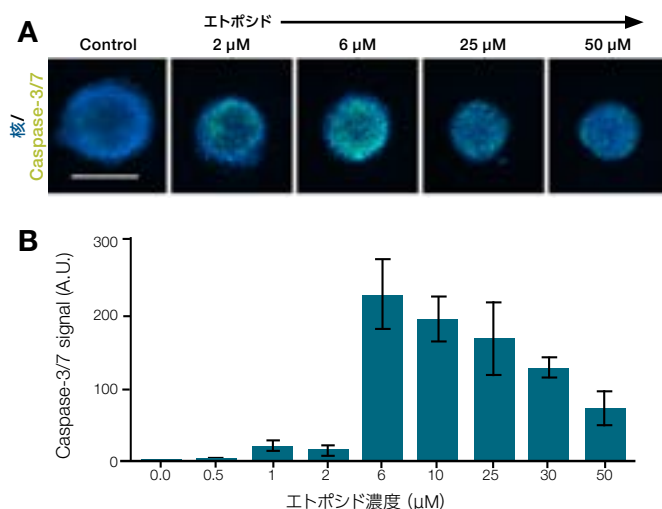


図 9. エトポシドに反応した MDA-MB-231 スフェロイドのリアルタイム、ライブセルイメージング。培養 4 日目の MDA-MB-231 スフェロイドをエトポシドの濃度を上げながら 72 時間処理し、CellEvent caspase-3/7 Detection Reagent を用いて可視化した。画像は (A) CellInsight CX7 HCS プラットフォームを用いて取得し、(B) HCS Studio 解析ソフトウェアを用いて解析した。スケールバー：400 μm。

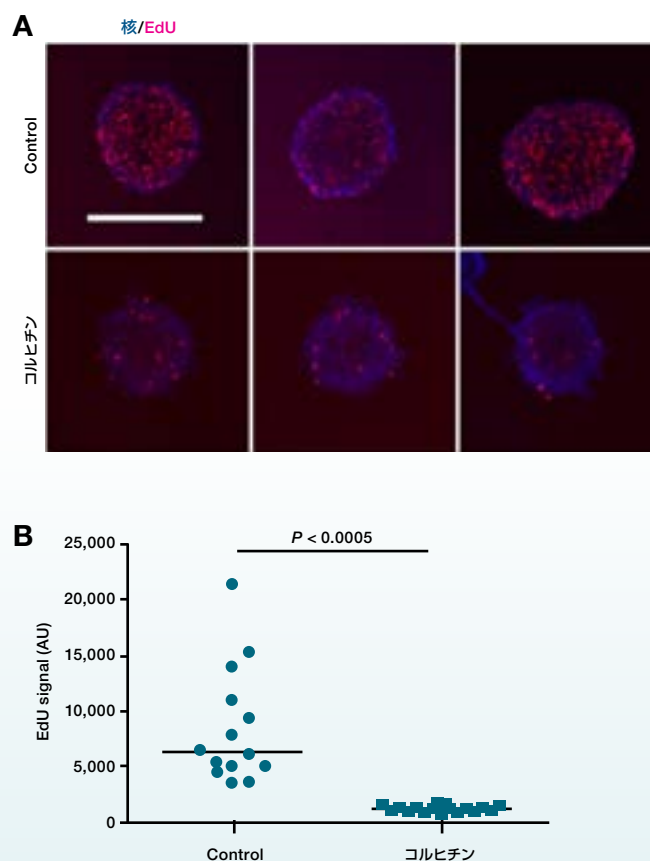


図 10. 細胞増殖に対するコルヒチンの効果。培養 4 日目の T47D スフェロイドを 100 nM コルヒチンで 72 時間処理した。Click-iT EdU Detection Reagent を用いて増殖細胞を可視化した。画像は、(A) CellInsight CX7 HCS プラットフォームを使用して取得し、(B) HCS Studio 解析ソフトウェアを使用して解析した。スケールバー：200 μm。

製品ハイライト

- Thermo Scientific™ Amira™ ソフトウェア (Coming Soon) :** このソフトウェアは、多くの画像モダリティのデータを可視化、処理、理解するための新しい 3D 解析プラットフォームであり、特に腫瘍／スフェロイド生物学に適しています。Amira ソフトウェアは、高度なノイズ除去機能を含む、トレーニングと予測を向上させるディープラーニングを備えており、CellInsight プラットフォームのネイティブ 3D 画像フォーマットを認識するようにカスタマイズされています。このように Amira ソフトウェアは、免疫腫瘍学の 3D モデルを正確かつ効率的に定量化する強力なツールを提供し、研究のハイスループット化を促進します。
- CellEvent caspase-3/7 Detection Reagent:** 細胞アポトーシスは、がんスフェロイドに対する細胞毒性薬の効果を研究するための不可欠な情報です。当社はカスパーゼ依存性アポトーシス誘導を直接評価するために CellEvent caspase-3/7 Detection Reagentを提供しています。アポトーシスの際に起こる重要なイベントは、caspase-3 と caspase-7 が切断されることにより、それらが活性化することです。Caspase - 3/7 Detection Reagent は、核酸結合色素に結合した 4 アミノ酸ペプチド (DEVD) です。ペプチドは非蛍光性ですが、DEVD が活性型カスパーゼによって切断されると、色素は核内に入り、DNA に挿入され、明るい蛍光を発します。読み出しは、イメージングまたはプレートリーダープラットフォームを用いて取得できます。
- Click-iT EdU Detection Kit:** このキットは Click ケミストリを用いて、集団内の増殖細胞を同定します。このキットは、T47D スフェロイドの増殖に対するコルヒチンという化学療法剤の効果を研究するために使用されました。細胞周期の合成 (S) 期では、キットに含まれる EdU はチミジンの代わりに新規に合成された DNA に取り込まれます。これに続いて、蛍光プローブに結合した EdU 検出試薬は、増殖細胞を同定に役立ちます。スフェロイドの場合、増殖中の細胞の空間構成を可視化するのに役立ちます。たとえば、T47D スフェロイ

Tips

- スフェロイドの薬物応答に関する空間情報を取得するために、レーザー光源と光学セクショニングによる共焦点イメージングを使用してください。
- 洗浄中にプレートを複数回遠心分離することは避けてください。ウェルの中心からスフェロイドが移動し、その後のイメージングが困難になります。

ドでは、より多くの増殖細胞が周辺部に向かっており、中心部に向かう方が少ないことがわかりました。これは、周辺部に向かう細胞がより多くの栄養素にアクセスでき、その結果、細胞増殖率が増加していることを示しています。

引用文献

- Edmondson R, Broglie JJ, Adcock AF et al. (2014) Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *Assay Drug Dev Technol* 12(4):207-18. doi: 10.1089/adt.2014.573
- Sharma GN, Dave R, Sanadya J et al. (2010) Various types and management of breast cancer: an overview. *J Adv Pharm Technol Res* 1(2):109-26.
- Liu K, Newbury PA, Glicksberg BS et al. (2019) Evaluating cell lines as models for metastatic breast cancer through integrative analysis of genomic data. *Nat Commun* 10(1):2138. doi: 10.1038/s41467-019-10148-6
- Raghavan S, Mehta P, Horst EN (2016) Comparative analysis of tumor spheroid generation techniques for differential in vitro drug toxicity. *Oncotarget* 7(13):16948-61. doi: 10.18632/oncotarget.7659
- Dubois C, Dufour R, Daumar P et al. (2017) Development and cytotoxic response of two proliferative MDA-MB-231 and non-proliferative SUM1315 three-dimensional cell culture models of triple-negative basal-like breast cancer cell lines. *Oncotarget* 8(56):95316-95331. doi: 10.18632/oncotarget.20517
- Gupta S, Tang C, Tran M et al. (2016) Effect of predatory bacteria on human cell lines. *PLoS One* 11(8):e0161242. doi: 10.1371/journal.pone.0161242
- Zhang J, Wang X, Cui W et al. (2013) Visualization of caspase-3-like activity in cells using a genetically encoded fluorescent biosensor activated by protein cleavage. *Nat Commun* 4:2157. doi: 10.1038/ncomms3157
- Lagies S, Schlimpert M, Neumann S et al. (2020) Cells grown in three-dimensional spheroids mirror in vivo metabolic response of epithelial cells. *Commun Biol* 3(1):246. doi: 10.1038/s42003-020-0973-6

詳細はこちらをご覧ください thermofisher.com/sphera

研究用のみ使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

実際の販売価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-to **CCP012-A21030B**

販売店

サーモフィッシャーサイエンティフィック
ライフテクノロジーズジャパン株式会社

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ jptech@thermofisher.com

オーダーサポート TEL: 03-6832-6980 FAX: 03-6832-9584

営業部 TEL: 03-6832-9300 FAX: 03-6832-9580

facebook.com/ThermoFisherJapan [@ThermoFisherJP](https://twitter.com/ThermoFisherJP)

thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC