

Organ-on-a-Chipを使用し、*in vitro*でヒト組織の生理学的複雑さを把握

3D細胞培養により、2D細胞培養よりも生体内により近い環境を作り出し、*in vitro*で細胞の生理学的組成や空間配置を再現することが可能である。本アプリケーションノートでは、ニコンの共焦点レーザー顕微鏡システムA1R HD25を使用して、3D組織培養プラットフォームであるOrganoPlate®（製造元：MIMETAS）によりモデルの開発を行った例を紹介する。

*In vitro*で生理学的条件を再現可能な3D細胞培養

医薬品開発プロセスにおける課題として、疾患の発症と進行に関わる重要な特徴を捉えるための正確なモデルを見つけることの難しさが挙げられる。従来の薬物スクリーニングモデルの多くは単純な2D培養システムに依存しており、臓器の状況の複雑さを再現することは不可能であった。しかし、3D細胞培養によって、正常な細胞—マトリックス間相互作用や細胞—細胞間相互作用を模倣し、ヒト組織の複雑さを再現するための新たなステップを踏み出すことができる。マイクロ流体デバイスやOrgan-on-a-chipシステムに併せて3D細胞培養を行うことにより、*in vitro*で生体の組成や空間配置を模倣し再現することが可能となる。

OrganoPlate®を使用した3D血管新生モデル (*in vitro*灌流血管新生モデル) 開発

3D組織培養プラットフォームであるOrganoPlate®（製造元：MIMETAS）は、マイクロ流路を用いた灌流や共培養、組織微小環境の制御を組み合わせたシステムである。OrganoPlate® によって、*in vitro*でヒト組織の生理学的複雑さを把握し、3D組織生物学の研究を進める事が可能となる。ここでは、3D血管新生モデル (*in vitro*灌流血管新生モデル)の開発に成功した実験例（図1、図2）を示す。3D組織モデルの免疫組織化学画像を取得できただけでなく、血管新生の発芽の挙動を経時的に観察することも可能となった。

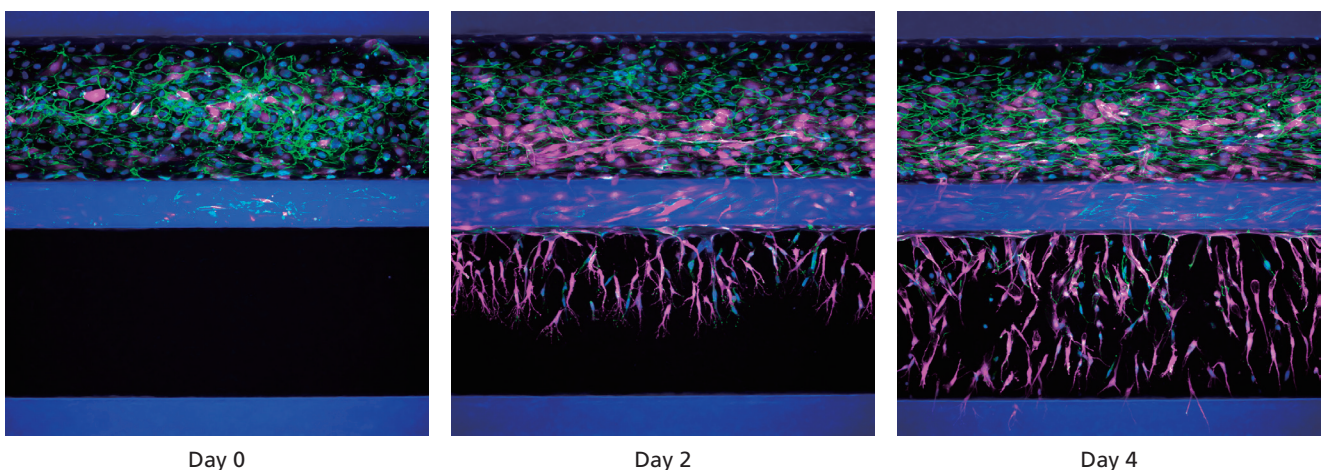
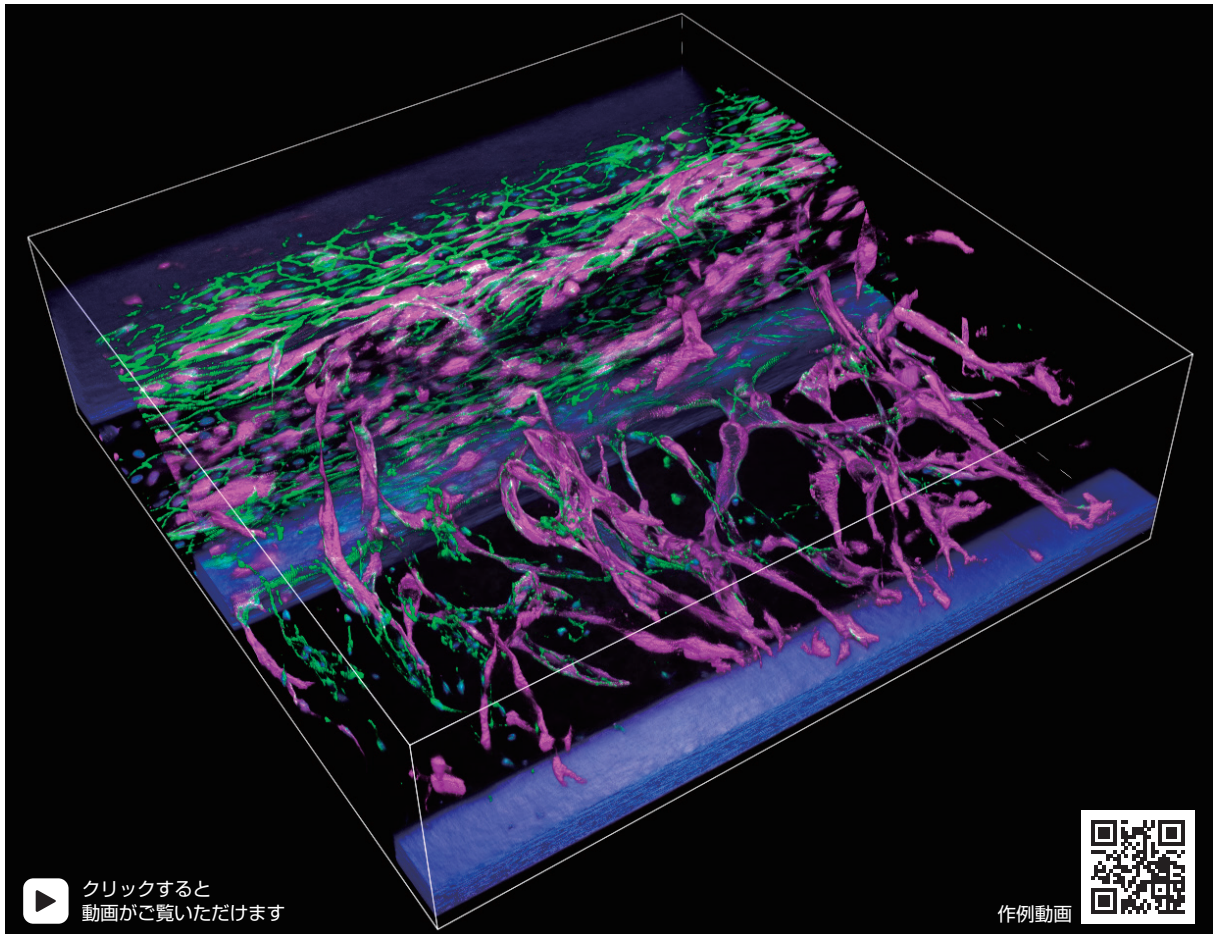


図1. 血管新生モデルの経時的な観察 (Zスタック画像のMaximum Intensity Projection画像)

サンプル：細胞間接着マーカー-VE-cadherin (緑)、ActinRed (マゼンタ)、DAPI (シアン) で染色したヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)、血管新生誘導開始から0日目、2日目、4日目

顕微鏡：Ti2倒立顕微鏡 + 共焦点レーザー顕微鏡システムA1R HD25、対物レンズ：CFIアポクロマートLWD Lambda S 20XC WI(NA: 0.95 WD: 0.95mm)、ウォーターイメージングディスペンサー

レゾナントスキャナーを使用し、3色 (408 / 450, 489 / 525, 561 / 595) によるZスタック画像 (Zステップ：2μm、深度範囲：250μm) を取得した。



クリックすると
動画がご覧いただけます

作例動画

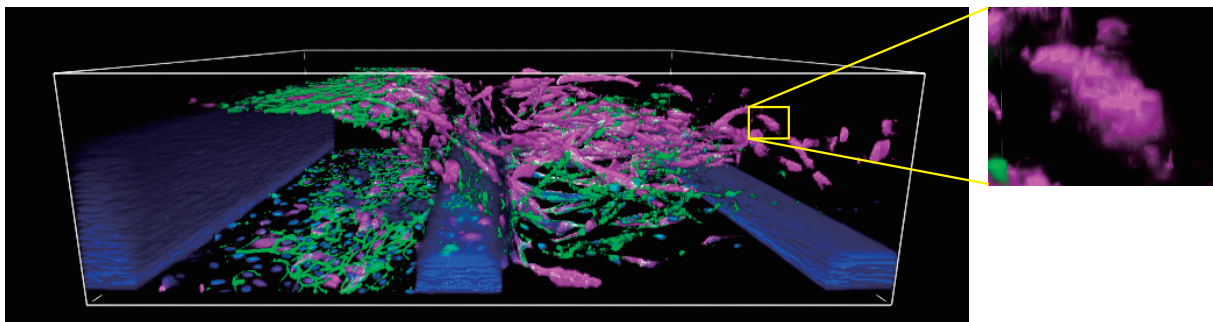


図2. 血管新生モデルの3D画像

サンプル：細胞間接着マーカー-VE-cadherin (緑)、ActinRed (マゼンタ)、DAPI (シアン) で染色したヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)、血管新生誘導開始から4日目

顕微鏡：Ti2倒立顕微鏡 + 共焦点レーザー顕微鏡システムA1R HD25、対物レンズ：CFiアポクロマートLWD Lambda S 20XC WI (NA: 0.95 WD: 0.95mm)、ウォーターイマージョンディスペンサー

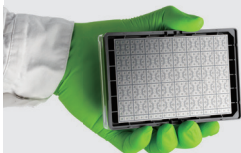
レゾナントスキャナーを使用し、3色 (408 / 450, 489 / 525, 561 / 595) によるZスタック画像 (Zステップ: 2 μ m、深度範囲: 250 μ m) を取得した。

使用デバイスの紹介

OrganoPlate® 3-lane 40

(Product no. 4004-400-B 製造元: MIMETAS)

OrganoPlate® 3-lane 40は40個の独立したチップ内にゲル導入用と2つの灌流用の合計3つのレーンで構成され、灌流可能な管状構造組織の作製が可能です。上皮及び内皮細管のApicalとBasal側からアクセスできるため、膜透過性試験やトランスポーターアッセイに適しています。



製品に関するお問い合わせ：
ミメタスジャパン株式会社



製品情報

共焦点レーザー顕微鏡システム A1R HD25

生細胞への光毒性が低く褪色の少ない、高速・高解像度・広視野レゾナントスキャナー

- ・高速：最速毎秒720フレーム
- ・高解像度：最大1K (1024×1024画素)
- ・高スループット：
視野数25mmの超広視野

