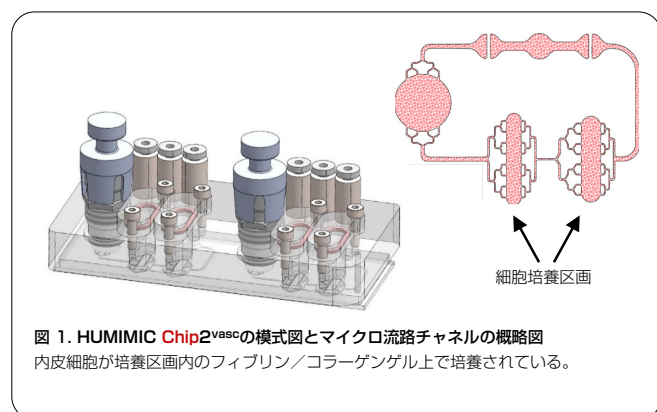


HUMIMIC Chipを用いた血管ネットワークの 共焦点イメージング

本アプリケーションノートでは、TissueUse社製HUMIMIC Chip内に形成された血管ネットワークの3Dイメージング例を紹介する。アクチンフィラメント (F-actin) と内皮細胞マーカーであるCD31を蛍光標識により可視化し、共焦点顕微鏡で観察することにより、チップの細胞培養区画に3Dの管状構造が形成されていることを確認できた。血管の形成により、将来的にチップ内のスフェロイドやオルガノイドを生理学的な培養環境にすること（例えばスフェロイドやオルガノイドへの毛細管形成）が可能となる。

実験概要

Organ-on-a-chipは、微細な流路と臓器培養用の区画を備えたデバイスである。TissueUseのHUMIMIC Chipは「マルチオーガニックチップ」であり、共通の流路内で培地を循環させながらさまざまな臓器モデルを連結させることができる。このデバイスでは、ヒトの臓器モデルの生理学的な培養環境を模倣しつつ、同時に複数の臓器モデルを培養することが可能である。特に、チップ内に血管構造を構築することは、生理学的な微小環境を再現するために重要である。HUMIMIC Chipではマイクロ流路チャンネル内のみならず、培養区画においてさまざまな血管構造を形成させることが可能である。本アプリケーションノートでは、HUMIMIC Chip2^{vasc}の培養区画に形成された血管構造の3Dイメージング結果を紹介する（図1）。



HUMIMIC Chip2^{vasc}を用いた血管ネットワークの形成

HUMIMIC Chip2^{vasc}を用いることで、高度な血管構造を構築することが可能である。図2では、細胞培養区画に内皮細胞をバイオプリントすることでチャンネルを構築した。取得した3D画像からは、ハイドロゲル内に内皮細胞が発芽し、内皮細胞のチャンネルが形成されている様子（図3）や、バイオプリントチャンネル間にCD31を発現する新しい血管が形成されている様子（図4）が確認できる。

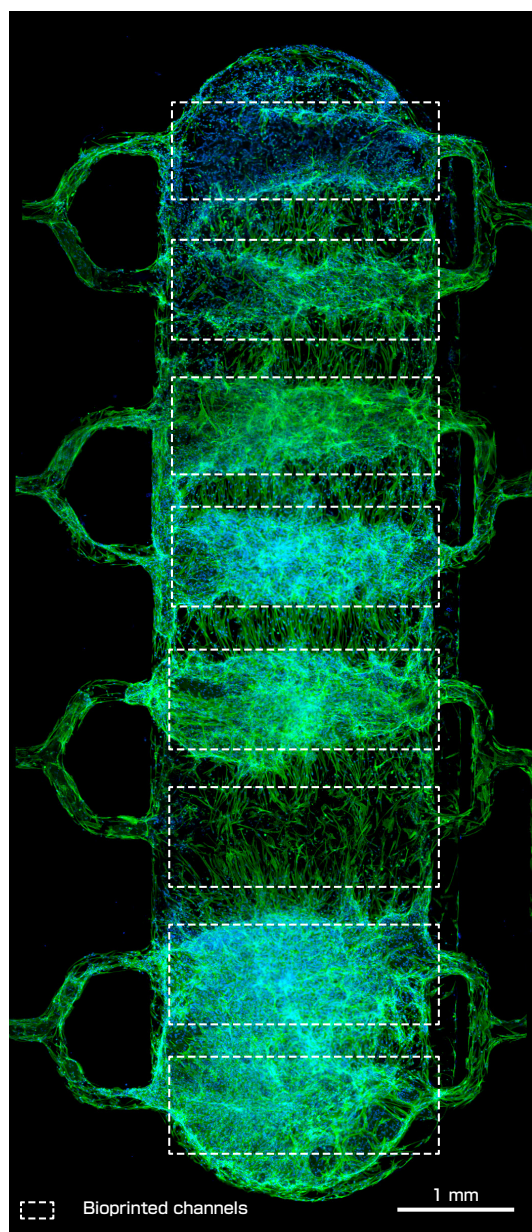


図 2. HUMIMIC Chip2^{vasc}のバイオプリントチャンネル
細胞培養区画全体のMIP画像。内皮細胞をバイオプリントチャンネル内で培養し、ハイドロゲル内の間葉系幹細胞/間質細胞と共培養した。サンプルはF-actin (緑)、DAPI (青) で染色した。スケールバー：1000 μm、対物レンズ：CFI Plan ApoChromat Lambda 4X (NA 0.20)

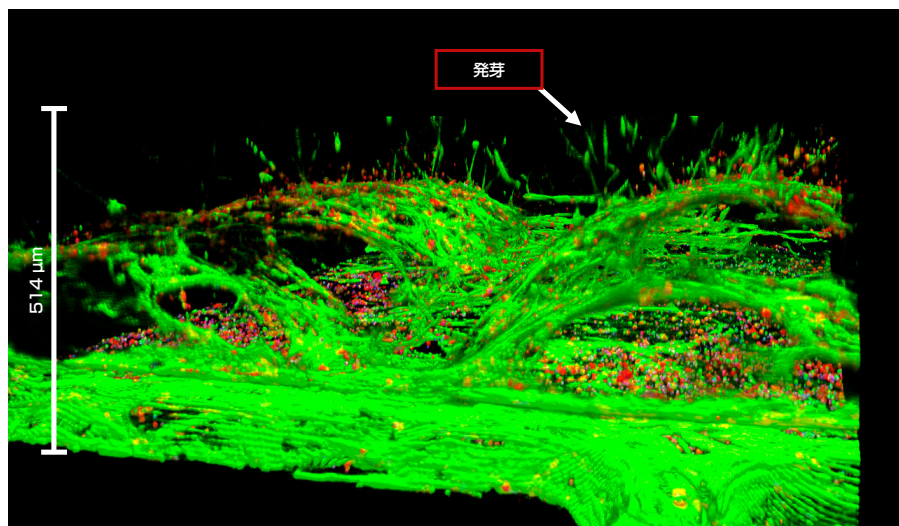


図 3. バイオプリントチャネルからの発芽

内皮細胞と免疫細胞 (PBMCs - 抹消血単核) との共培養。血管新生を誘導するため、PMA、FGF、VEGFを添加。サンプルはF-actin (緑)、DAPI (青)、CellTracker Red CMPTX (赤) で染色した。

3D像を横から見た様子

対物レンズ: CFI S Plan Fluor LWD 20XC (NA 0.70)



動画

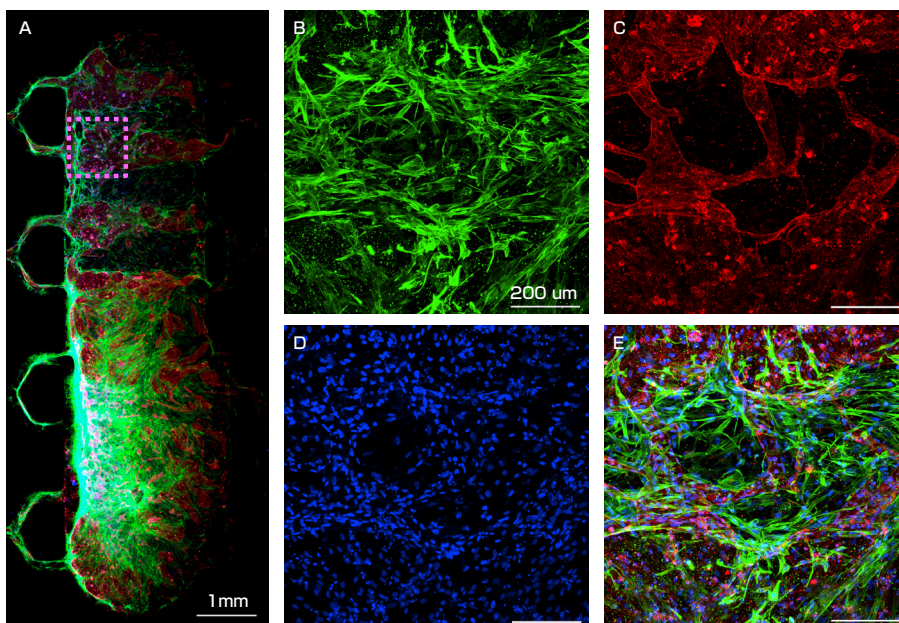


図 4. バイオプリントチャネル間に形成された血管

内皮細胞を培養し、血管新生を誘導するため、VEGFを添加。サンプルはF-actin (緑)、DAPI (青)、CD31 (赤) で染色した。

A

細胞培養区画全体の共焦点画像

スケールバー: 1000 μm

対物レンズ: CFI Plan Apochromat Lambda 4X (NA 0.20)

B, C, D, E

図A内の点線枠内についてのMIP画像

スケールバー: 200 μm

対物レンズ: CFI S Plan Fluor LWD 20XC (NA 0.70)

まとめ

本アプリケーションノートでは、**HUMIMIC Chip2^{vasc}**を使用して高度な血管構造の構築が可能であることを示した。撮影条件を適切に選定することで、3D構造やマーカーの局在をクリアに確認することが可能となる。**HUMIMIC Chip2^{vasc}** とニコンの共焦点顕微鏡を組み合わせることで、将来的には腎臓などのスフェロイドに毛細血管が形成する様子を観察できるようになる可能性がある。

著者情報

Isabell Durieux¹, Alicia Oberländer¹, Johanna Dietzfelbinger¹, Christine Schwenk¹, Hiroaki Kii², Mamiko Masutani², Chisako Iwamoto², Yasujiro Kiyota²

¹ TissUse GmbH, Berlin, Germany, www.tissuse.com; ² NIKON CORPORATION, Tokyo, Japan

製品紹介



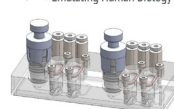
HUMIMIC Starter

ポンプ圧は連続的に調整でき、自動的に設定されます。USBポートが装備されているため、圧力プロファイルの管理やデータの転送が容易に行えます。**HUMIMIC Starter**は、**HUMIMIC Chip2**, **Chip3**, **Chip3plus**, **Chip4**と互換性があります。



HUMIMIC Chip2^{vasc}

HUMIMIC Chip2^{vasc}は内皮細胞がマイクロ流路全体に広がり、全面を覆うように設計されています。チャネルが血管床に繋がっており、そこで内皮細胞が臓器に向かって発芽することで、臓器に血管を連結させることが可能です。



共焦点レーザー顕微鏡システム AX/AX R

AX/AX Rは、従来機比4倍の8K x 8K画素の高解像度画像を実現。対角25 mmの広視野でサンプルの広範囲を一度に撮影でき、光毒性を低減します。AX Rのレゾナントスキャナーは、2K x 2Kの高解像度を実現。毎秒720フレーム (2048 x 16画素) の高速取得により、生きたサンプルの変化や反応を逃さず捉えます。

