

EZSPHERE®を用いたがん細胞スフェロイドの増殖

■細胞種: DLD-1 大腸がん細胞(腺がん)

■培養条件:

①細胞懸濁液を、下記条件にて EZSPHERE®容器に播種。

培地: DMEM/F12+10% FBS

播き込み細胞数: 2×10^5 cells/mL, 0.1 mL/well

②培養1日目、3日目、4日目に、スフェロイドを回収し、直径サイズと、スフェロイドの増殖を測定。

AGCテクノグラス(株)製品

●EZSPHERE® 96well マイクロプレート
(品種コード: 4860-900)

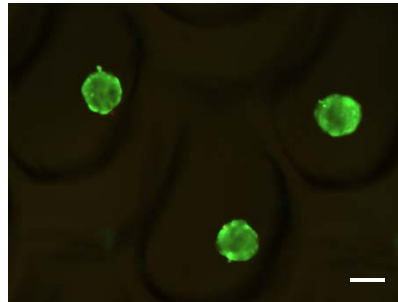
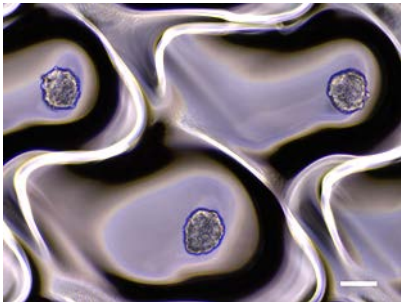
微細ウエル径: 約500 μ m

微細ウエル深さ: 約100 μ m

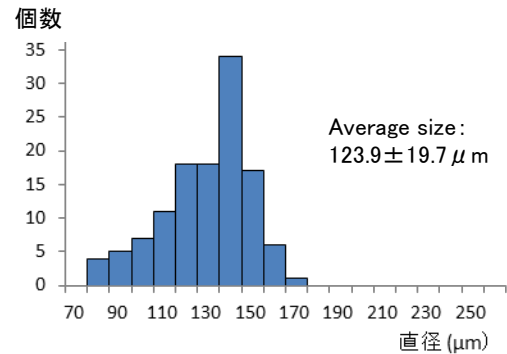
<観察> 対物×10 Bar: 100 μ m

<スフェロイドサイズ測定>

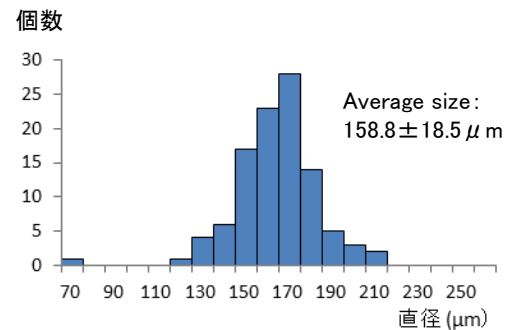
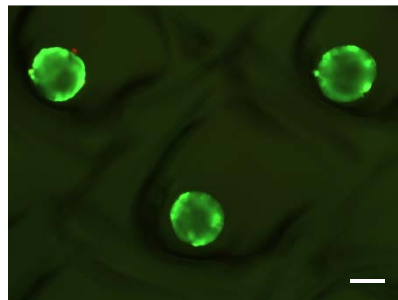
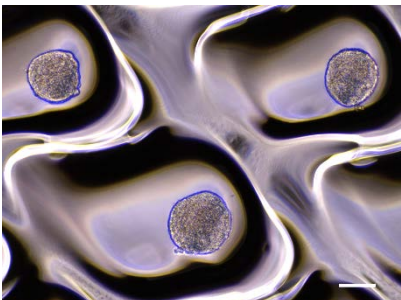
培養1日目



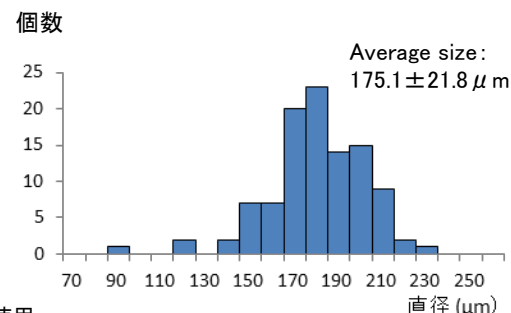
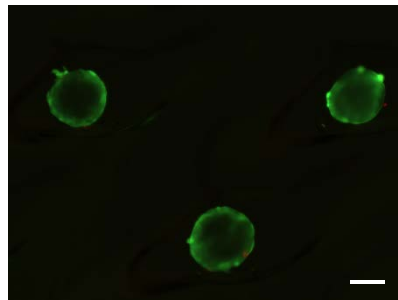
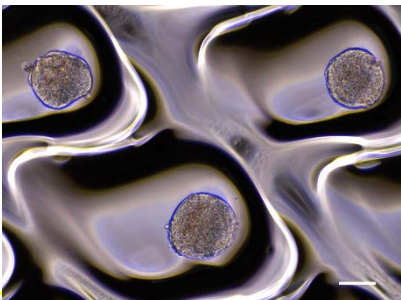
Green=生細胞/Red=死細胞(※)



培養3日目



培養4日目

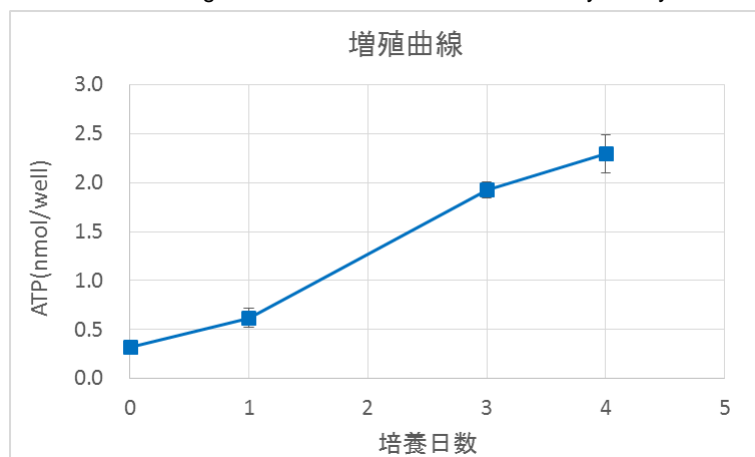


(※)PromoKine社 Live/Dead Cell Staining kit IIを使用

<スフェロイドの増殖測定>

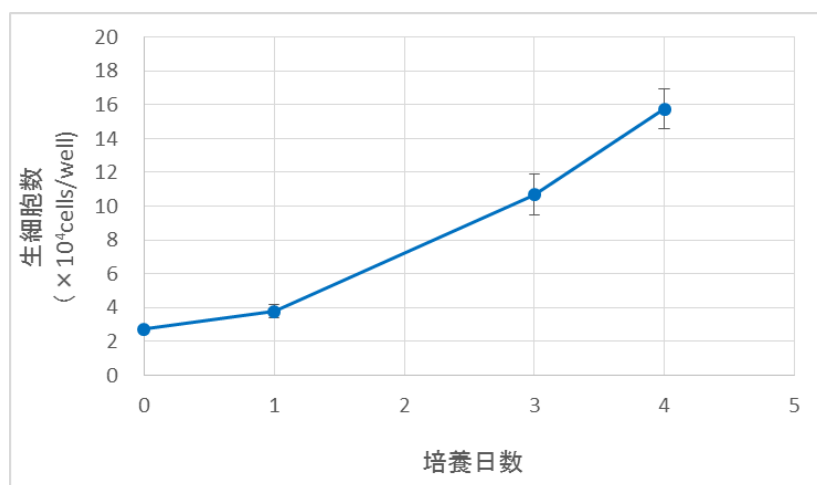
ATP測定

ATP測定方法 — Promega社のCellTiter®-Glo 3D Cell Viability Assayを使用

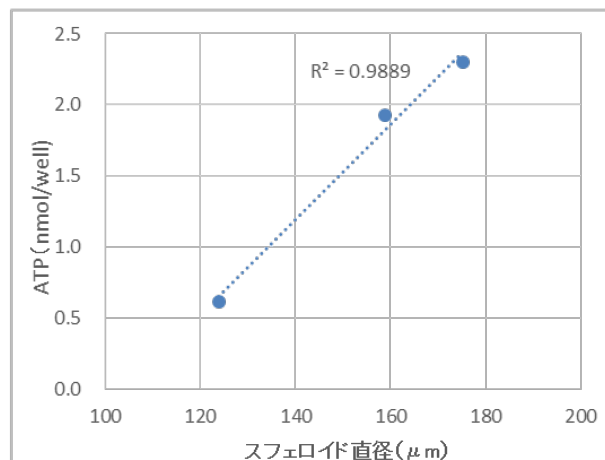


生細胞数の測定

スフェロイドをTrypsinで分散し、トリパンブルー染色により生細胞数をカウント。



ATP値とスフェロイド直径の相関



今回のDLD-1がん細胞は、3次元スフェロイド培養において、EZSPHERE®容器内で均一なサイズのスフェロイドを形成した。その後、高い生存率を維持しながら増殖し、スフェロイドサイズが大きくなっていくことが確認できた。また、スフェロイドサイズとATP値は良好な相関を示した。

EZSPHERE®を用い、良好ながん細胞スフェロイドの形成が可能です。
(細胞種により、また培養条件により、スフェロイド形成の状況は異なります。)