

EZSPHERE®を用いた抗がん剤感受性試験

～ 3次元スフェロイド培養と2次元単層培養での比較 ～

■細胞種:

- DLD-1 (大腸がん細胞)
- MKN45 (胃がん細胞)

■培養条件:

①EZSPHERE® 96wellマイクロプレート(品種コード: 4860-900)と
組織培養用96wellマイクロプレート(品種コード: 3860-096)に下記濃度の細胞を播種。

● DLD-1 細胞:

3次元スフェロイド培養(3D) --- a: 2×10^5 cells/well, 0.1mL/well / b: 1×10^5 cells/well, 0.1mL/well
2次元単層培養(2D) --- c: 1×10^4 cells/well, 0.1mL/well / d: 5×10^3 cells/well, 0.1mL/well

● MKN45 細胞 : 3D, 2D培養ともに --- 1×10^5 cells/well, 0.1mL/well

②細胞播種翌日に、各ウェルから50 μ Lの培地を吸引後、抗がん剤 5-Fluorouracil (5FU)を含む培地を50 μ L添加。

③DLD-1細胞では、培養5日目(5FU添加後、4日目)、MKN45細胞では、培養6日目(5FU添加後、5日目)にATP測定(※)と顕微鏡観察を行った。(※)Promega社のCellTiter®-Glo 3D Cell Viability Assayを使用

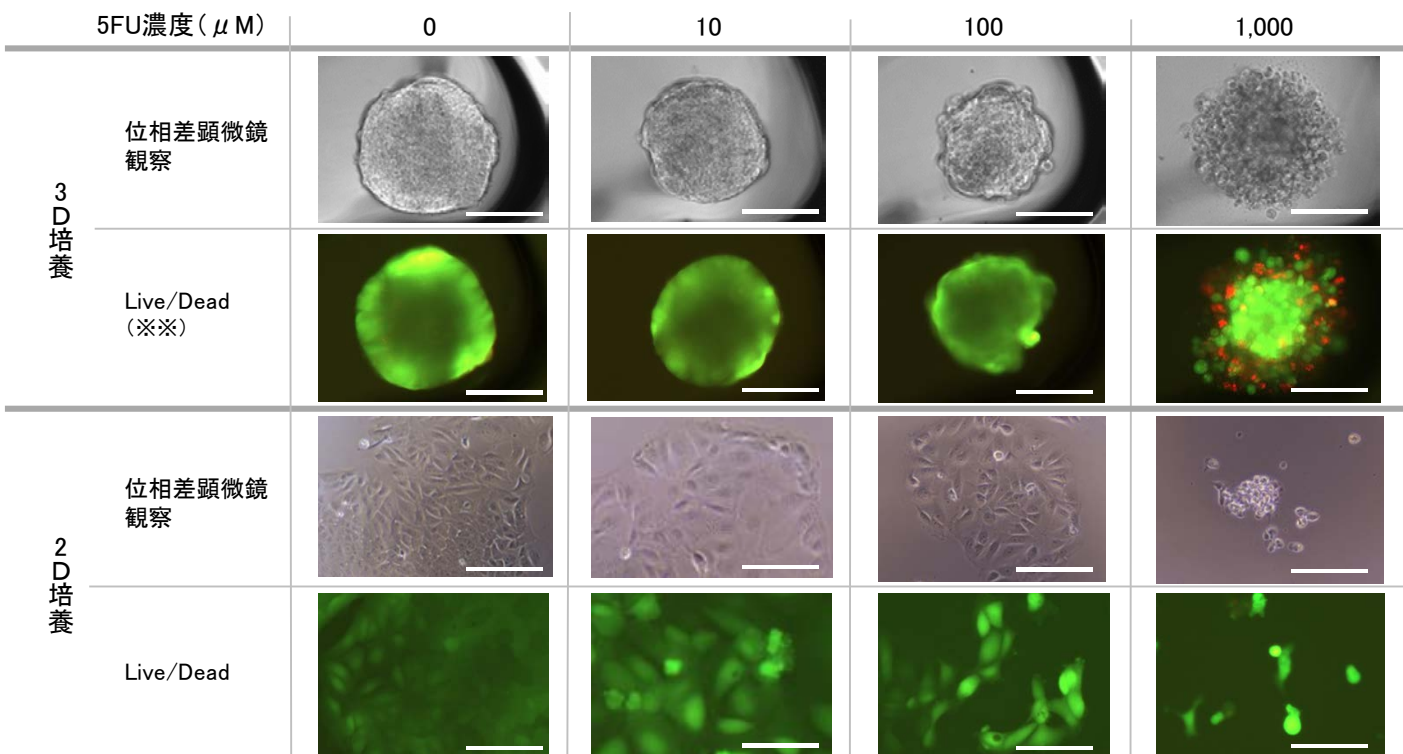
AGCテクノグラス(株)製品

- EZSPHERE® 96well マイクロプレート
(品種コード: 4860-900)
微細ウェル径: 約500 μ m
微細ウェル深さ: 約100 μ m

<観察>

●DLD-1 細胞

- ・EZSPHERE® での3次元スフェロイド培養において、細胞間の結合が強固なしっかりとした形状のsolid spheroidを形成した。5FU濃度が高くなるにつれて徐々にスフェロイドサイズが小さくなり、300 μ M以上の高濃度になるとスフェロイド形態が崩れ、死細胞が増え始めた。
- ・2次元単層培養では、低濃度の5FU(1 μ M)から細胞数が著しく減少し始め、3次元培養よりも低い濃度で増殖抑制効果が観察された。



(3次元スフェロイド培養: a 播種細胞数= 2×10^4 cells/well 2次元単層培養: c 播種細胞数= 1×10^3 cells/well)

Bar = 100 μ m

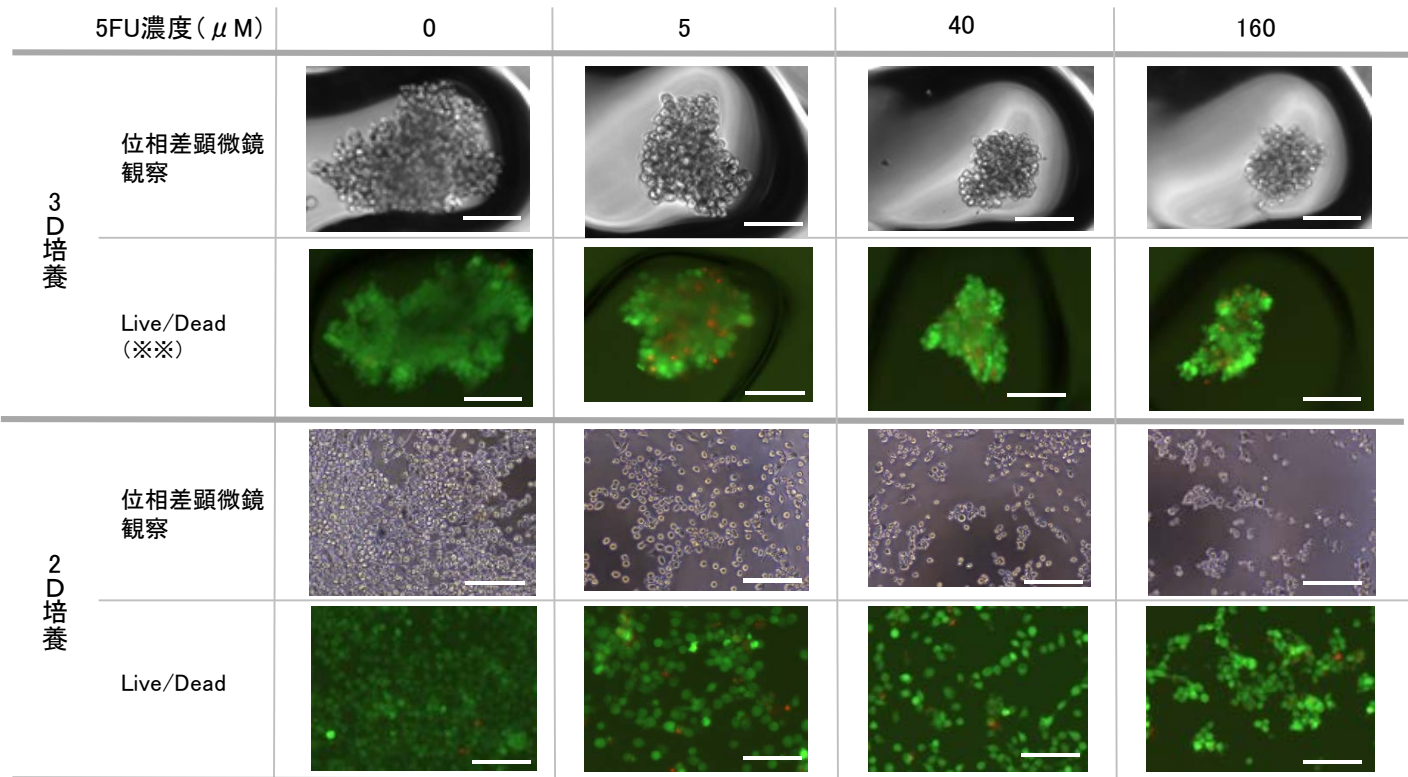
(※※)PromoKine社 Live/Dead Cell Staining kit IIを使用 Green=生細胞/Red=死細胞

●MKN45 細胞

・EZSPHERE® での3次元スフェロイド培養において、細胞間接着の弱い**soft spheroid**を形成した。

5FU低濃度から顕著に スフェロイドサイズが小さくなり死細胞が増え始めた。

・2次元単層培養においても、低濃度の5FUから徐々に細胞数が減少した。



(※※) Green=生細胞/Red=死細胞

Bar = 100 μm

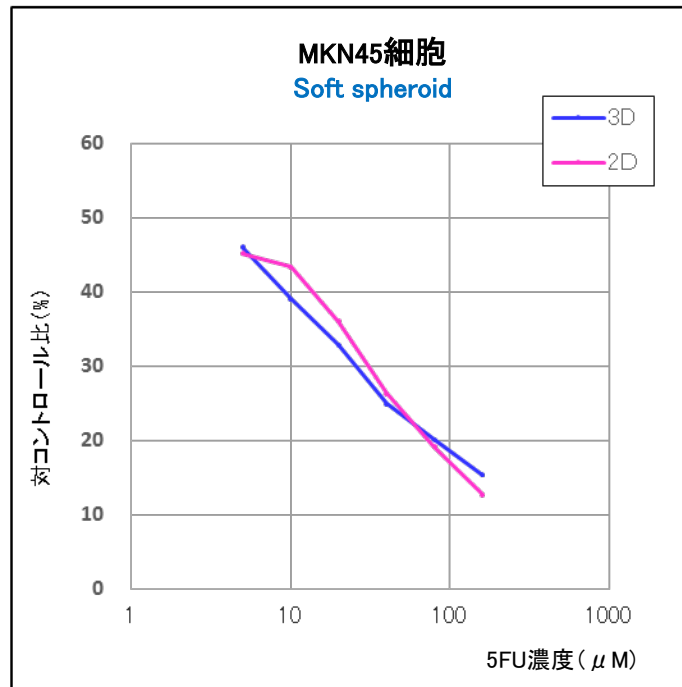
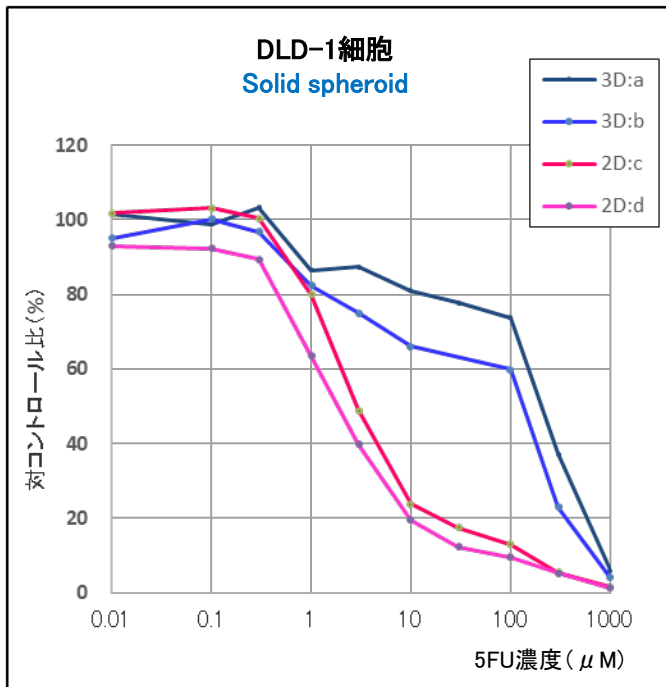
<薬剤感受性試験>

生細胞数の指標となるATP量を測定し、5FU 0 μM のサンプルを100%としたときの割合をグラフに示した。

結果、solid spheroidを形成するDLD-1細胞では、2D培養と3D培養で5FUの IC_{50} 濃度が100倍程度異なる結果だったのに対し、

soft spheroidを形成するMKN45細胞では、2D培養と3D培養での5FU感受性に違いは見られなかった。

がん細胞スフェロイドのタイプにより、5FU感受性が顕著に異なる結果となった。



EZSPHERE®を用い、良好ながん細胞スフェロイド 薬剤感受性試験結果が得られました。

(細胞種により、また培養条件により、スフェロイド形成やAssayの状況は異なります。)