

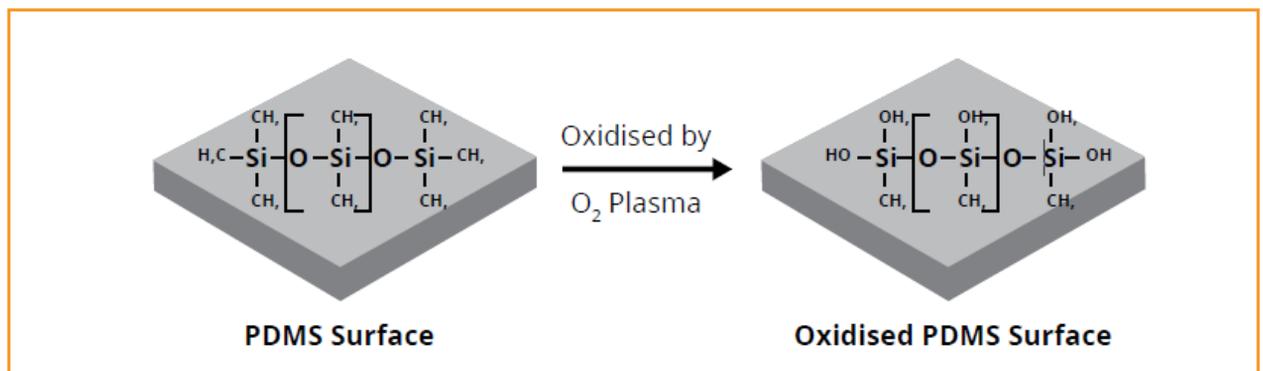
細胞伸展実験を行うことで、様々な研究分野にわたって、貴重な知見を得ることができます。当ガイドでは、伸展実験の再現性を確保し、科学的な理解を深め、研究を推進するための手順を解説します。

ステップ1. 柔軟性のあるディッシュの選択：PDMS（ポリジメチルシロキサン）

PDMSを柔軟性のあるディッシュとして選択することで、その弾力性、光学的透明性、酸素プラズマを使用した親水性表面改質による細胞接着の強化などのメリットが得られます。
※弊社より専用のPDMSチャンバーを販売しています。

- ・弾力性：PDMSは優れた弾力性を発揮するため、伸展実験に最適です。繰り返しの伸展にも変形することなく耐えられるため、一貫性と信頼性の高い結果が得られます。この弾力性は、実験の再現性を実現し、他の研究者が研究結果を検証して、さらに発展させるために事情に重要です。
- ・素材の透明度：PDMSは光学的に透明なので、顕微鏡技術を使用して細胞挙動を正確に観察および分析できます。この透明度により、伸展プロセス中の変化と反応を詳細に観察する機会が得られ、機械的な力が細胞に与える影響に関する貴重な洞察を得ることができます。
- ・親水性：PDMSは酸素プラズマ処理によって親水性にすることができ、これは表面を参加して、メチル基（-CH₃）を水酸基（-OH）へ変換する比較的簡単な方法です。
この親水性により、細胞接着が改善され、細胞外マトリックス（ECM）タンパク質の適用が容易になり、細胞を支える環境が作り出されます。
※弊社より真空プラズマ処理装置を販売しています。

※伸展実験で最適なパフォーマンスと再現性を確保するには、適切な洗浄および準備プロトコルにしたがって、PDMSを慎重に取り扱うようにしてください。



ステップ2. 適切な細胞接着を行う。

プラズマ処理後、コラーゲン、フィブロネクチン、ラミニンなどの細胞外マトリックス（ECM）をコーティングします。ECMは、構造的サポートと細胞環境を模倣する生化学的シグナルを提供し、実験中に細胞が繁殖できるようにするため、ECMの選択は細胞の接着と成長に重要です。

コーティングの選択

・コラーゲン

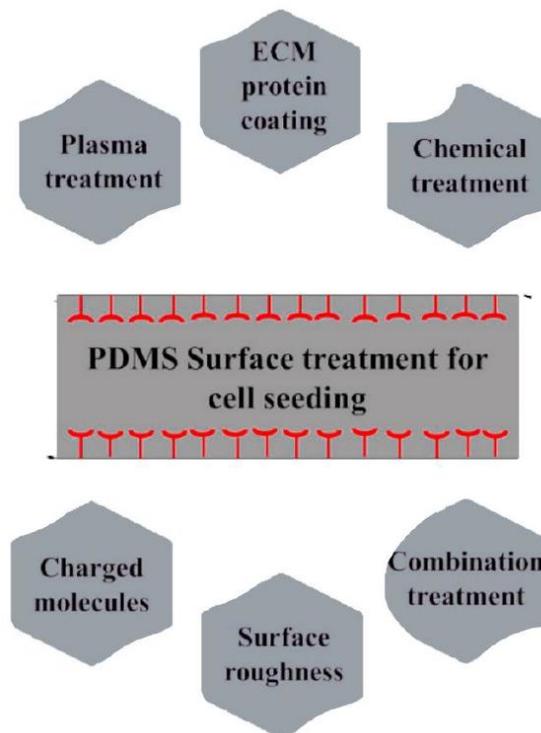
多くの細胞にとって一般的な選択肢です。ECM中に最も多く含まれるタンパク質であり、構造的サポートを提供します。

・フィブロネクチン

細胞表面にインテグリン受容体の結合部位があり、より良好な接着を可能にするために選択されます。コラーゲンで接着がうまくいかなかった場合、こちらを検討します。

・ラミニン

基底膜の主要成分であり、神経細胞の分化を促進するため、神経細胞に利用されることが多いです。



ステップ3. 最適な伸展条件の選択

正確で有意義な結果を得るためには、生化学的条件を正確に再現することが重要です。次の3つのパラメーターを考慮して、伸展条件を選択ください。

- 伸展時間

細胞反応を観察し、様々な伸展時間による変化を確認します。

- 伸展比率

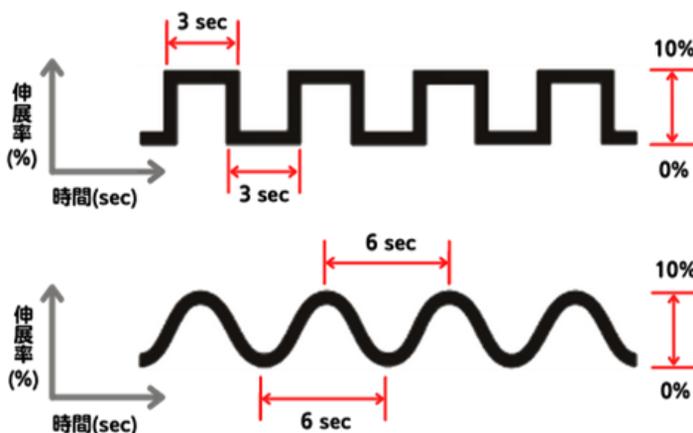
特定の細胞のふるまいが誘発される伸展比率を同定します。

- 伸展頻度

静的伸展または動的伸展のどちらかを選択します。

静的伸展は、一定の機械的な力の負荷を模倣します。

動的伸展は、周期的な生化学的状态に似た伸展と弛緩のサイクルを模倣します。具体的には正弦波や矩形波などの波形を使用して、細胞に固有の機械的な刺激を与えます。



保持時間あり (スクエアウェーブ)

伸展10% → 保持(3 sec)
→ 緩めて元に戻る → 保持(3 sec)
→ 繰り返す

保持時間なし (サインウェーブ)

徐々に伸展(3 sec) → 伸展10%
→ 徐々に緩める(3 sec) → 繰り返す

上記の3つのパラメーターを調整することで、実際の機械的な力に非常に近い環境を作り出し、細胞の挙動を正確に研究することが可能です。

ステップ4. 適切な伸展装置の選択

伸展装置の種類について説明します。実験条件と制御及び自動化の要否に応じて、選択します。

・手動伸展装置

静的な伸展に最適で、伸展実験をはじめて行う方や単純な伸展のみを実施したい場合に選択します。



【品番：ST-0100】

・自動伸展装置

静的な伸展および動的な伸展の両方に対応しています。最大64パターンの伸展パターンが設定可能であり、幅広い伸展条件に対応可能です。



【品番：ST-1400】

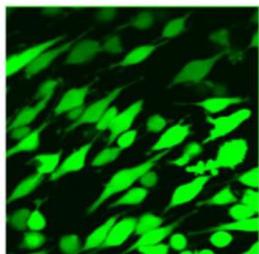
ステップ5. 結果の観察および分析

このステップは、有意義な洞察を引き出すために重要です。結果を観察して分析するために使用できるいくつかの方法を紹介します。

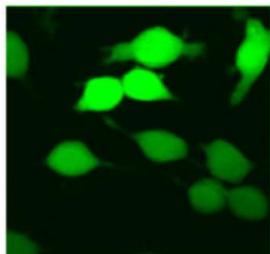
・細胞形態観察

顕微鏡を用いて、細胞の成長過程における細胞形態変化を観察します。

伸展実験により、細胞の伸長、整列、細胞骨格の再配置などの細胞反応を観察できます。チャンバー（伸縮性ディッシュ）上の細胞を観察するために設計された顕微鏡用伸展装置（ST-1500）もご紹介しますので、ご検討ください。

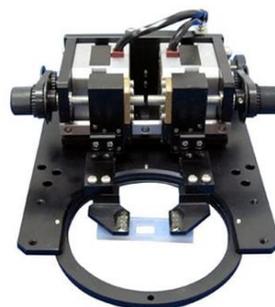


At 20x magnification



At 40x magnification

(C2C 12 cells stained with Calcein)



【品番：ST-1500】

・遺伝子とタンパク質の解析

定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）、ウェスタンブロッティング、免疫染色などの手法を用いて、各種RNA、タンパク質の発現レベルや局在を評価します。これらの解析により、機械的刺激に対する細胞反応の分子メカニズムに関する洞察を得ることができます。

・機能評価

伸展によって生じる細胞の機能的変化を評価します。これには、細胞の生存率、増殖、移動、または分化の評価があります。機能評価は、機械的な力が細胞の挙動と機能にどのように影響するかを包括的に理解するうえで有用です。

結果を適切なコントロールサンプルと比較し、実験を複製して、データの信頼性と再現性を確認することを行ってください。観察から意味のある結論を導出するには、適切なデータ解析、統計的手法、解釈が不可欠です。