

初代培養細胞への膜透過性が低い試薬の 細胞内デリバリーとプラスミドデリバリー

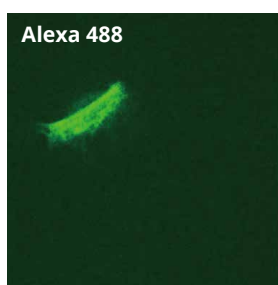
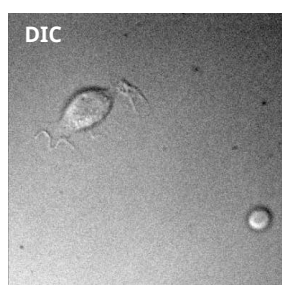
自動ナノデリバリー SU10 & 共焦点スキャナユニット CSU

はじめに

SU10は、先端外径が最小数十nmの“ナノ”ピペットにより、目的物質を1細胞レベルで細胞内（核、細胞質）にデリバリーできます。魚類表皮ケラトサイトは形を一定に保ち速く遊走することから、細胞運動研究によく用いられる細胞です。しかし、継代培養ができず、従来の方法で試薬や遺伝子の導入が難しいという欠点がありました。

本アプリケーションノートでは、SU10によりケラトサイトへ蛍光試薬やプラスミドをデリバリーし、その細胞内動態を共焦点スキャナユニットCSUで観察した事例をご紹介します。

初代培養細胞への膜透過性の低い蛍光試薬の細胞内デリバリー



私達はケラトサイトへの試薬やプラスミドの導入に自作のエレクトロポレータを用いております。接着細胞に導入することができるものの、細胞一つを狙って導入することはできません。SU10では狙った一つの細胞に容易に導入できました。これまでできなかった実験への応用が期待できます。

データご提供：山口大学理学部 岩橋好昭 研究室 沖村 千夏様

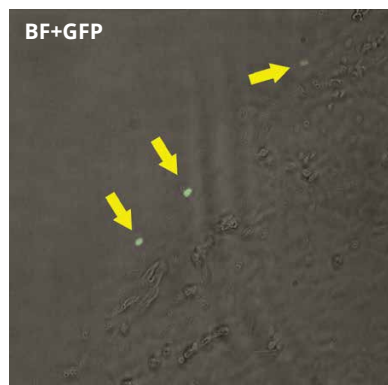
結果と考察

Alexa Fluor 488 Phalloidinは、Fアクチンを選択的に染色する蛍光試薬です。細胞膜を透過しないため、生細胞での染色は細胞内に直接導入する必要があります。ケラトサイトの細胞内にSU10を用いて直接デリバリーすることで、生細胞でのアクチンの動態をCSUで観察することができました。

実験手順

細胞：魚類表皮ケラトサイト
導入物質：Alexa Fluor 488 Phalloidin
対物レンズ：Apo TIRF 100x oil (Nikon)
露光時間：80ms

初代培養細胞へのプラスミドデリバリー



結果と考察

従来法では細胞集団内の特定の細胞だけに試薬やプラスミドを導入することは困難でした。SU10によって細胞集団先頭の狙った細胞だけにGFP-Histone融合タンパク質の発現プラスミドを導入し、デリバリーから1日後にGFP発現を確認できました。

実験手順

細胞：魚類表皮ケラトサイト
導入物質：GFP-Histone融合
タンパク質発現
プラスミド
対物レンズ：Plan Fluor 20x
Ph1 DLL (Nikon)
露光時間：40ms

データご提供：山口大学理学部 岩橋好昭 研究室 沖村 千夏様

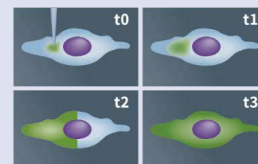
SU10とCSU-W1を組み合わせたソリューション

SU10は、蛍光試薬だけでなく、タンパク質（抗体など）や核酸等もデリバリーすることができます。

SU10とCSU-W1を組み合わせることで、以下の現象をリアルタイムに捉えることが可能です。

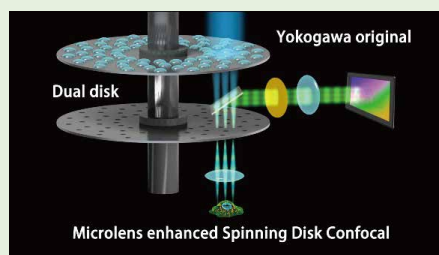
- ◆ デリバリー前後の細胞の変化
- ◆ デリバリー物質の細胞内動態
- ◆ デリバリー物質により引き起こされる生命現象

物質デリバリー直後からの
ライブセルイメージング



高速・低光毒性 共焦点スキャナユニット CSU-W1

- 独自のスキャン方式で生細胞、生体へのダメージを最小限に抑え
速い生命現象も逃さず捉えることが可能
- 光学顕微鏡に取り付けることで、簡単に共焦点顕微鏡にアップグレード
- 超解像ライブセルイメージングへのアップグレードも可能 (CSU-W1 SoRa)



超解像ライブセルイメージング CSU-W1 SoRa/照明均一化オプション Uniformizerとの組み合わせ例



横河電機株式会社

〒180-8750 東京都武蔵野市中町 2-9-32

E-mail : SingleCell@cs.jp.yokogawa.com

URL : <https://www.yokogawa.co.jp/solutions/products-and-services/life-science/single-cellome/>



記載内容は、お断りなく変更することがありますのでご了承ください。
All Rights Reserved. Copyright © 2024, Yokogawa Electric Corporation.

[Ed:02/d]