

# Corning® FluoroBlok™ インサート

よくある質問と回答

CORNING

弊社では従来の紫色のCorning FluoroBlokメンブレンを改良しました。新しいCorning FluoroBlokメンブレンは黒色で遮光性がさらによくなりました。このFAQにあるメンブレンの一般的な情報は新旧いずれのメンブレンにも当てはまりますが、波長に関する記述は新しい黒色メンブレンに該当しません。

詳しくはTechnical Bulletin CLS-DL-CC-042, NewPET Membrane for Corning FluoroBlok 3.0 μm and 8.0 μm Pore Size Cell Culture Insertsをご参照ください。

Corning FluoroBlokインサートは着色した多孔性のpolyethylene terephthalate (PET, ポリエチレンテレフタレート)メンブレンで、400~700nmの可視光を遮光します。Migration (遊走) アッセイは、蛍光色素でラベルした細胞を用いて従来通りの方法で実験を行います。このインサートシステムでは、蛍光プレートリーダーや蛍光倒立顕微鏡でインサートを潜り抜けた蛍光色素でラベルした細胞を特異的に検出したり測定することができます。

Corning FluoroBlokインサートは以下のような様々な研究に使用されています。

- ▶ 好中球<sup>1-5</sup>、経上皮<sup>6</sup>および経内皮<sup>7</sup>の遊走を伴う炎症や血液脳関門<sup>8,9</sup>、樹状細胞<sup>10</sup>、マクロファージ<sup>11</sup>の解析
- ▶ 幹細胞分化経路<sup>12,13</sup>
- ▶ 集団特異的神経細胞遊走促進因子のスクリーニング<sup>14</sup>
- ▶ 正常および形質転換、遺伝子導入細胞の遊走<sup>15,16</sup>
- ▶ ケモインベーションアッセイ、創薬<sup>17</sup>

## Q: Corning FluoroBlokインサートを用いて癌浸潤の実験は出来ますか？

A: はい、様々な癌浸潤用製品をそろえています。

### Corning BioCoat™癌細胞浸潤アッセイシステム 8.0 μm

| Cat. No. | 製品仕様                     | Qty/Cs |
|----------|--------------------------|--------|
| 354165   | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 1      |
| 354166   | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 5      |
| 354167   | インサートプレートおよび96ウェルプレート、フタ | 1      |
| 354168   | インサートプレートおよび96ウェルプレート、フタ | 5      |

さらに詳しい技術情報が必要な方は、ウェブサイト [www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences) をご覧ください。

## Q: Corning FluoroBlokインサートを用いて血管新生の遊走や浸潤実験は出来ますか？

A: はい、血管新生の遊走や浸潤実験用に様々な製品をそろえています。

### Corning BioCoatアンジオジェネシシステム:血管内皮細胞遊走 3.0 μm

| Cat. No. | 製品仕様                     | Qty/Cs |
|----------|--------------------------|--------|
| 354143   | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 1      |
| 354144   | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 5      |
| 351147   | インサートプレートおよび96ウェルプレート、フタ | 1      |
| 351148   | インサートプレートおよび96ウェルプレート、フタ | 5      |

### Corning BioCoatアンジオジェネシシステム:血管内皮細胞浸潤 3.0 μm

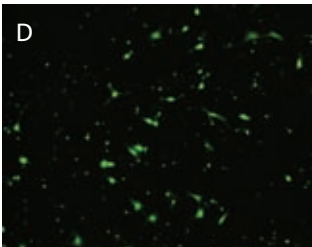
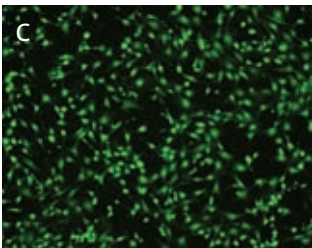
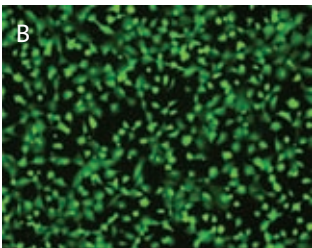
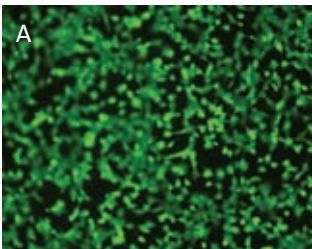
| Cat. No. | 製品仕様                     | Qty/Cs |
|----------|--------------------------|--------|
| 354141   | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 1      |
| 354142   | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 5      |

さらに詳しい技術情報が必要な方は、ウェブサイト [www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences) をご覧ください。

## 癌浸潤システム

### –アッセイモデル

コートなしの8μmポアインサートを通り抜けた遊走 (図A、C) 及びCorning Matrigel®でコートした8μmポアインサートを抜けた浸潤 (図B、D) 後のHT-1080 や3T3細胞をカルセインAMで染色した。HT-1080は遊走も浸潤も可能だった。メタロプロテアーゼ (MMPs) を欠いている3T3細胞は遊走は出来ても浸潤は出来なかった。



## Q: Corning® FluoroBlok™メンブレンには自家蛍光はありますか？

A: Corning FluoroBlokメンブレンは、上方測定での蛍光データによれば400～700nmの可視光波長では無視できるほど低い自家蛍光しか示しません。しかし下方測定モードでは、自家蛍光もしくはプレートのポリスチレンボトムからの反射に由来する低いバックグラウンドがあります。ゲイン設定を必要以上に高くしたり、適切な条件で測定できなかつたりすると、Corning FluoroBlokメンブレンが効果的に遮光できないあるいは高い自家蛍光を示すような誤った印象を受けてしまう恐れがあります。

## Q: 透明なインサートを使用するのに比べて、Corning FluoroBlokインサートにはどのような利点がありますか？

A: Corning FluoroBlokインサートを使用すると、蛍光染色した細胞がメンブレンを通り抜けたのをホモジニアスに検出できます。メンブレンを通り抜けた細胞を特異的に検出するための、細胞の分離や洗浄、回収は不要です。単に細胞を播種し、必要に応じて染色、下方測定モードのプレートリーダーで読み取るだけです。

## Q: Corning FluoroBlokインサートを使ったホモジニアスアッセイは、なぜ好ましいのでしょうか？

A: 遊走、浸潤実験では、細胞を数えるために固定して時間をかけてマニュアルで処理する必要があります。例えば透明なインサートを使用した遊走実験の例では、解析のために細胞をはがして何らかの方法でラベルします。浸潤実験では上に残った細胞を綿棒でふき取り、下に出てきた細胞を数えます。Corning FluoroBlokインサートを使用すれば、蛍光プレートリーダーで希望のウェルの蛍光を計り、蛍光ラベルした細胞を生きたままリアルタイムで測定できます。遊走、浸潤アッセイの面倒なマニュアルでの処理は不要となり、ハイスループットスクリーニングを自動化できます。

## Q: Corning FluoroBlokインサートはどのような働きをしますか？

A: インサートに使用されているメンブレンは、400～700nmの光を遮ります。この波長域に当てはまる励起、蛍光波長の蛍光で細胞をラベルすれば、メンブレンの下側への遊走あるいは浸潤の特異的な測定が可能となります。ウェルを下方から励起すると同時に、メンブレンの下方から発する蛍光を測定します。メンブレンの上にいる細胞は遮光メンブレンで励起や蛍光発光を遮られ、下方の測定には影響を与えません。

## Q: Corning FluoroBlokメンブレンを透かして見ると、不透明ではないようです。穴が見えるのに遮光できるのでしょうか？

A: それはメンブレンのポアを光が通るのを見ていて、正常な状態です。穴が開いていないところは遮光しています。

## Q: Corning FluoroBlokインサートにはどのタイプの蛍光色素が使用可能ですか？

A: 蛍光波長が400～700nmの色素であれば、どの色素でも使用可能です。この波長域外の場合、上部チャンパー内の細胞の干渉が増します。Corning Calcein AM Fluorescent Dye (Cat. Nos. 354216、354217) and Corning DiI C12(3) Fluorescent Dye (Cat. No. 354218)が、細胞のラベルに使用できます。詳しい情報やその他の色素の情報は、ウェブサイト [www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences) をご覧ください。

## Q: Corning FluoroBlokインサートは、どのプレートとも互換性がありますか？

A: いいえ、Corning FluoroBlokインサートシステムは、Falcon®レシーバープレートと適切な組み合わせで使用する必要があります。個別型のインサートは、Falconセルカルチャーインサートコンパニオンプレート (Cat.No.353504、24ウェル) のウェルの正しい位置にセットして使用しなくてはなりません。Corning FluoroBlok 24マルチウェルインサートは、通常のFalcon 24ウェルプレートにセットして使用します。このプレートは、Corning FluoroBlok 24マルチウェルインサートに適合します。Corning FluoroBlok 96マルチウェルインサートは、スクエアウェルレシーバープレートと使用します。信頼性のあるアッセイの結果を得るためには、アッセイ、サンプルのラベリングや測定にこのプレートを使用してください。

## Q: Corning FluoroBlokインサートはコーティングできますか？

A: 希望に応じて、浸潤用のCorning Matrigel®基底膜マトリックスや遊走用のコラーゲン、フィブロネクチンなどCorning ECMタンパクでコーティングが可能です。ノンコートCorning FluoroBlokインサートは、様々なフォーマットやポアサイズが選択できます。

## Corning® FluoroBlok™ 個別型セルカルチャーインサート

| Cat. No.  | 製品仕様                     | Qty/CS |
|---|--------------------------|--------|
| 351151  | 24ウェルプレート用3.0 µm インサート   | 48     |
| 351152  | 24ウェルプレート用8.0 µm インサート   | 48     |
| <b>Corning FluoroBlok 24マルチウェルインサートシステム3.0 µm</b> |                          |        |
| 351155  | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 1      |
| 351156  | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 5      |
| <b>Corning FluoroBlok 24マルチウェルインサートシステム8.0 µm</b> |                          |        |
| 351157  | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 1      |
| 351158  | インサートプレートおよび24ウェルプレート、フタ | 5      |
| <b>Corning FluoroBlok 96マルチウェルインサートシステム3.0 µm</b> |                          |        |
| 351161  | インサートプレートおよび96ウェルプレート、フタ | 1      |
| 351162  | インサートプレートおよび96ウェルプレート、フタ | 5      |
| <b>Corning FluoroBlok 96マルチウェルインサートシステム8.0 µm</b> |                          |        |
| 351163  | インサートプレートおよび96ウェルプレート、フタ | 1      |
| 351164  | インサートプレートおよび96ウェルプレート、フタ | 5      |

アプリケーションに応じたECMやプレコートインサートの選択、Corning FluoroBlokインサートのコーティングでサポートが必要な場合は、03-3586-1268または ScientificSupportJP@corning.comまでご相談ください。

### Q: 色素がメンブレンから溶け出してサンプルにコンタミすることはありますか？

A: Corning FluoroBlokメンブレンおよびインサートシステムは、生理食塩水や10%DMSO添加培地、4%パラホルムアルデヒド、100%メタノールなどのよく使用される溶媒でテスト済みです。

### Q: プレートリーダーの設定を行うときに、一般的な24ウェル、96ウェルプレートのテンプレートは使用できますか？

A: いいえ、Corning FluoroBlok用に検出器を適切に位置設定するのは重要です。プレートリーダーの設定でサポートが必要な場合は、03-3586-1268または ScientificSupportJP@corning.comまでご相談ください。

### Q: Corning FluoroBlokインサートは、リンパ球などの浮遊細胞の遊走、浸潤に使用できますか？

A: はい、インサートは遊走の早い非接着細胞にも使用できます。細胞をラベルしておけば、カイネティックなデータも取れます。参考文献の1~11を参照してください。

### Q: 細胞は遊走、浸潤後に回収できますか？

A: はいできます。接着細胞の場合はトリプシンやCorning ディスパーゼ (Cat. No. 354235)、Corning セルリカバリーソリューション(Cat. No. 354253)、Accutase®、その他酵素などが使用できます。

## References

1. Nick JA, et al. Recombinant human activated protein C reduces human endotoxin-induced pulmonary inflammation via inhibition of neutrophil chemotaxis *Blood* 104(13):3878 (2004).
2. Kuijpers TW, et al. Apoptotic neutrophils in the circulation of patients with glycogen storage disease type 1b (GSD1b) *Blood* 101(12):5021 (2003).
3. Kuijpers TW, et al. Neutrophils in Barth syndrome (BTHS) avidly bind annexin-V in the absence of apoptosis *Blood* 103(10):3915 (2004).
4. Slofstra SH, et al. Inhalation of activated protein C inhibits endotoxin-induced pulmonary inflammation in mice independent of neutrophil recruitment *Br J Pharmacol.* 149(6):740 (2006).
5. Stegenga ME, et al. Effect of acute hyperglycaemia and/or hyperinsulinaemia on proinflammatory gene expression, cytokine production and neutrophil function in humans *Diabet Med.* 25(2):157 (2008).
6. Lin Ada, et al. Streptolysin S Inhibits Neutrophil Recruitment during the Early Stages of *Streptococcus pyogenes* Infection and Immunity 77(11):5190 (2009).
7. Johnson Louise A, et al. An inflammation-induced mechanism for leukocyte transmigration across lymphatic vessel endothelium *JEM* 203(12):2763 (2006).

8. Chaudhuri Anathbandhu, STAT1 signaling modulates HIV-1-induced inflammatory responses and leukocyte transmigration across the blood-brain barrier *Blood* 111(4):2062 (2008).
9. Chaudhuri Anathbandhu, 1 HIV-1 activates proinflammatory and interferon-inducible genes in human brain microvascular endothelial cells: putative mechanisms of blood–brain barrier dysfunction *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 28:697 (2008).
10. Lapteva Natalia, et al. Attraction and Activation of Dendritic Cells at the Site of Tumor Elicits Potent Antitumor Immunity *Molecular Therapy* 17(9):1626 (2009).
11. Link Tiffany M, et al. TRPV2 has a pivotal role in macrophage particle binding and phagocytosis *Nature Immunology* 11:232 (2010).
12. Brown MD, et al. Influence of omega-6 PUFA arachidonic acid and bone marrow adipocytes on metastatic spread from prostate cancer *British Journal of Cancer* 102:403 (2010).
13. De Becker Ann, et al. Migration of culture-expanded human mesenchymal stem cells through bone marrow endothelium is regulated by matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 *Haematologica* 92(4):440 (2007).
14. Hassoun Amani T, et al. A rapid screening method for population-specific neuronal motogens, substrates and associated signaling pathways *Journal of Neuroscience Methods* 166:178 (2007).
15. Bernhagen Jürgen, et al. MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment *Nature Medicine* 13:587 (2007).
16. Vitari Alberto C, et al. COP1 is a tumour suppressor that causes degradation of ETS transcription factors *Nature* Published online 15 May 2011.
17. Albin A, Noonan DM. The “chemoinvasion” assay, 25 years and still going strong: the use of reconstituted basement membranes to study cell invasion and angiogenesis. *Curr Opin Cell Biol.* 22(5):677-89 (2010).

- 価格は 2016 年 10 月現在のものです。価格は税抜き価格で記載しております。
- 商品の外観・仕様は予告無しに変更することがあります。予めご了承下さい。
- **保証・免責事項**：特に記載がない限り、記載中の製品は研究用機材および試薬です。診断、または治療用途には使用しないでください。  
コーニングライフサイエンスは本製品の臨床又は診断用途でのいかなるパフォーマンスについても保証しません。

**CORNING** | **FALCON**® **AXYGEN**® **PYREX**® **GOSSSELIN**™

For a listing of trademarks, visit [www.corning.com/clstrademarks](http://www.corning.com/clstrademarks).  
All other trademarks are the property of their respective owners.

総販売元

コーニングインターナショナル株式会社  
ライフサイエンス事業部

〒107-0052 東京都港区赤坂1-11-44 赤坂インターシティA階  
Tel:03-3586-1996 Fax:03-3586-1291

[www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences)  
[CLSJP@corning.com](mailto:CLSJP@corning.com)

技術サポート  
Tel:03-3586-1268  
[ScientificSupportJP@corning.com](mailto:ScientificSupportJP@corning.com)

CLS-117-00  
R0-1610-000-T