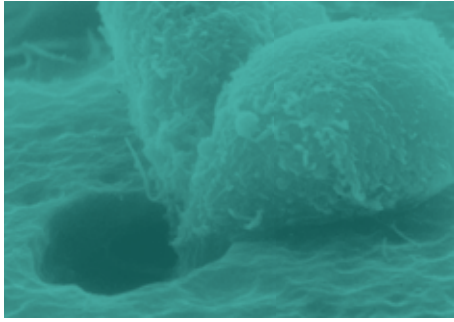
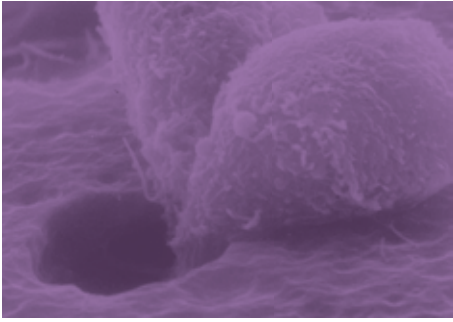
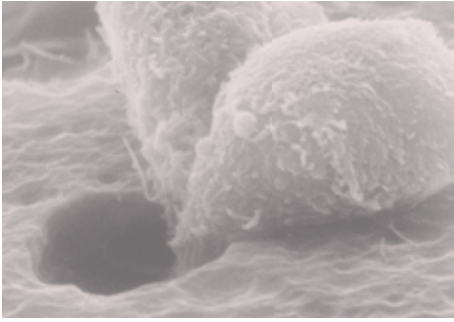
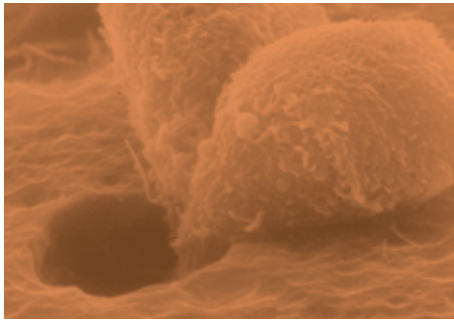
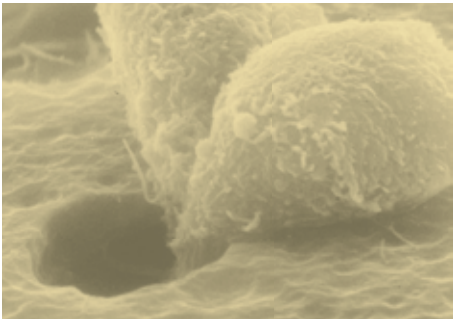
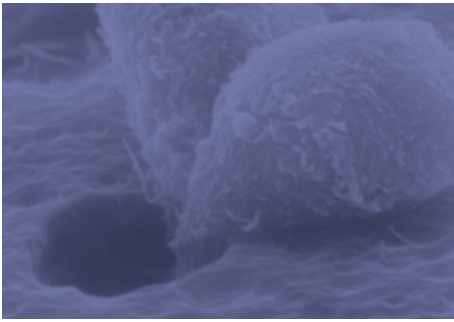
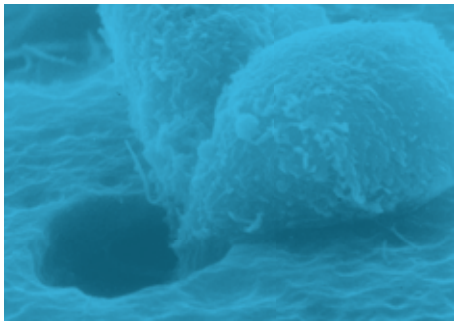
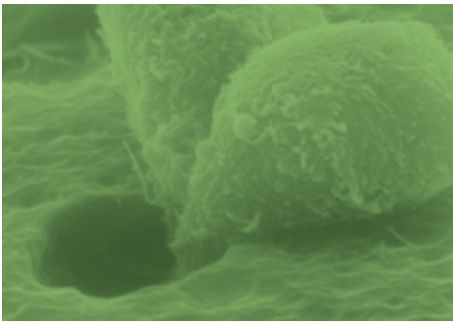
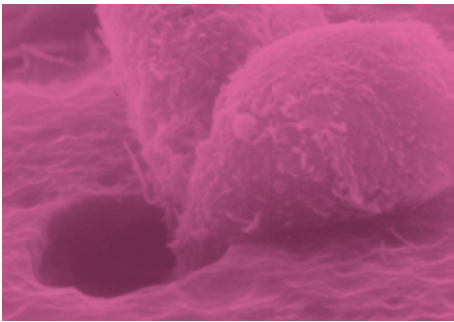
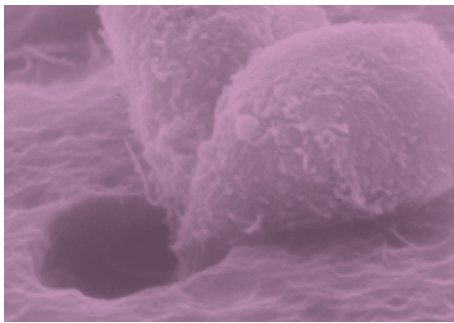
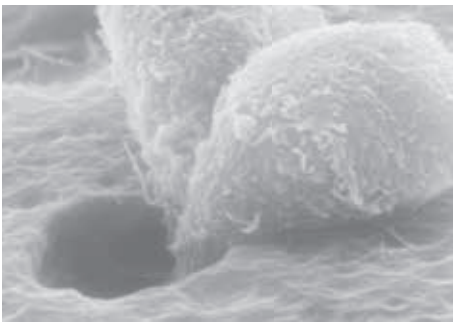
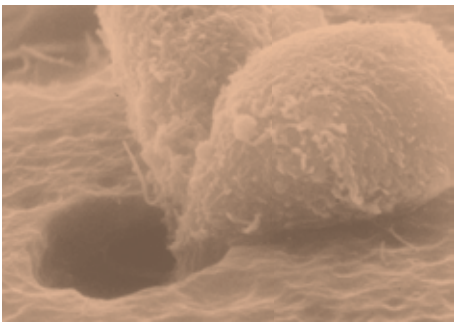


# Corning® FluoroBlok™ 技術資料



# Corning® フルオロブロックインサート

微細なポア（穴）が空いたメンブレンを利用した細胞培養用容器です。ポアを通して培地成分が細胞にアクセスできるため、細胞が上下方向から培地の影響を受ける *in vivo* を模した培養が可能となります。ポリエチレンテレフタレート（polyethylene terephthalate : PET）素材のメンブレンは、親水性処理が施されているので、細胞が接着できます。細胞外基質をコーティングした Corning BioCoat™ シリーズもラインナップされています。

その中でも遮光性の Corning フルオロブロックインサートは、細胞の浸潤、遊走を中心とした細胞アッセイに利用されています。Corning フルオロブロックメンブレンは、400 - 700 nm の光の透過を効果的に遮断する遮光タイプの PET メンブレンで作られています。このメンブレンにより、インサートの上部チャンバーに培養されている標識した細胞や化合物からの蛍光は、下方励起下方測光型蛍光プレートリーダーでは検出されません。蛍光標識した細胞や化合物がメンブレンを通過し、下部チャンバーに移動すると、光源からの光が当たり、蛍光プレートリーダーで検出されます。

351152

## Corning フルオロブロック 個別型セルカルチャーインサート



24 ウェル  
8 ミクロンポア  
遮光性メンブレンを  
利用し、生きた細胞の  
リアルタイムでの観察が  
可能になります

351151

## Corning フルオロブロック 個別型セルカルチャーインサート



24 ウェル  
3 ミクロンポア

351156

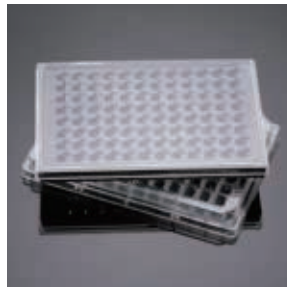
## Corning フルオロブロック 24 マルチウェルインサートシステム



8 ミクロンポア

351161

## Corning フルオロブロック 96 マルチウェルインサートシステム



3 ミクロンポア

## 特長と利点

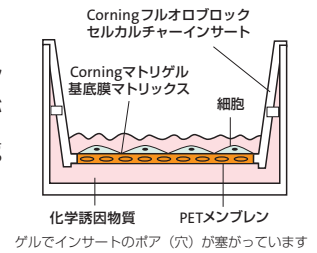
- ▶ 遮断波長領域が 400 ~ 700nm と広いので、様々な蛍光色素を選択できます
- ▶ 遮光性の Corning フルオロブロック メンブレンを使用すると、生きた細胞のリアルタイムでの蛍光アッセイが可能です
- ▶ 24 ウェル個別型、24 ウェル、96 ウェル HTS マルチウェルインサートシステムから選択できます
- ▶ 3 ミクロン、8 ミクロンのポアサイズは細胞がポアを通り抜けることができ、遊走や浸潤の実験に適しています
- ▶ 細胞の走化性、細胞遊走、癌細胞や細菌の浸潤、白血球の血管外遊走などの実験に使用できます
- ▶ HTS マルチウェルインサートシステムは、自動化により処理能力と生産性の向上が可能です
- ▶ HTS マルチウェルインサートシステムは、大量のサンプルを評価する創薬スクリーニングに適しています

# 主なアプリケーション

## 浸潤実験と遊走実験

### 浸潤実験

セルカルチャーインサートにコーティングされた Corning® マトリゲル基底膜マトリックスの層は、非浸潤細胞にとっては、機能的なバリアとなります。Corning マトリゲル基底膜マトリックスのコーティングによってメンブレンのポアは塞がれ、非浸潤細胞がメンブレンを遊走するのを妨げます。その一方で、浸潤能力を持つ細胞は、Corning マトリゲル基底膜マトリックスをコートしたメンブレンに接着し、Corning マトリゲル基底膜マトリックスを消化後、メンブレンの下側に遊走することができます。



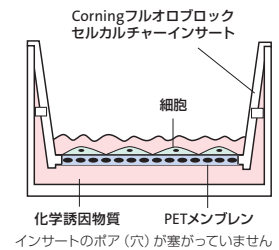
### Corning マトリゲル基底膜マトリックス

Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、タンパク質を豊富に産生する Engelbreth-Holm-Swarm(EHS) マウス肉腫から抽出した可溶性基底膜調製品です。主成分は、ラミニン、コラーゲン IV、エンタクチン、およびヘパラン硫酸プロテオグリカンです。これには TGF-β、線維芽細胞増殖因子、組織プラスミノゲン活性化因子、EHS 腫瘍に自然に産生される他の増殖因子も含まれます。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは室温において重合して哺乳類の細胞基底膜と似た生物活性のあるマトリックスとなります。

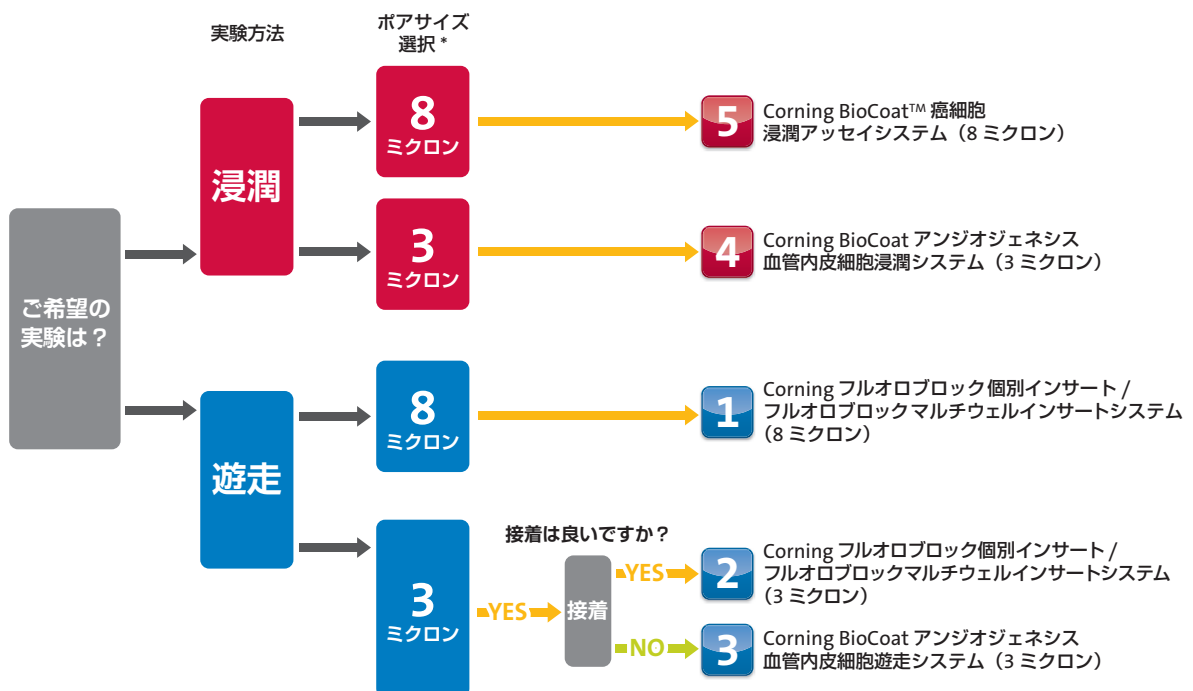
マトリゲル成分	組成比率
ラミニン	56%
コラーゲン IV	31%
エンタクチン	8%

### 遊走実験

メンブレンのポアはコーティングにより塞がれていません。細胞はメンブレンに付着し、プレート下部のチャンバーに添加されている誘引物質（血清など）に向かって、メンブレンのポアを自由に遊走することができます。



## 製品選択チャート



\*ポアサイズ選択の目安  
 繊維芽細胞など大きめの細胞：8ミクロン | 血管内皮細胞など小さめの細胞：3ミクロン （どちらか迷った時は、まず8ミクロンをお試しください）

1

2

# Corning® フルオロブロックインサート

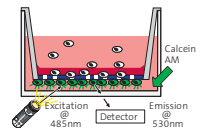
Corning フルオロブロックインサートは、400 - 700 nm の光の透過を効果的に遮断する完全遮光タイプの PET メンブレンで作られています。このメンブレンにより、インサートの上部チャンバーに培養されている標識した細胞や化合物からの蛍光は、下方励起下方測光型蛍光プレートリーダーでは検出されません。蛍光標識した細胞や化合物がメンブレンを通過し、下部チャンバーに移動すると、光源からの光が当たり、蛍光プレートリーダーで検出されます。

## Corning フルオロブロック 個別型セルカルチャーインサート

### 24 ウェルプレート用

カタログ番号		入数 (包装)	入数 (ケース)	単価 (円)	ケース単価 (円)
351151	ポアサイズ 3.0 μm	1	48	625	30,000
351152	ポアサイズ 8.0 μm	1	48	625	30,000
353504	24 ウェルインサート用 セルカルチャーインサート コンパニオンプレート	1	50	612	30,600

※個別型セルカルチャーインサートには、専用のコンパニオンプレートを別途ご購入いただく必要があります。



## Corning フルオロブロック 24 マルチウェル インサートシステム

### 24 ウェルプレートおよびフタ付き

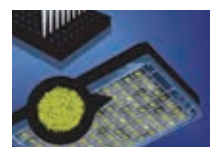
カタログ番号		入数 (包装)	単価 (円)	ケース単価 (円)
351155	ポアサイズ 3.0 μm	1	20,500	20,500
351156	ポアサイズ 3.0 μm	5	17,940	89,700
351157	ポアサイズ 8.0 μm	1	20,500	20,500
351158	ポアサイズ 8.0 μm	5	17,940	89,700



## Corning フルオロブロック 96 マルチウェル インサートシステム

### 96 スクエアウェル平底プレートおよびフタ付き

カタログ番号		入数 (包装)	単価 (円)	ケース単価 (円)
351161	ポアサイズ 3.0 μm	1	54,500	54,500
351162	ポアサイズ 3.0 μm	5	52,240	261,200
351163	ポアサイズ 8.0 μm	1	54,500	54,500
351164	ポアサイズ 8.0 μm	5	52,240	261,200



## 特長と利点

遮光性 PET メンブレン

• 波長 400 - 700 nm の光をブロック / 親水性処理済み

2 種類のポアサイズ  
(3 ミクロン、8 ミクロン)

• 細胞を生きたまま染色し、簡便・迅速な測定が可能  
• メンブレンを通過して下部チャンバーに移動した細胞を蛍光標識し、下方から光を当てて、蛍光プレートリーダーで検出

24 個別、24、96 ウェルフォーマット  
に対応

• 固定の手間が要らず、時間と手間がかかりません  
• 細胞の走化性、細胞遊走、癌細胞の浸潤や遊走に有用

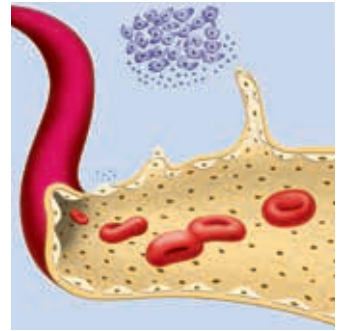


3

4

# Corning® BioCoat™ アンジオジェネシスシステム

HUVEC などの血管内皮細胞の遊走や浸潤を評価するためのシステムです。蛍光をブロックするフルオロブロック メンブレン (3 ミクロンポアサイズ) と Falcon® 24 マルチウェル インサートプレート (フタ付きノントリートメント 24 ウェル レシーバープレート) から構成されています。



遊走実験用

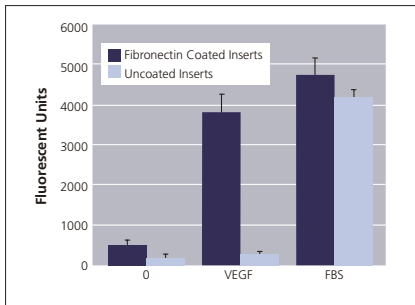
ヒト フィブロネクチンをコーティングしたメンブレンのポアは塞がれておらず、血管内皮細胞はプレート下部のチャンパーに添加されている血管新生促進物に向かって、メンブレンのポアを自由に遊走することができます。

## Corning BioCoat アンジオジェネシス：血管内皮細胞遊走アッセイシステム

カタログ番号	ウェル数	インサートシステム	入数 (包装)	単価 (円)	ケース単価 (円)
354143	24 マルチウェル	インサートシステム	1	53,400	53,400
354144	24 マルチウェル	インサートシステム	5	48,840	244,200
354147	96 マルチウェル	インサートシステム	1	75,800	75,800
354148	96 マルチウェル	インサートシステム	5	69,220	346,100

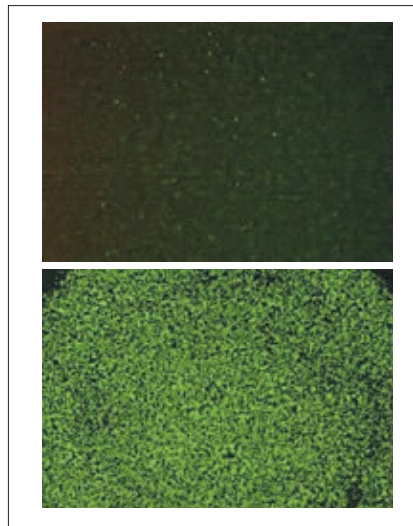


ヒトフィブロネクチンをコーティングしたインサートとコーティングしていないインサートの比較



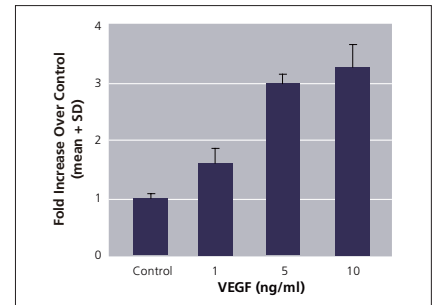
Corning BioCoat アンジオジェネシスシステム：血管内皮細胞遊走、およびコーティングされていない Corning フルオロブロックインサート (カタログ番号：351155) を含む 24 ウェル マルチウェルプレート (化学誘引物質としてFBS 5%、VEGF 10 ng/mL を使用) を用いて HUVEC の遊走能を比較評価した。22±1 時間、細胞を遊走させた。遊走後に細胞を Calcein AM (4 ng/mL) で標識し、その蛍光を検出した。その結果、フィブロネクチンをコーティングしたインサートを使用した場合、VEGF 誘導に対して細胞の遊走能に顕著な上昇が見られた。データは、平均値±S.D. (n = 3) を表している。

遊走後の HUVEC はメンブレン底部に接着している



Calcein AM で標識した HUVEC の遊走能を Corning BioCoat アンジオジェネシスシステム：血管内皮細胞遊走を用いて評価した。HUVECを誘引物質 (VEGF) の存在下 (下)、非存在下 (上) にで一晩インキュベートした。写真はインサートメンブレン底部からの蛍光シグナルを示している。

VEGF 濃度依存的に誘引される HUVEC-2 の遊走

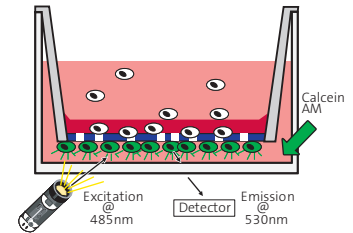


Corning HUVEC-2 細胞の VEGF 濃度依存的に誘引される遊走能を Corning BioCoat アンジオジェネシスシステム：血管内皮細胞遊走 (96 マルチウェル フォーマット) を用いて評価した。細胞は、22 時間遊走させた。フィブロネクチンがコートされた Corning フルオロブロックメンブレンを通過した細胞を CalceinAM で標識し、その蛍光を検出した。蛍光検出には EnVision™ プレートリーダー (Perkin Elmer) を用いて励起波長485nm で測定した。データは、平均値±S.D. (n = 4) を表している。

Corning® マトリゲル基底膜マトリックスをコートしたメンブレンのポアは塞がれており、細胞がマトリゲル成分を分解しながら下方へ移動します。

**Corning BioCoat™ アンジオジェネシス：  
血管内皮細胞浸潤アッセイシステム**

カタログ番号	入数 (包装)	単価 (円)	ケース単価 (円)
354141	24 マルチウェル インサートシステム	1	55,600
354142	24 マルチウェル インサートシステム	5	252,000



蛍光プレートリーダーによる浸潤細胞の測定

血管新生の際に、血管内皮細胞は活性化され、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) を発現し、毛細血管の基底膜を分解して、血管新生誘導物質のほうへと遊走します。Corning 基底膜マトリックスをコーティングしたフルオロブロックマルチウェル インサートプレートは、コーティングによりメンブレンのポアが塞がれ、*in vivo* の基底膜と同様な機能的バリアとなります。非浸潤細胞は移動を阻止され、浸潤能力のある活性化された血管内皮細胞は移動できます (図 1)。VEGF に対する HMVEC の浸潤を行いました。培地に TIMP-2 および 1'10' Phenanthroline を添加し、細胞の浸潤が濃度依存的に阻害されることが観察されました (図 2)。

蛍光プレートリーダーによる浸潤細胞の測定

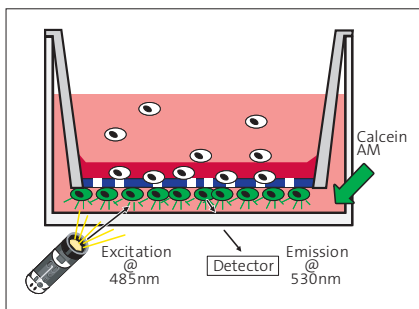


図1. 蛍光プレートリーダーで、浸潤後の細胞数に応じた蛍光量を測定。Corning フルオロブロックメンブレン上の細胞は下方読み取り型蛍光リーダーによって検出できない。

VEGF による HMVEC 細胞の浸潤に対する TIMP-2 および 1'10' Phenanthroline の影響

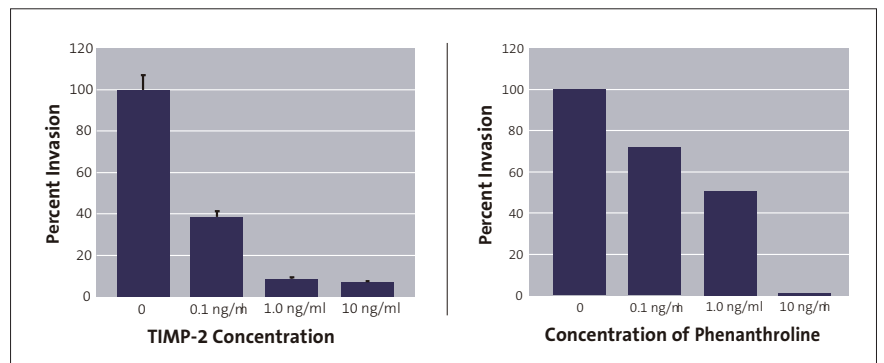


図2. Corning BioCoat アンジオジェネシスシステム：血管内皮細胞浸潤を用いて、VEGF (4 ng/mL) 存在下で、異なる濃度の (左) TIMP-2 または (右) 1'10' フェナントロリンを入れて、HMVEC の浸潤を評価。細胞は、22±1 時間浸潤させた。Corning マトリゲル基底膜マトリックスを通過して浸潤した細胞はCalcein AM (4 µg/mL) で標識し、その蛍光を検出した。蛍光検出 Applied Biosystems の Cytofluor®4000 プレートリーダーを用いて励起波長485 nm、蛍光測定波長530 nmで測定した。データは、平均値±S.D. (n = 3) を表している。

浸潤または遊走した細胞を、固定することなく蛍光ラベルし、定量的に蛍光プレートリーダーで測定できます。細胞は、実験前、または実験後に蛍光色素でラベルすることが可能です。プレラベリング法は、エンドポイントでの手間がいらす、血管新生促進をもたらす過程をリアルタイムに測定することができます。またポストラベリング法は、VEGF や bFGF のような血管新生因子の濃度依存的な遊走反応を測定することができます。

**特長と利点**

最適化されたシステム

- 確実な再現性と利便性を得るために標準化されたアッセイを提供します

蛍光遮光メンブレンにより簡便な解析が可能

- 細胞遊走、浸潤を解析するための独自の定量方法です
- 再現性があり、簡便なアッセイが可能です
- 手作業による細胞の除去や細胞計数を必要としません
- ハンドリングの操作が少ないのでコンタミネーションの危険を軽減します

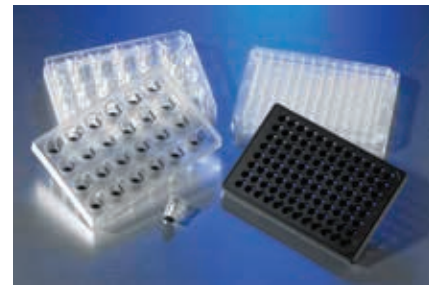
自動化対応済み

- 処理能力と生産性の向上が可能です
- ほとんどのロボット、液体ハンドリングシステムに対応しています

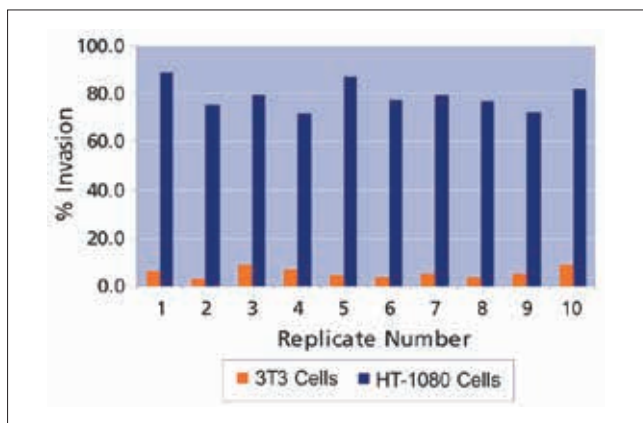
# 5 Corning® BioCoat™ 癌細胞浸潤アッセイシステム

## Corning BioCoat フルオロブロック ガン細胞浸潤アッセイシステム (8 ミクロンポア)

カタログ番号		入数 (ケース)	単価 (円)	ケース単価 (円)
354165	インサートおよび 24 ウェルプレート フタ付き	1	55,600	55,600
354166	インサートおよび 24 ウェルプレート フタ付き	5	50,400	252,000
354167	インサートおよび 96 ウェルプレート フタ付き	1	75,800	75,800
354168	インサートおよび 96 ウェルプレート フタ付き	5	69,220	346,100



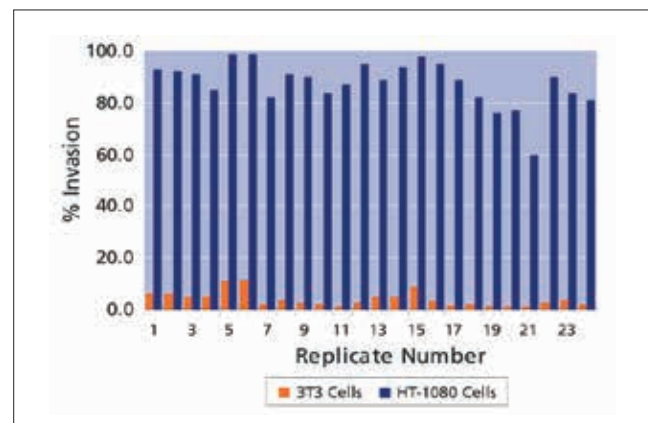
### 24 ウェル



#### 平均浸潤率の比較

Corning BioCoat 24マルチウェル癌細胞浸潤アッセイシステムの複数ロットでアッセイを行った。浸潤後にメンブレンの下方に存在する蛍光ラベルした細胞をCytoFluor® プレートリーダーで測定した。NIH-3T3とHT-1080の浸潤率を比較した。細胞は浸潤後にカルセインAMで染色を行った。

### 96 ウェル



#### 平均浸潤率の比較

Corning BioCoat 96マルチウェル癌細胞浸潤アッセイシステムの複数ロットでアッセイを行った。浸潤後にメンブレンの下方に存在する蛍光ラベルした細胞をEnVision™ プレートリーダーで測定した。NIH-3T3とHT-1080の浸潤率を比較した。細胞は浸潤後にカルセインAMで染色を行った。

## 浸潤・遊走関連製品 比較一覧表

製品名	メンブレン	ポアサイズ	ウェルサイズ	コート	観察方法	ページ
Corning フルオロブロック インサート (個別型)	フルオロブロック	3 μm 8 μm	24	なし	プレートリーダー/ イメージングシステム	4
Corning フルオロブロック マルチウェルインサートシステム	フルオロブロック	3 μm 8 μm	24/96	なし	プレートリーダー/ イメージングシステム	4
Corning BioCoat アンジオジェネシスシステム 遊走	フルオロブロック	3 μm	24/96	フィブロネクチン	プレートリーダー/ イメージングシステム	5
Corning BioCoat アンジオジェネシスシステム 浸潤	フルオロブロック	3 μm	24	マトリゲル	プレートリーダー/ イメージングシステム	6
Corning BioCoat 癌細胞浸潤アッセイシステム	フルオロブロック	8 μm	24/96	マトリゲル	プレートリーダー/ イメージングシステム	7

## その他技術資料

下記資料は、Corning ライフサイエンス → リソース → 製品に関する FAQ → Corning FluoroBlok インサート FAQ よりご覧いただけます。(http://www.corning.com/jp/jp/products/life-sciences/resources/product-faqs/fluoroblok-faq.html)

### 【FAQ】

- ▶ Corning® FluoroBlok™ インサート よくある質問と回答 (CLS-117-00)
- ▶ Corning BioCoat™ アンジオジェネシス：血管内皮細胞遊走アッセイシステム よくある質問と回答 (CLS-138-00)
- ▶ Corning BioCoat 癌浸潤アッセイシステム よくある質問と回答 (CLS-119-00)

### 【製品技術情報】

- ▶ Set Up Guidelines and Dimensional Templates for Fluorescence Plate readers used with Corning FluoroBlok Insert Systems and Corning BioCoat Multiwell Insert Cell-Based Assays /Technical Bulletin #436 (CLS-DL-CC-074)  
フルオロブロックインサートを用いたアッセイでの、蛍光検出のためのプレートリーダー設定についてまとめたものです。
- ▶ The Corning FluoroBlok 96-Multiwell System Enhances High-Throughput Analysis of Cell-Based Assays /Technical Bulletin #450 (CLS-DL-CC-035)  
96 ウェルフォーマットのフルオロブロックインサートを用いた細胞遊走の結果について詳細に検討しました。  
検討項目はインサート上部とプレート底面のクロストーク、播種細胞数の違いによる蛍光強度の時間変化、  
蛍光染色剤の違いによる遊走への影響、CV 値などです。
- ▶ Compatible Fluorophores and Dyes for Corning FluoroBlok Inserts and Insert System /Technical Bulletin #451 (CLS-DL-CC-077 REV01)  
フルオロブロックに適した各蛍光色素の特長と、細胞のラベリング方法について書かれています。
- ▶ Optimized Chemotaxis Conditions for Primary Blood monocytes or THP-1 Cells Using Corning FluoroBlok 96-Multiwell Insert Plates /Technical Bulletin #457 (CLS-DL-CC-078)  
BioCoat アンジオジェネシス：血管内皮細胞遊走アッセイシステムを用いて、ヒトのプライマリー単核球細胞株である THP-1 で経時的な遊走実験の条件検討や比較を行っています。
- ▶ New PET Membrane for Corning FluoroBlok 3.0µm and 8.0µm Pore Size Cell Culture Inserts /Technical Bulletin #497 (CLS-DL-CC-042 REV1)  
変更したメンブレンの情報です。メンブレンの仕様、遮光効率、細胞の遊走浸潤について新旧のメンブレンで検証した結果です。

### 【アプリケーションノート】

- ▶ 蛍光顕微鏡を用いた Corning BioCoat アンジオジェネシス：血管内皮細胞遊走アッセイシステム (CLS-030-00)  
Corning BioCoat アンジオジェネシス：血管内皮細胞遊走アッセイシステムを用いて、ボイデンチャンバーによる血管内皮細胞の遊走能を定量化する方法を紹介しています。
- ▶ リアルタイム細胞観察システム CCM (株式会社アステック) を用いた Corning フルオロブロックセルカルチャーインサートでの細胞遊走性評価 (CLS-019-00)  
Corning FluoroBlok セルカルチャーインサートを使用し、蛍光染色した細胞の遊走をリアルタイム細胞観察システム CCM (株式会社アステック) を用いてその遊走能を評価する方法を紹介しています。
- ▶ Automated, Kinetic Imaging of Cell Migration and Invasion Assays using Corning FluoroBlok Inserts (CLS-DL-AC-AN-310)  
FluoroBlok インサートを使用した細胞の遊走と浸潤を、Citation™ 3 細胞イメージングマルチモードリーダーと、Gen5™ データ解析ソフトを使用して、その経時的な変化をオートメーションで解析しています。
- ▶ Migration of Human Mesenchymal Stem Cells using Corning FluoroBlok Cell Culture Inserts /Application note#484 (CLS-DL-CC-054 REV1)  
間葉系幹細胞の、成長因子やケモカインのシグナルに対する応答を、Corning FluoroBlok インサートシステムを使って検証しています。

### 【参考文献集】

- ▶ Corning BioCoat フルオロブロック 癌細胞浸潤アッセイシステム (CLS-021-00)

・価格は 2017 年 9 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。予めご了承ください。  
・For a listing of trademarks, visit us at [www.corning.com/lifesciences/trademarks](http://www.corning.com/lifesciences/trademarks)  
・All other trademarks in this document are the property of their respective owners.  
・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。また人体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また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®

GOSSELIN™

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7階  
Tel : 03-3586-1996 Fax : 03-3586-1291  
[www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences)  
CLSJP@corning.com

技術サポートへのお問い合わせは  
Tel : 03-3586-1268  
ScientificSupportJP@corning.com

© 2017 Corning Incorporated  
CLS-142-00  
RO-1709-0001-590-B