

Corning® PuraMatrix™ ペプチドハイドロゲル

よくある質問と回答

CORNING

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲル (カタログ番号: 354250) は、様々な細胞培養に対し、3D のミクロ環境を提供する合成マトリックスです。細胞の増殖や分化を最適化するためには、本製品と生理活性分子 (例、成長因子、細胞外基質 [ECM] タンパク質や他の分子) と大切な混合比を決定することが不可欠です。Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルは、標準アミノ酸 (1% w/v) と 99% の水から構成されています。学的条件下におくと、ペプチドが自己重合し、ナノメートル単位の線維構造を持った 3D ハイドロゲルを形成します (図 1)。このハイドロゲルは、Falcon® セルカルチャーディッシュ、プレート、またはインサート上で簡単に形成することができます。

細胞培養

この製品にはどのような細胞の種類 / 用途が適していますか？

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルは、肝前駆体細胞¹、ラット褐色細胞腫 (PC12)²、海馬神経³、および内皮細胞⁴ などの分化を促すことが知られています。また、様々な初代培養細胞 (例: 神経細胞、線維芽細胞、角化細胞) および形質転換細胞 (例: MG-63、SH-SY5Y、HEK293、NIH3T3) との接着を促すことも示されています^{5, 6}。さらに、幹細胞増殖、腫瘍細胞の転移や浸潤、血管新生、組織再生の *in vivo* 研究などにも応用が期待できます。

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルは、たんぱく質や成長因子などを添加しなくても、細胞増殖や分化を促進しますか？

細胞の増殖や分化の最適化を図るためには、Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルと生理活性因子 (例、成長因子、細胞外基質 [ECM] タンパク質や他の分子) との適切な混合比を決めることが必要です。

細胞はハイドロゲル上で培養した方がいいですか (平面培養)、それともゲル中で培養するのですか (3D 包埋培養) ？

どちらの方法も可能です。平面培養の最適条件は、細胞株の種類や実験の目的によって異なります。どちらも具体的な使用例や推奨方法については、ユーザーガイドを参照ください。

平面培養法を用いて細胞をハイドロゲル表面に播種した場合、細胞はゲル内部に移動することができますか？

本ハイドロゲルは線維構造を持ち、柔軟性に優れているので (非共有結合)、細胞はゲル内部に入ってゆく場合があります。移動する能力に関しては、細胞の種類によって異なります。

播種する際に適切な細胞密度はありますか？

標準的な細胞培養表面 (TC) 処理または ECM コーティングの器材を用いた平面培養と同程度の細胞密度をお勧めします。また、3D 包埋培養に対しては、 $0.5 \sim 1.0 \times 10^6$ cells/ml の密度が推奨されます。

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルで細胞はどのくらいの期間生存できますか？

培養の継続期間は、細胞の種類および培養条件によって異なります。例えば、3D 包埋培養で 6 週間生存する場合や、平面培養で 1 ~ 2 週間生存する場合があります。

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルから回収された細胞を継代培養することはできますか？

できます。ハイドロゲルから細胞を回収し、新たな Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲル、または別の増殖基質 (例: TC 処理、ECM コーティング) に継代培養し、新たに成長 / 分化させることは可能です。細胞回収のプロトコルについては、ユーザーズガイドをご参照ください。

参考文献

1. Semino, C.E., et al., Functional differentiation of hepatocyte-like spheroid structures from putative liver progenitor cells in three dimensional peptide scaffolds. *Differentiation* **71**:262 (2003).
2. Holmes, T.C., et al., Extensiveness of neurite outgrowth and active synapse formation on self-assembling peptide scaffolds. *PNAS USA* **97**:6728 (2000).
3. Semino, C.E., et al., Entrapment of migrating hippocampal neural cells in 3D peptide nanofiber scaffold. *Tissue Engineering* **10**:643 (2004).
4. Narmoneva, D., et al., Self-assembling short oligopeptides and the promotion of angiogenesis. *Biomaterials* **26**:4837 (2005).
5. Zhang, S., et al., Self-complementary oligopeptide matrices support mammalian cell attachment. *Biomaterials* **16**:1385 (1995).
6. Thonhoff, J.R., et al., Compatibility of human fetal neural stem cells with hydrogel biomaterials *in vitro*. *Brain Research* **1187**:42. (2008).

材料の調整と操作

細胞と材料を混ぜてゲル化させる際に、なぜ迅速な操作が必要なのですか？

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲル保存溶液 (1% w/v) の pH は 2 ~ 4 であり、細胞の生存率に影響を与えることがあります。したがって、細胞がこの液体にさらされる時間を最小限にとどめるためにも、培地を加えるまでの操作を手早く行う必要があります。手順としては、最初の 30 分間で培地を 3 回交換し、サンプルの pH を生理学的 pH に近い値にします。

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルの構造的強度はどうなっていますか？

通常の使用濃度 (0.5% w/v) では、ハイドロゲルはやわらかい線維上の網目構造を形成し、構造的にはそれほど強くありません。したがって、培地交換は特に慎重に行う必要があります (ピペットや吸引管の先がハイドロゲルに直接あたらないように注意してください)。ただし、この 0.5% ハイドロゲルは、多くの細胞の接着や増殖を促進することがわかっています。ハイドロゲルの構造的強度を増加させるためには、希釈せずに (1% w/v) で使用ください。

細胞、生理活性分子、培地などと混合した時にできる気泡を取り除くにはどうしたらいいですか？

超音波浴槽の中で 30 分間処理するか、あるいは遠心分離によって気泡を取り除くことができます (例: 卓上型遠心分離器を使い、5K RPM で 2 ~ 5 分間、遠心します)。1.5 ml のエッペンドルフチューブでの少量サンプルの場合は、マイクロ遠心器で 10 ~ 15 秒間、フル回転させます。

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルは動物の *in vivo* 実験に使用できますか？

はい、できます。本溶液を動物の体内に注入して生理学的環境に接すると、3D ハイドロゲルを形成します。また大小の注射針やカテーテルを使って扱えるので、操作も簡単です。ただし、20G 以下の注射針をしようする際は、体内に気泡が入らないように充分注意してください。

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルのペプチド配列は RGD と似ているので、細胞が RGD 依存性のインテグリン受容体と結合することはありますか？

いいえ、ありません。本ペプチド配列は細胞接着を促進しますが、RGD 依存性のインテグリンのシグナル伝達には影響しません。また、これまでの研究によると細胞接着が RGD ペプチドによって阻害されることもありません⁵。

解析研究

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルは、共焦点顕微鏡による解析に使用できますか？

はい、できます。本製品は透明なゲルを形成するので、共焦点顕微鏡による解析に対してもすぐれた解像度を提供します。

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルで培養された細胞を使い、タンパク質や核酸の分子生物学的解析を行うことはできますか？

はい、できます。本製品で培養された細胞は、ほとんどの分子生物学研究に用いることができます。まずゲルを破壊して細胞を取り出した後、遠心分離によって分離し、その後は標準的な手順に従って調整が可能です。

Corning PuraMatrix ペプチドハイドロゲルは、免疫蛍光染色法にも利用できますか？

はい、できます。本製品で培養した細胞は、通常の方法を用いて、蛍光色素や免疫学的試薬で染色することができます。

PuraMatrix™ は 3DM Inc. の商標です。
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。

Corning acquired the Discovery Labware Business including the BioCoat™, FluoroBlok™, and Matrigel® brands. For information, visit www.corning.com/discoverylabware.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures. Not for resale.

For a listing of trademarks, visit us at www.corning.com/lifesciences/trademarks.

All other trademarks are property of their respective owners.

Corning Incorporated, One Riverfront Plaza, Corning, NY 14831-0001

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
CLSJP@corning.com

© 2012, 2013 Corning Incorporated
CLS-010-00