

DEP Slide™

Disposable chips for real-time cell biology

Cell-Cell Interaction

Cell-Mediated Cytotoxicity Test

Introduction

免疫学など様々な医学的分野において、細胞のマニピレーションは重要な手段の一つで、かつ重要な課題でもあります。DEP Slide の技術は特異的なエフェクター細胞とターゲットとなる細胞の細胞傷害反応をリアルタイムで観察することを可能にしました。

DEP Slideの有用性として

- 放射性ラベルを必要としない
- 複数の異なったターゲット細胞を並行して扱え、統計的な情報を取得可能
- 処理時間は8 – 16分
- 溶解反応は顕微鏡下で観察可能
- 少量のターゲット細胞とエフェクター細胞でも作用させることが可能

Detection of cell-mediated lysis

細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) と癌細胞の相互作用を例に説明します。

これは免疫治療の発展に非常に関係があります。

癌細胞に対して高い抵抗性を要するCTLクローンを得るまでには、煩雑な手順を繰り返し長い時間を要します。

DEP Slideの技術は、細胞の集団を任意の位置にコントロールすることが出来る点で手間を省くことが可能になります。

DEP Slideで処理することにより、ある領域 (シリンダー状) にCTLとターゲット細胞 (リンパ芽球: LCL) を集めることが出来ます。(Fig. 1-A)

LCL を Calcein (生細胞染色) と MitoTrackerRed580 (全細胞染色) で処理しました。(Fig. 1-B-E)

ダメージを受けた細胞はCalceinの緑蛍光を失い、MitoTrackerRed580 の赤蛍光のみになります。これはLCLが溶解したことを意味します。緑と赤の蛍光を保っている細胞は溶解していません。

ネガティブコントロールとしてLCLのみをDEP Slideで処理しましたが顕著な蛍光の退色は見られませんでした。(Fig. 2,3)

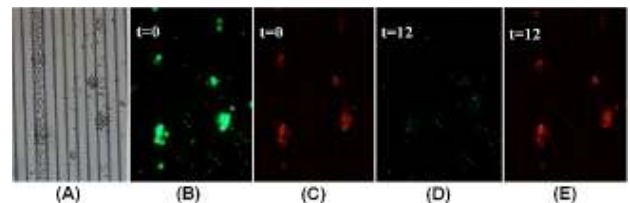


Fig 1: 二重染色したLCLをCTLと (LCL:CTL=1:10) 15分間インキュベートとし Buffer3 に懸濁して SmartSlide で処理した。(A)

(B) (C) が実験開始直後で、(D) (E) が12分後。

最初は緑と赤蛍光が大多数を占めるが、徐々に緑蛍光が減少する。最終的には赤蛍光だけになる:溶解している。

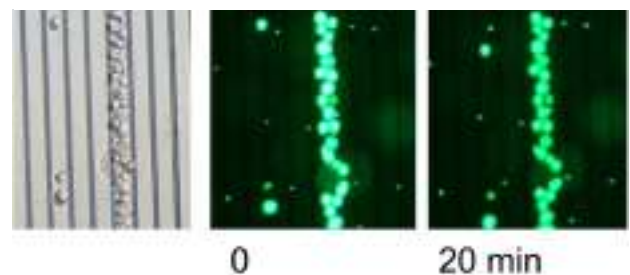


Fig. 2: LCL を Carcein で染色し SmartSlide で処理した。写真では20分後でも蛍光が見られる (溶解していない)。

Parameters

Protocol

- Concentration

Electrical Parameters (W25 chip)

- Frequency: 100 kHz.
- Electrode voltage: 1.8 V
- Lid voltage: 2 V

Time Parameters (W25 chip)

- W-I: 2 s
- W-C: 3 s

Iterations (W25G5 chip)

- 90 or greater