



細胞培養  
三次元培養 培養器材

多孔性に優れた三次元細胞培養用 Scaffold

## 3D Insert-PCL / -PS

均一なポアサイズを有し、多孔性に優れた培養用器材です。

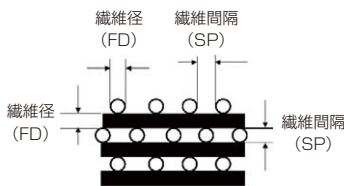
※本製品は研究用です。臨床用途には使用できません。

### 特長

- ◆ クロロホルムや塩化メチレンなどの有機溶媒を使用していません。
- ◆ 本製品のポアサイズは、3D Biotek 社の精密な製造技術によって、均一かつロット間での差が少なく、規則性に優れています。
- ◆ すべての空孔が開いているため、細胞や培養液が繊維間へ浸透しやすくなっています。また、溶液の循環性が良いので、細胞老廃物の蓄積を軽減できます。
- ◆ 本製品で培養した細胞は、RNA 精製、DNA およびタンパク質解析、形質転換、免疫染色、細胞増殖アッセイなど、様々な用途に適用できます。
- ◆ 12 または 96 ウェルプレート適合サイズの製品があり、それぞれ 12 ウェルプレートに 6 個、96 ウェルプレートに 24 個の 3D Insert があらかじめセットされています。



3D Insertの構造



3D Insertの断面模式図

### ■ 3D Insert-PCL

材質は、手術の縫合糸などに用いられている生分解性ポリエステル（ポリカプロラクトン（Polycaprolactone : PCL））です。幹細胞などの再生医療研究に有用な製品です。

- ◆ 繊維径：～ 300 μm
- ◆ 繊維間隔：300/500 μm

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格(¥)
<b>3D Insert-PCL, 12 Well Plate Compatible (6 pieces)</b>			
TDB	PCL303012-6	300 μm Fiber Diameter, 300 μm Spacing	1 plate / 27,000
TDB	PCL305012-6	300 μm Fiber Diameter, 500 μm Spacing	1 plate / 27,000
<b>3D Insert-PCL, 96 Well Plate Compatible (24 pieces)</b>			
TDB	PCL303096-24	300 μm Fiber Diameter, 300 μm Spacing	1 plate / 27,000
TDB	PCL305096-24	300 μm Fiber Diameter, 500 μm Spacing	1 plate / 27,000

### ■ 3D Insert-PS

材質は、培養用ディッシュと同じポリスチレン（Polystyrene : PS）です。コストパフォーマンスが高く、様々な細胞に使用可能です。透明性と多孔性に優れており、高度な装置を使用せずに、倒立光学顕微鏡で細胞成長をリアルタイムに観察できます。

- ◆ 繊維径：～ 150/～ 300 μm
- ◆ 繊維間隔：200/400 μm

<b>3D Insert-PS, 12 Well Plate Compatible (6 pieces)</b>			
TDB	PS152012-6	150 μm Fiber Diameter, 200 μm Spacing	1 plate / 14,000
TDB	PS304012-6	300 μm Fiber Diameter, 400 μm Spacing	1 plate / 14,000
<b>3D Insert-PS, 96 Well Plate Compatible (24 pieces)</b>			
TDB	PS152096-24	150 μm Fiber Diameter, 200 μm Spacing	1 plate / 14,000
TDB	PS304096-24	300 μm Fiber Diameter, 400 μm Spacing	1 plate / 14,000

※ 6, 24, 48 ウェルプレートタイプの 3D Insert も取り扱っています。詳細は当社テクニカルサポート（欄外参照）までお問い合わせ下さい。

## FAQ

### 二次元培養と三次元培養について

Q1. 二次元細胞培養とは？

A1. 通常、細胞を培養する際には細胞培養用プレートなどを使用します。この場合、細胞は培地の中で二次元的に単層を形成して増殖します。これを二次元細胞培養（2D cell culture）といいます。

Q2. 三次元細胞培養とは？

A2. 上記の二次元細胞培養は、*in vitro* での因子、細胞、薬剤などの相互作用の観察や研究に便利な方法ですが、*in vivo* での細胞増殖とは形態が異なります。実際の生体内においては、細胞は三次元的に増殖して組織や臓器を形成しています。従ってより生体内に近い培養環境を実現するために、三次元細胞培養（3D cell culture）が重要となってきます。

【参考】線維芽細胞の蛍光染色像（次ページ 図 1-1）

【参考】NIH-3T3 細胞株の蛍光染色像（次ページ 図 2-1）

Q3. 三次元細胞培養の利点は？

A3-1. 健全組織と病的組織の構造や機能の違いを理解するのに役立ちます。

【例 1】椎間板の線維輪細胞を三次元培養してみると、二次元培養とは異なる形態を観察できます。単層培養と比較してプロテオグリカンの合成量が増加し、細胞外マトリックスの決定を伴う細胞コロニーが形成されます。また、二次元培養では見られない I 型および II 型コラーゲンの産生も確認されました。

【例 2】骨細胞や軟骨細胞は、二次元培養と三次元培養ではまったく異なる形態を示すことがよく知られています。最近の研究で、ヒト骨形成細胞（正常および細胞株）が、ハイドロゲルマトリックスを用いて三次元培養されました。これにより骨肉腫細胞が増殖し、骨形成細胞コロニーが 3 週間程度培養できたと示されています。

【参考】骨芽細胞の染色像（次ページ 図 2-2）

【例 3】動物細胞の *in vitro* 三次元増殖は、上皮細胞の極性形成と分化を促進します。また、生体内の組織細胞と比べて、これらの細胞は速やかに移動、分裂し、非対称性の形態を獲得します。

A3-2. 成長因子などの各種物質との相互作用を研究する際のモデルとなります。

【例 1】三次元培養された癌細胞では、腫瘍細胞増殖因子に対する受容体の発現の様式が二次元培養とは異なっています。乳癌細胞では、三次元培養が癌細胞の増殖や抗癌剤の評価などのモデルシステムとして活用されています。

【例 2】単層培養や分散培養と比較して、三次元培養細胞は、細胞毒性のある薬剤に対して抵抗性を示します。三次元培養は *in vitro* における抗癌剤による細胞毒性の評価に、有用な研究モデルになると考えられます。

【参考】乳癌細胞株（MCF-7）に対するタモキシフェン（抗癌剤）の影響（次ページ グラフ 2-1）

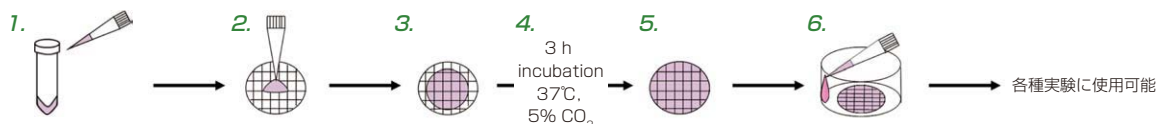
【参考】肝癌由来細胞株（HepG2）の生存率（次ページ グラフ 2-2）

A3-3. 幹細胞の培養にも有用です。

【例】三次元培養されたヒト ES 細胞は、細胞培養用プレートで二次元培養した場合に比べ、30 日後の細胞数の顕著な増加を示しました。

【参考】間葉系幹細胞（MSC）の染色像（次ページ 図 2-3）

操作法概略



1. 細胞を培地に再懸濁します (~ 1 ml)。
2. 1. の細胞懸濁液をピペットで 3D Insert の中央に滴下します。
3. 推奨量の細胞懸濁液を播種した直後は、足場表面の 80 ~ 90%が細胞懸濁液に覆われた状態になります。
4. 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下で 3 時間インキュベーションします。
5. 3D Insert の容量いっぱいになるまで細胞懸濁液が広がり、線維間を貫通します。
6. ウェルの壁に沿って培地を静かに添加し、3D Insert を完全に覆うようにします。

使用例

■ 3D Insert-PS による三次元培養

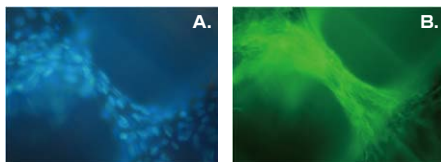


図 1-1. 線維芽細胞の蛍光染色像

細胞外マトリックス様の構造が形成されたことがわかる。  
 A: 細胞核を DAPI で青色に染色 (40 倍)  
 B: F-アクチンを Alexa Fluor® 488 標識ファロイジンで緑色に染色 (40 倍)

■ 3D Insert-PCL による三次元培養

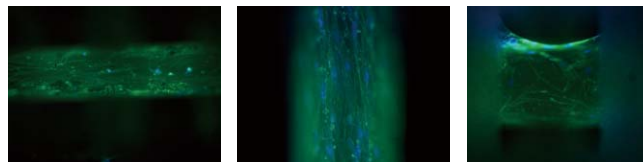


図 1-2. 線維芽細胞の蛍光染色像

F-アクチン (緑色)、核 (DAPI, 青色) をそれぞれ蛍光染色した。

比較例

■ 3D Insert-PCL を使用した三次元培養 v.s. 二次元培養

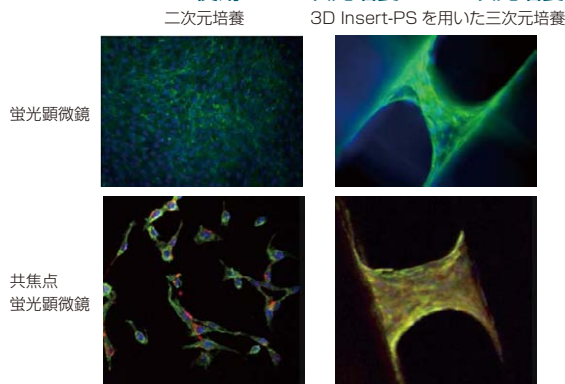


図 2-1. NIH-3T3 細胞株の蛍光染色像

F-アクチン (緑色)、フィブロネクチン (赤色)、核 (DAPI, 青色) をそれぞれ蛍光染色した。

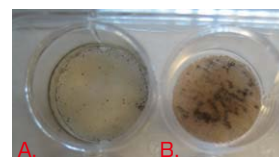


図 2-2. 骨芽細胞の染色像

培養 14 日目の骨芽細胞のコッサ染色を行った。二次元培養 (A) と比べ三次元培養 (B) では石灰化した小塊の量が増加していることがわかる。

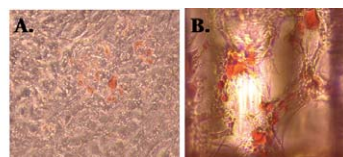
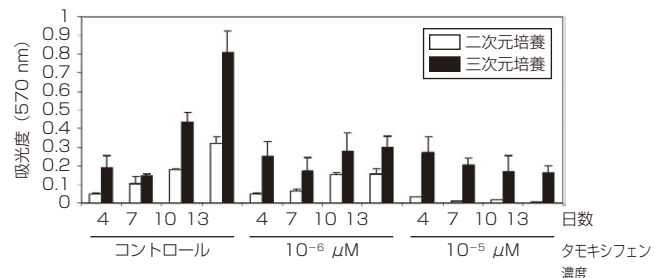
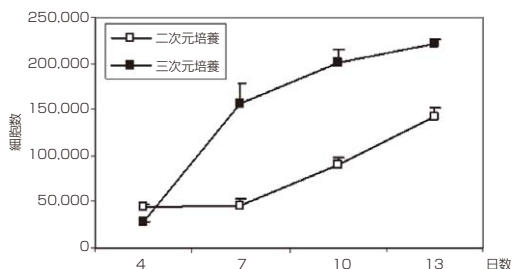


図 2-3. 間葉系幹細胞 (MSC) の染色像

脂肪細胞への分化誘導を行った後、MSC を Oil-Red-O で染色した。細胞内に脂肪滴が形成されていることが確認でき、二次元培養 (A) と比べ三次元培養 (B) ではその量が増加していることがわかる。



グラフ 2-1. 乳癌細胞株 (MCF-7) に対するタモキシフェン (抗癌剤) の影響  
 各濃度のタモキシフェンで MCF-7 細胞を処理し、MTT アッセイにより細胞生存率を算出した。



グラフ 2-2. 肝癌由来細胞株 (HepG2) の生存細胞数  
 MTT アッセイにより算出した。