

マトリジェル浸潤アッセイ

- 1 マトリジェル¹をon iceで融解する。
- 2 氷冷した PBS でマトリジェルを 50 倍希釈する。
- 3 24 well Plate内に置いたCell Culture Insert² に希釈したマトリジェルを 50 μ l/well 入れてコーティングする。
- 4 クリーンベンチ内で2時間乾燥させる。残った液は吸い取って捨てる。
- 5 浸潤アッセイ用培地³にCell Culture Insertを浸し、マトリジェルを再膨化させる。
- 6 Cell Culture Insert の上に細胞をまく (50,000/well)。
- 7 下層の培地をfibroblast-conditioned medium入りの浸潤アッセイ用培地⁴に換え、5時間培養する。
- 8 メタノール固定する。
- 9 ギムザ染色、あるいはヘマトキシリン染色を行う。
- 10 Cell Culture Insert の下面に浸潤した細胞を数える。

1 MATRIGEL (#356234; Becton Dickinson Labware, Bedford, MA)

2 Cell Culture Insert (#3097, pore size 8 μ m; Becton Dickinson Labware)

3 浸潤アッセイ培地: DME : MCDB153 = 1 : 1

10 ng/ml EGF

10 μ g/ml Gentamicin

4 下層の培地には、DME として、10 cm ディッシュにコンフルエントの線維芽細胞を PBS で2回洗浄し、DME (serum free, 5 ml)を加えて24時間 incubate した培養上清と MCDB153 の 1:1 混合培地に EGF と Gentamicin を上層の培地と同様に加えたものを用いる。