

MakCellを用いた低酸素環境安定性の確認

自動細胞培養装置 MakCellはオプション構成として酸素ガスセンサーと窒素ガス導入ポートを追加できることから、低酸素環境で細胞を培養できる装置である。本資料ではMakCellの低酸素環境の安定性を確認するために、培地分析装置を用いて培地中のガス分圧の測定や、MakCell稼働中の庫内環境の測定を行ったので紹介する。

環境

通常インキュベータ：37℃, CO₂ 5% (Cont.)

MakCell-低酸素環境：37℃, CO₂ 5%, O₂ 5% (庫内へ窒素ガス 0.1 MPa 制御注入)

条件

培地：DMEM (高グルコース, 富士フィルム和光純薬), 10% FBS (Sigma), 1% 抗生剤 (Gibco)

器材：35 mm dish (BD Falcon)

培地量：2 mL/dish

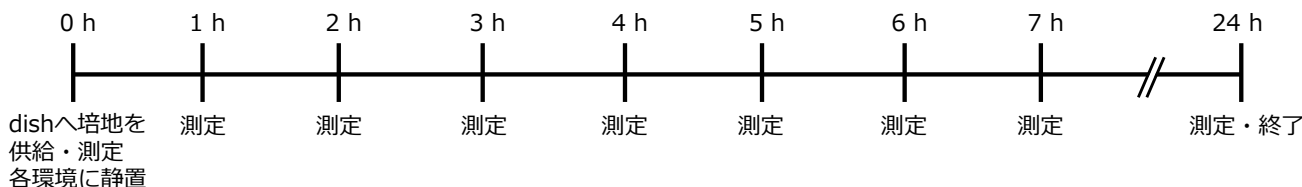
培地分析：Vi-CELL MetaFLEX (Beckman Coulter)

測定項目：pH, pCO₂, pO₂

方法

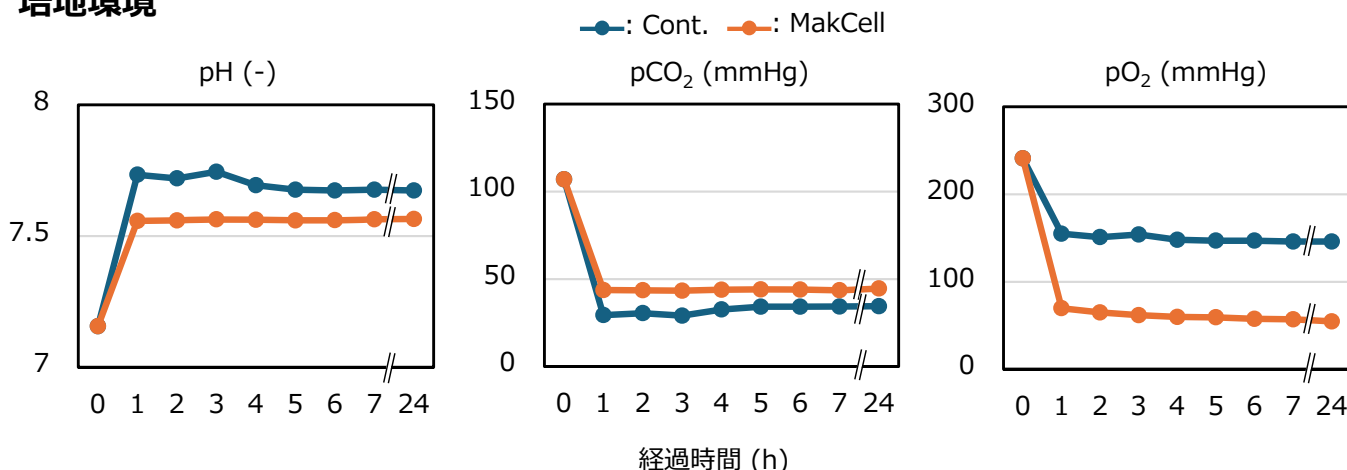
1. 培地 2 mL/dish, Vi-CELL MetaFLEXで培地成分を測定 (0 h)
2. dishを各環境下に置き, 静置後1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 24 hで培地成分を測定
3. 扉開放から庫内環境が設定値に達するまでの時間データを取得
4. MakCellを稼働させ, 庫内環境のデータを取得

測定スケジュール



結果

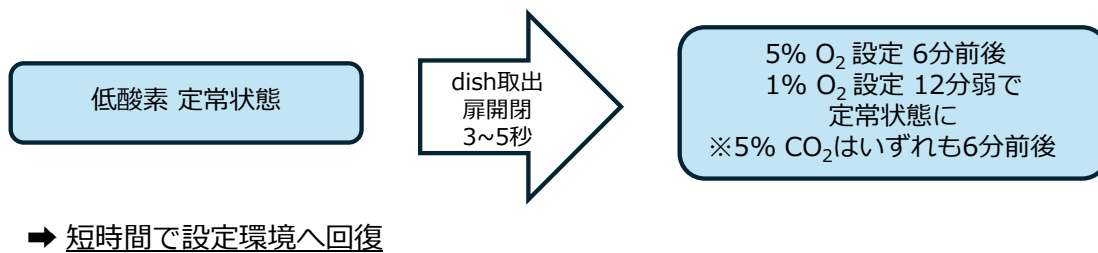
培地環境



➔ 窒素ガスにより速やかに培地中の酸素が放出されており、かつガス分圧の安定性が高い。

結果 (続き)

MakCell 扉開閉後に定常状態へ到達するまでにかかる時間



MakCell 稼働時の庫内ガス環境の安定性の確認

【MakCell庫内設定】			
・温度 37.0℃ ・CO ₂ 5.0% ・O ₂ 5.0%			
時間	庫内温度 (°C)	庫内O ₂ (%)	庫内CO ₂ (%)
9:30:13	37.0	5.0	5.0
9:35:13	37.0	5.0	5.0
9:40:13	37.0	5.0	5.0
9:45:13	37.0	5.0	5.0
9:50:13	37.0	5.0	5.0
9:55:13	37.0	5.0	5.0
9:55:20	MedChange,Exp No:1, Table:1, Pos:7		↑ 培地交換(9:55設定) +ノズル洗浄
9:57:47	Wash,Exp No:0, Table:1, Pos:1		
10:00:10	37.0	5.0	5.0
10:00:17	MedChange,Exp No:2, Table:1, Pos:2		↑ 培地交換(10:00設定) +ノズル洗浄
10:05:00	37.0	5.0	
10:07:09	Wash,Exp No:0, Table:1, Pos:1		
10:10:08	37.0	5.0	5.0
10:15:08	37.0	5.0	5.0
10:20:08	37.0	5.0	5.0
10:25:08	37.0	5.0	5.0
10:30:08	37.0	5.0	5.0

→ MakCell稼働中でも庫内の温度, ガス濃度に変動は見られない

稼働前後も庫内環境は安定していた

まとめ

MakCell庫内容量は 140 Lと非常にコンパクトで低酸素実験のランニングコストを抑えることができる
扉の開閉なく培地交換ができるため安定した長期低酸素培養が可能

