技術資料

MakCell
Compact Automatic Cell Culture Apparatus

データ提供：大阪大学 松井特任准教授

作成日： 2025年9月1日

MakCellを用いたHeLa細胞の低酸素培養

卓上型自動培養装置「MakCell」は自動培地交換装置で，低酸素環境培養にも対応している．一般的な低酸素培養で人の手による培地交換では，インキュベータ内が低酸素環境でも培地交換時に通常大気下に培養細胞をさらさなくてはならない．その点，MakCellは低酸素環境を維持したまま環境を変えることなく培地交換を実施するため安定した細胞培養が実現できる (アプリケーションノート「MakCellを用いた低酸素環境安定性の確認」参照).

今回，MakCellの低酸素機能を使用しHeLa細胞株を培養，解析を試みた．低酸素環境下で核に局在することが知られているHIF1αに対する抗体を用いて免疫蛍光染色をおこなったところ，培養1.0時間前後から核内にHIF1αが局在していることを確認した.

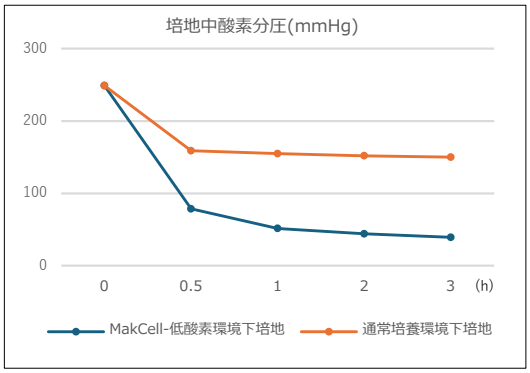
方法

細胞種： HeLa細胞株(播種密度 2 x 10^5 cells/well T-75フラスコ維持培養後，トリプシン分散し器材へ播種)
維持培地：DMEM (high glucose, Wako)， 10%FBS (Sigma)， 1%Anti-Anti (Gibco)
器材： 12 well plate (Falcon)， φ15 glass (Matsunami)
培地測定装置：ViCELL MetaFLEX (ThermoFisher)
抗体： HIF1α抗体 (Abcam)， 蛍光標識2次抗体 (ThermoFischer)
1% O_2に設定したMakCell庫内へHeLa細胞を移し，1, 3, 6時間後に固定，蛍光染色した.

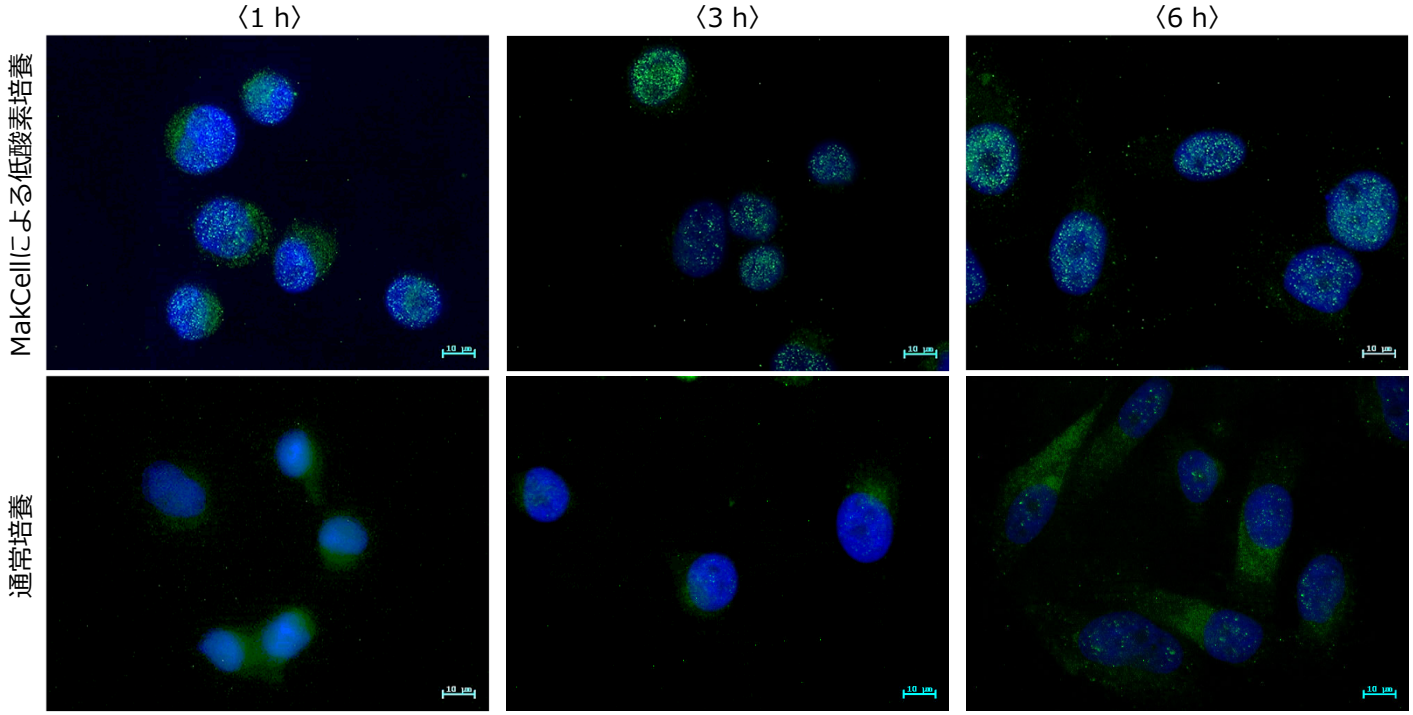
結果

・インキュベータ庫内の培地の測定

条件: MakCell培養 CO_2 5%, O_2 1%
通常培養 CO_2 5%, O_2 19-20%



・HeLa細胞株の低酸素培養におけるHIF1αの核内局在

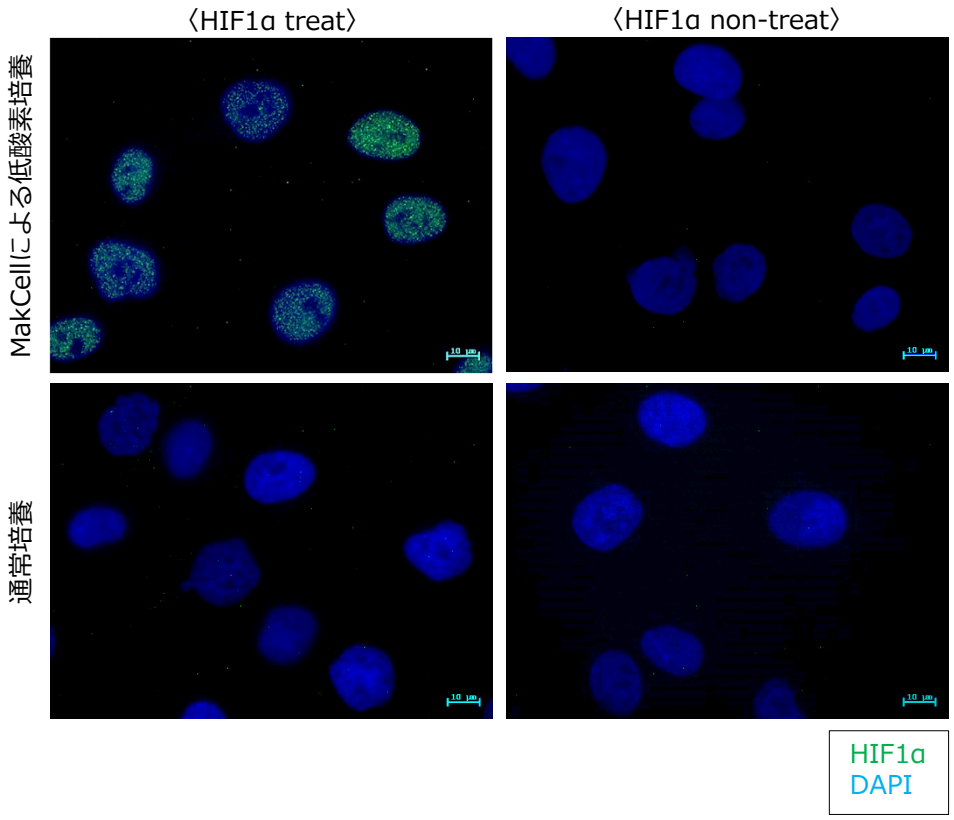


〈参考〉 ヒト脂肪由来間葉系間質細胞の低酸素培養におけるHIF1αの核内局在

条件: MakCell培養 CO_2 5%, O_2 1%

通常培養 CO_2 5%, O_2 19-20%

いずれも3hサンプル　使用器材など上記と同じ.



まとめ

- MakCellを低酸素環境に設定した場合，培地中の低酸素状態をわずか1時間で達成し，かつ安定していた.
- 免疫蛍光染色により，低酸素環境下でHIF1αが核内に移行，局在していることを確認した.
- MakCellでは設定したO_2濃度に達してから、細胞培養容器の庫内収納時の扉開閉に伴って生じるO_2濃度変動は12分と比較的短時間で設定値に戻ることから（1% O_2設定時，アプリケーションノート「 MakCellを用いた低酸素環境安定性の確認」参照），MakCellは低酸素環境移行時のHIF1αの核局在の時間応答の実験にも対応できることを示した.
- MakCellを用いた低酸素環境下での長期培養では，自動培地交換機能により培養容器の取り出しが不要となるため，O_2濃度変動を回避し，細胞培養環境の安定性を維持できる利点がある．今後，低酸素下での増殖促進や幹細胞マーカー遺伝子発現が報告されている間葉系間質細胞を用いるなど，MakCellによる低酸素環境下での自動培地交換の有用性を評価する予定である.

JTEC CORPORATION
株式会社ジェイテックコーポレーション
〒567-0086　大阪府茨木市彩都やまぶき2-5-38
Tel：072-655-2786　info@j-tec.co.jp