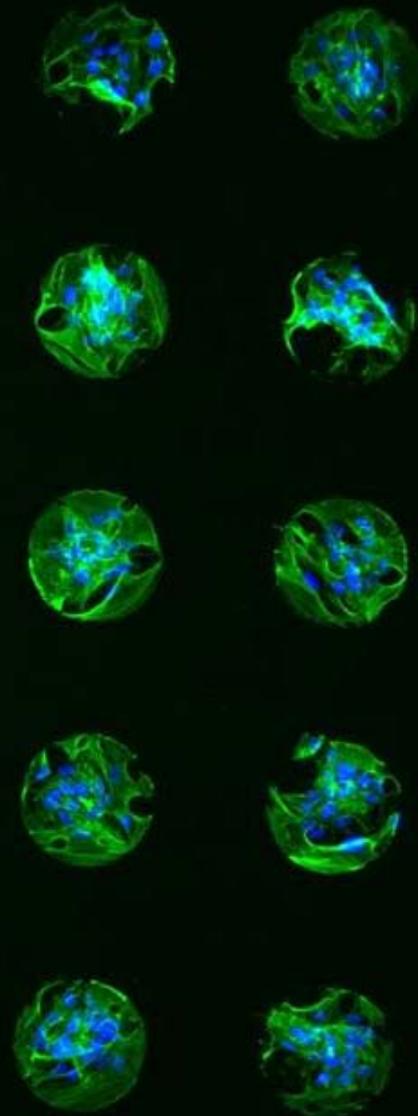
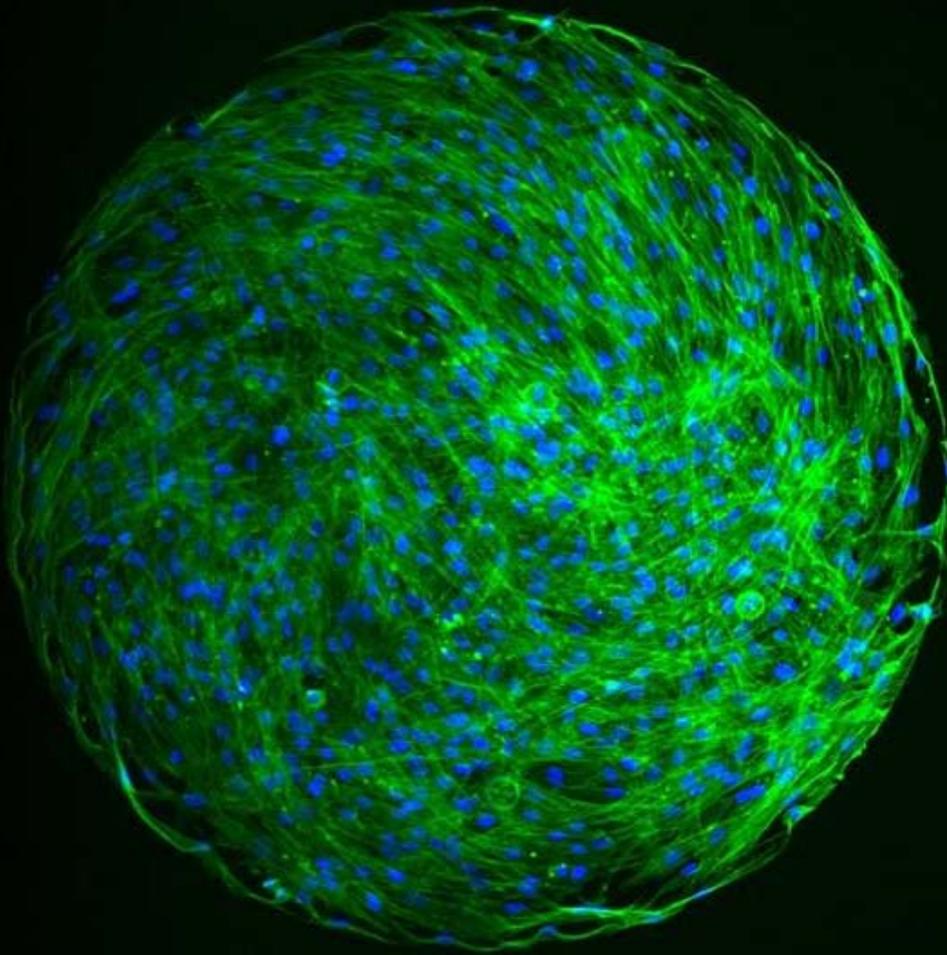


# 創世紀季刊



CYTOO Micropattern 介紹..... 2

細胞遷移簡介..... 11

SPL Cell Culture Insert.....13

Platypus Oris Cell Migration Assay Kit .....14

Gradientech CellDirector.....17

創世紀生技有限公司

服務信箱 [service@biogenesis.com.tw](mailto:service@biogenesis.com.tw) 服務專線 0800-211-667

<http://www.biogenesis.com.tw>

台北 02-26558877 竹南 037-687493 台中 04-22602466

高雄 07-3105441 花蓮 03-8463953



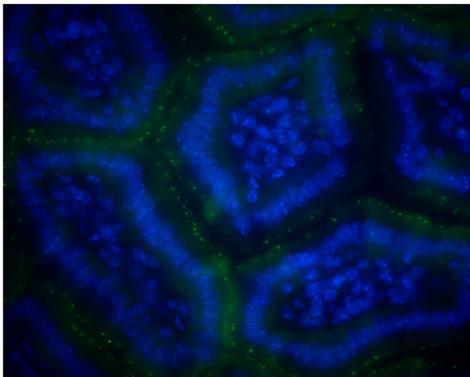
最佳的 micropattern 產品 提供您進階的 **2D+** and **3D+** in vitro models

## What is Micropatterns?

CYTOO 產品是在高階影像等級的玻璃上，先以使細胞無法貼附的 **Cytophobic** 塗料處理，再以光蝕刻的技術，精準地留下特定的幾何形狀，並在這樣的幾形狀上 coating 上特定的細胞間質蛋白 (extra cellular matrix, ECM, such as fibronectin, collgene, Laminin, ect...)。這樣的細胞培養工具藉由精準的控制細胞貼附的型式，提供了體外培養細胞結構上的引導，使細胞表現出更接近體內生理的表型及框架，這樣的工具可以：

- ◆ 提高試驗的再現性，靈敏性和歸納量化複雜的生物性狀
- ◆ 進一步分析細胞結構、機械性刺激和細胞功能之間的關係
- ◆ 模擬重現細胞在生物體內的環境，並使性狀易於觀察分析

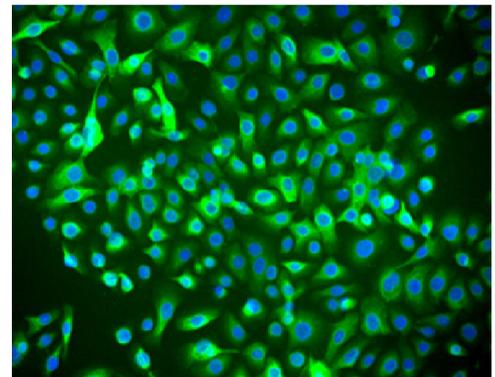
*Cells in vivo*



*Mouse intestinal epithelial cells. JCB*

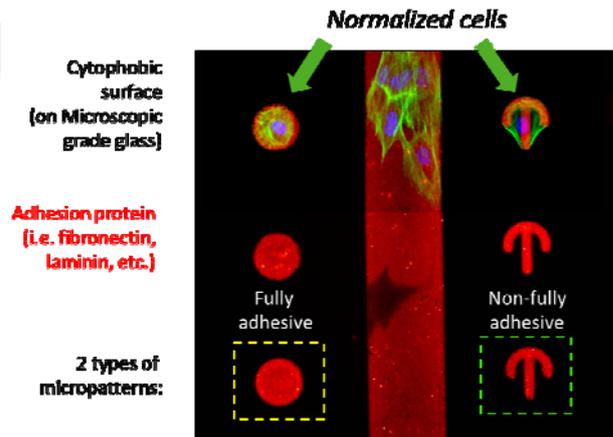
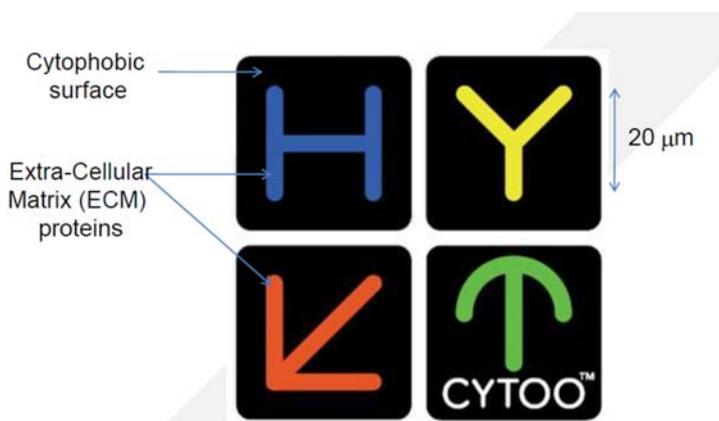
- organized
- uniform
- constrained
- polarized

*Cells in 2D culture*



*Human prostate epithelial cells. Innoprot*

- different shapes
- different sizes
- free to move
- non-polarized



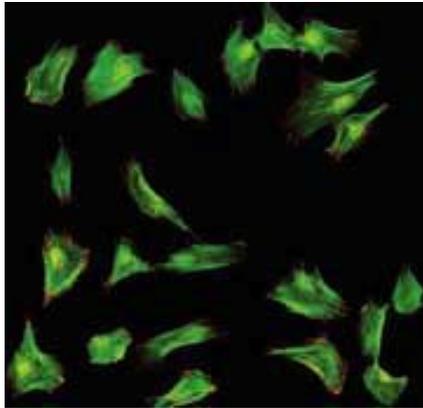
CYTOO micropattern 使體外培養細胞重現體內應有的細胞極性，有組織的整齊排列，細胞移動的限制!!

# CYTOO adhesive micropatterns

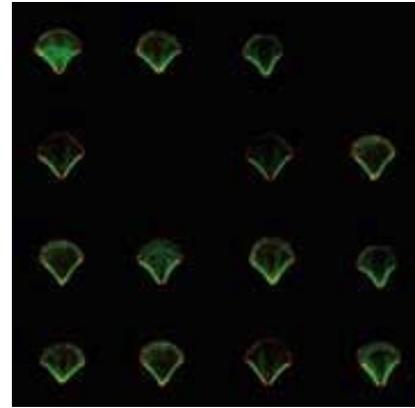
## A breakthrough in quantitative cell analysis



精準的對照條件 在 CYTOO 陣列上，細胞呈現相同的結構



Cells in a standard culture dish

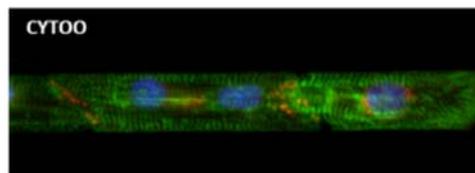
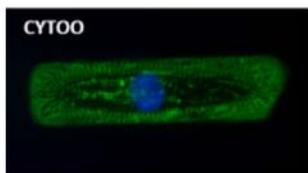
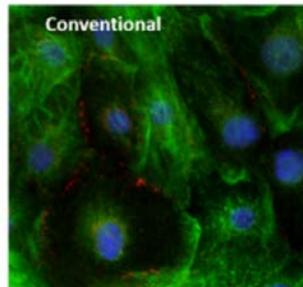
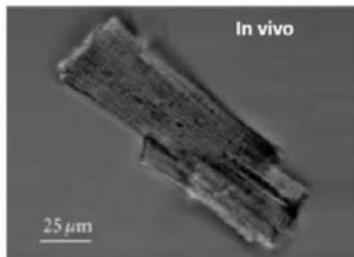


Cells cultured on CYTOO products

細胞貼附在塗有細胞間質蛋白的 micropattern 陣列上時，會隨著 micropattern 的引導在不能貼附的材質上張開成特定的幾何結構。這樣特定形狀的貼附接觸分布，促使細胞產生固定且再現性極高的極性。細胞位置、細胞形狀、細胞極性、以及胞器位置都可標準化。



重現體內細胞的物理環境 使體外培養細胞的生理性狀更接近體內組織

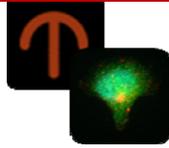


connexin-43 /  $\alpha$ -actin / nucleus

CYTOO 致力於提供體外培養細胞更接近體內環境的物理條件。

例如健康的人類心肌細胞是呈如磚塊般的型狀(左上圖)，sarcomeres 整齊排列(Harvey and Leinman, 2011)。藉著 CYTOO 的 micropattern 控制細胞貼附的模式，不但再單一細胞(左下)，甚至一群細胞(右下) 都可重現在體內的型狀及排列方式，反觀這樣的特性在傳統的 cell culture dish 培養環境下完全失去了(右上)，此外在 micropattern 上的心肌細胞，connexin-43 的表達量高於傳統體外培養的細胞，顯示重現體內環境的物理條件，影響基因表現及模型細胞的成熟程度。

2D+  
Single cells



- Mitochondria assay
- Receptor internalization
- Actin Cytoskeleton
- Cell division
- Stem cell differentiation



選擇適合您應用的 micropattern

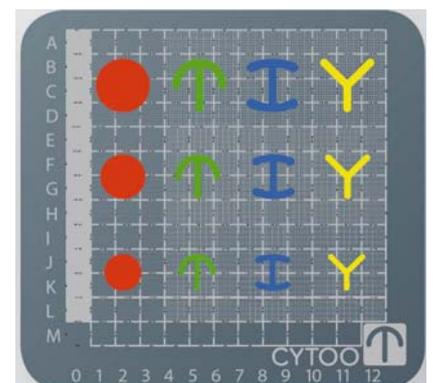
客製化特殊 micropattern 請洽創世紀生技

	Disc	Crossbow	H	Y	L
<b>Micropatterns</b>					
<b>Stretched cells</b>					
<b>Application examples:</b>					
Cell shape control and arraying	✓	✓	✓	✓	✓
Cell polarization		✓			
Cell division			✓	✓	✓
Cell contractility analysis				✓	✓
<b>Noteworthy Applications</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Array cells</li> <li>. Control cell spreading and contraction</li> <li>. Control ciliogenesis</li> <li>...</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Polarize cells</li> <li>. Study internal organelle/endome mbrane spatial organisation</li> <li>. Study microtubule dynamics</li> <li>. Control asymmetric cell division</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Control symmetric cell division</li> <li>. Quantify cell-cell adhesion/contact</li> <li>...</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Study Multipolar divisions and supernumerary centrosomes</li> <li>...</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Measure contractility</li> <li>. Measure subtle alterations in spindle orientation during mitosis</li> <li>...</li> </ul>
<b>References:</b>		PNAS 103(52):19771-6. Nature 447, 493-496.	Nature 447, 493-496. Genes Dev. 22(16): 2189-203.	CMC 63(6):341-55. Genes Dev. 22(16): 2189-203.	CMC 63(6):341-55. Nat. Cell Biol. 7(10): 947-53.

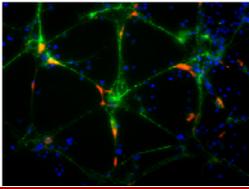


The Starter's CYTOOchip

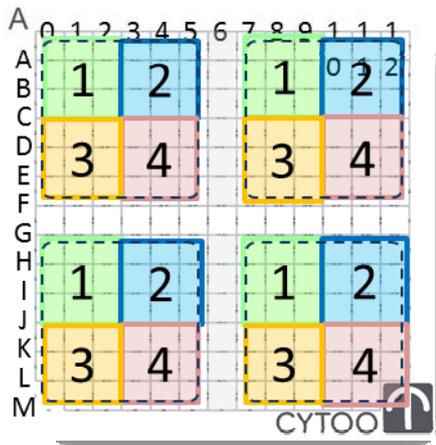
特別的設計使您可以在單一片 Starter's CYTOOchip 測試您的細胞在 12 種 micropattern (4 種形狀, 各三種大小) 貼附的效果, 此外在 column0 提供整片均勻的 ECM coating, 作為沒有 micropattern 的 control.



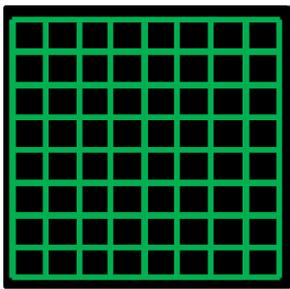
## CYTOOchips Starter Neuro



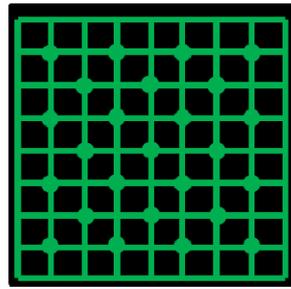
- Neuronal migration
- Neurite outgrowth and bipolar neurite outgrowth
- Neuronal network formation
- Neuronal Toxicity evaluation



Pattern n #	Pattern Name	Line width, $\mu\text{m}$	Dots size
1	Grid 150	3	0
2	Grid 150 with Dots	3	30
3	Lines 3	3	0
4	Network	3	30



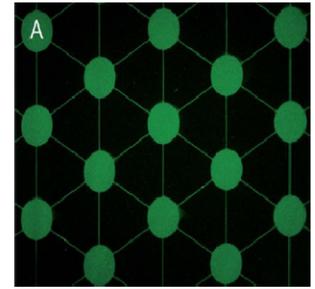
Pattern #1



Pattern #2

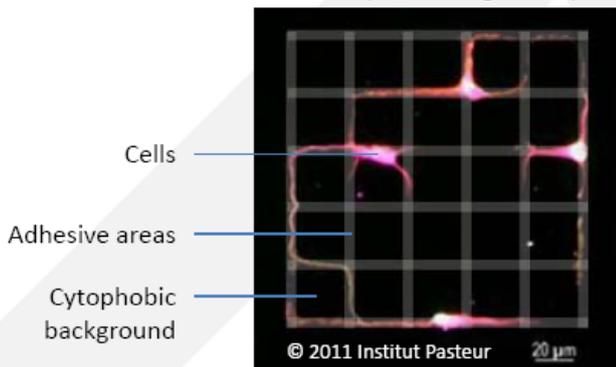


Pattern #3

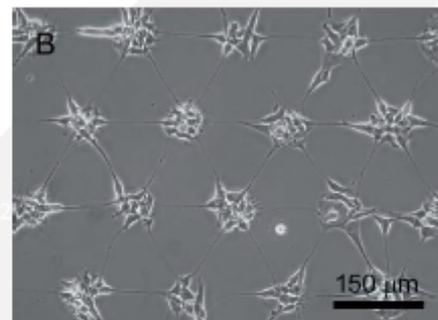


Pattern #4

### Micropatterning example



Hardelauf et al. 2011; Lab on a Chip  
West et al, PCT/EP2010/002811



Node diameter: 70  $\mu\text{m}$ , Path: 100  $\mu\text{m}$   
Structure optimized for SH-SY5Y neuroblastoma cell line  
Protein: PDL; Cytophobic coating: PLL-g-PEG  
Formation of neurite connection between adjacent groups of cells; 6 to 10 cell bodies per pattern in average

CYTOO chips Starter Neuro 在單一 CYTOO chip 上提供 4 種 micropattern，搭配 CYTOO chambers™ 4 wells 可以在單一 CYTOO chip 觀察四種 sample 在 4 種 micropattern 上的特性。



ONCOSPHERES™  
3D+

# Improved robustness for 3D spheroid screening using High Content Analysis

**Authors:** Francois MONJARET, Eve DUCHEMIN-PELLETIER, Amelie PUCCIARELLI, Mathieu FERNANDES, Sebastien DEGOT, Joanne YOUNG CYTOO, Grenoble, France

## Background

**Solid tumors** 在進入血管新生期的前提是, 癌細胞 **spheroids** 中間部分產生缺氧及其所引起的壞死. **spheroids** 中的細胞呈休眠狀態, 相對於在 **2D** 單層細胞的體外培養系統, 較不易受一些藥物成分影響, 因此更適合作為的藥物篩檢模型.

Figure 1: Mature spheroid and drug uptake

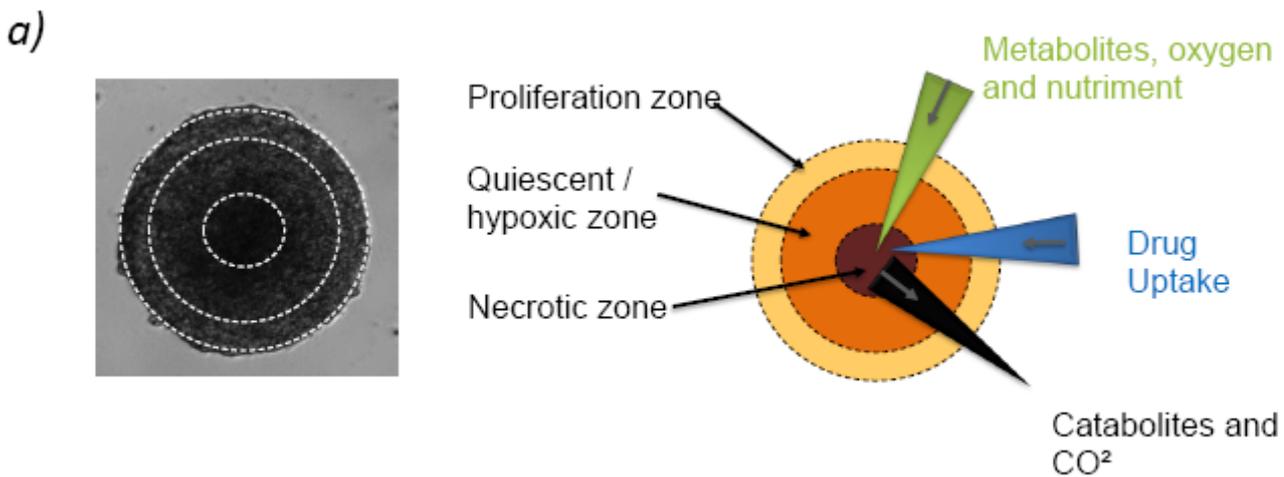


圖 a) 為Spheroid 的結構簡圖顯示, 養分,  $O_2$  和  $CO_2$  的傳輸這些藥物發展必須考量的重要因子, 皆可藉由體外培養的spheroid 建立模型

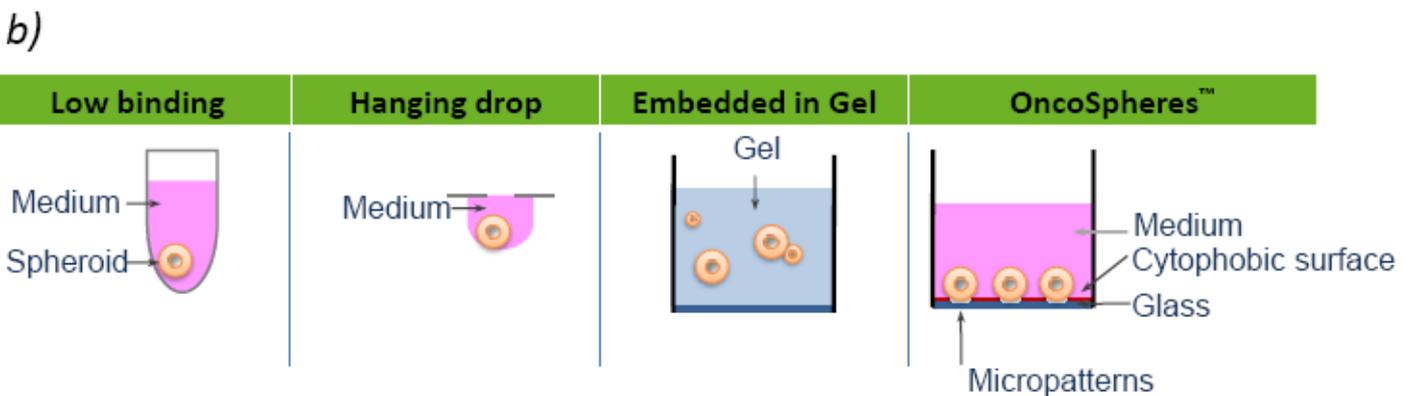


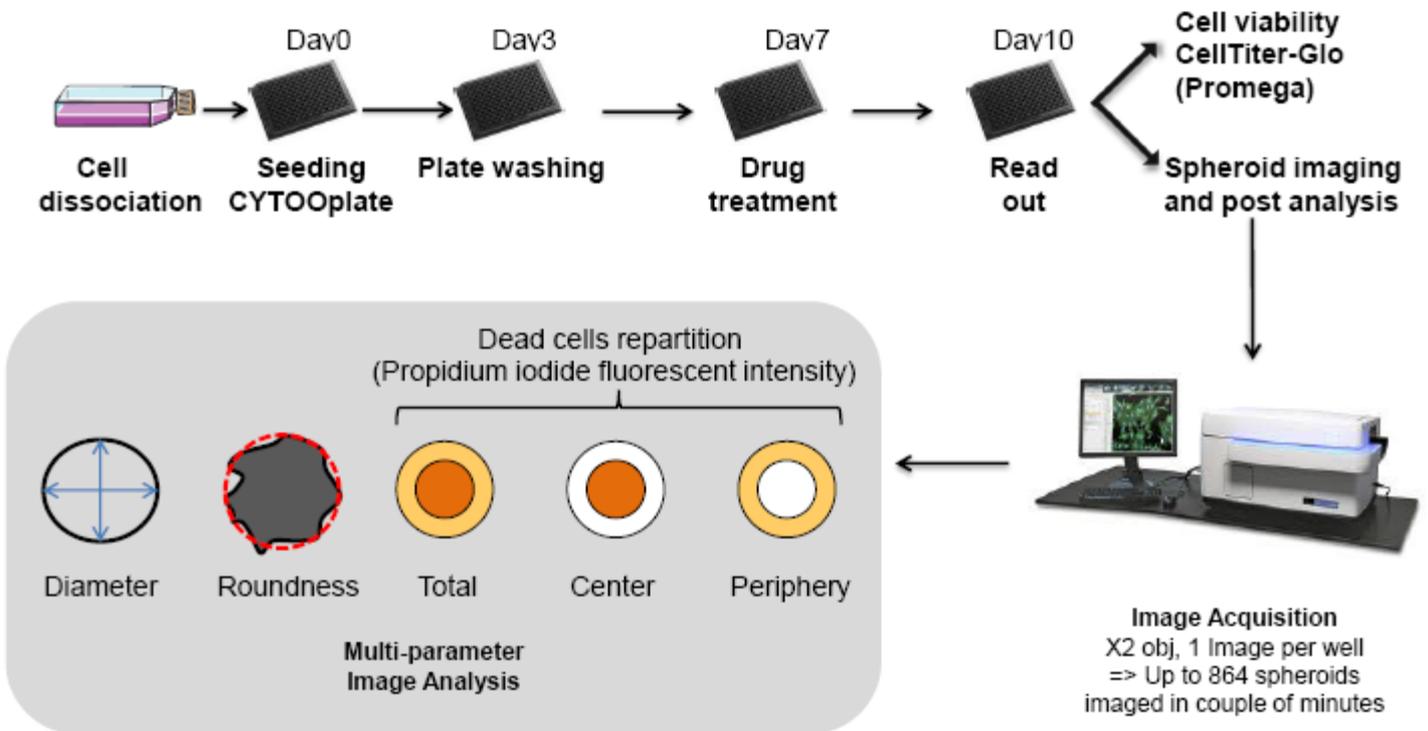
圖 b) 為其他常用的spheroid培養方式與 CYTOO OncoSpheres™ model 的比較

常用的Spheroid 體外培養方式是將惡性癌細胞和其他細胞混和培養在提供細胞不貼附條件下, 但是產生Spheroid的數量常常無法滿足high throughput 和high content screening (HCS)的需求.

## Methods

CYTOO 發展了一套簡易的方式, 可以在96 well plate 的單一well 中培養出多個spheroid. 玻璃底的CYTOO plate 適合用於一般分析及High Content Analysis. 在自動化操作下可培養出直徑達 600  $\mu\text{m}$  的 spheroid, 且變異係數低於5%.

Figure 2: Workflow from spheroid growth to data analysis.

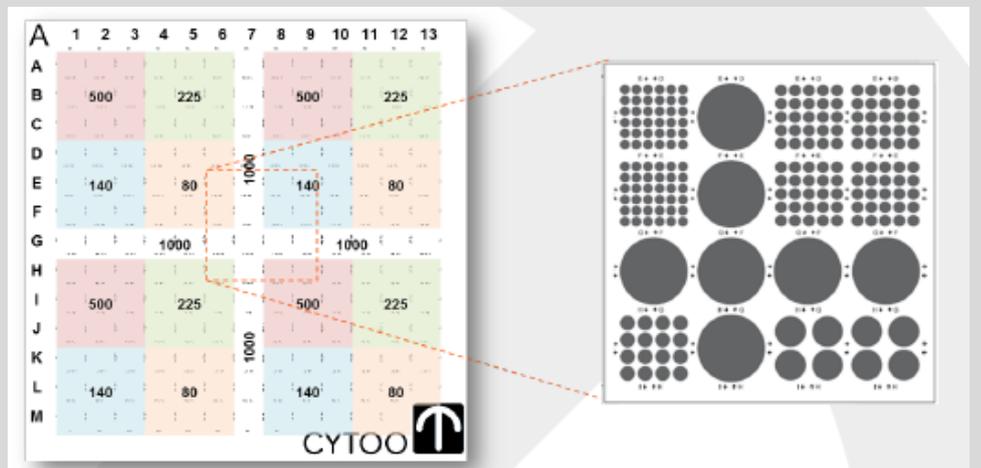


Compatible with various cell lines: T47D & MCF7 (Breast), HCT116 & HT29 (Colon), SKOV3 (Ovary), ...

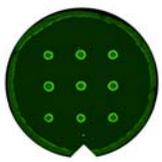
在CYTOO OncoSpheres™ model, 從細胞操作, 藥物處理到影像擷取, 數據分析, 皆可用更簡便, 精準的方式完成!!

**Not ready for screening?**

CYTOOchips Arena 可供您在單一玻片上測試不同大小的圓形 micropattern, 找到最佳的 micropattern for spheroid 3D culture



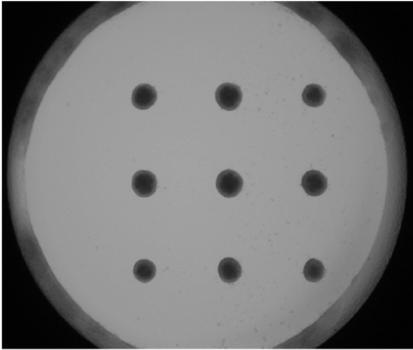
The discs of different diameters (from 500 down to 80  $\mu\text{m}$ ) are organized over the chip in 4 identical quadrants. Each quadrant is again divided into 4 zones and each disc diameter width is arrayed over 3x3 blocks. The blocks separating the 4 quadrants feature the discs of 1000  $\mu\text{m}$  (one disc per block).



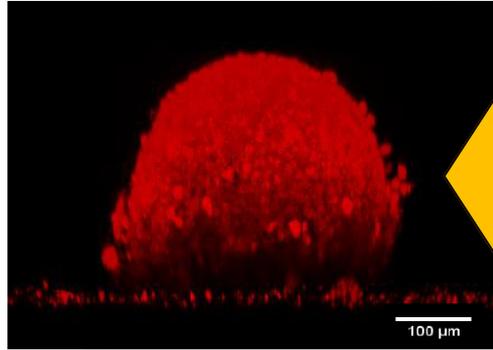
ONCOSPHERES™

# Robust, homogenous and reproducible multiple spheroids growth and maturation

## Production of Multiple and Homogenous spheroids



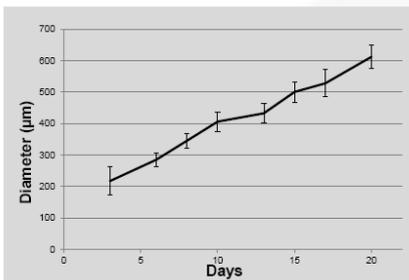
**Figure 3: Typical well at 2x magnification.**  
2x Brightfield acquisition HT-29 spheroids after 12 days in culture (Operetta, Perkin-Elmer). Multiple spheroids on same z level allow fast and robust image acquisition.



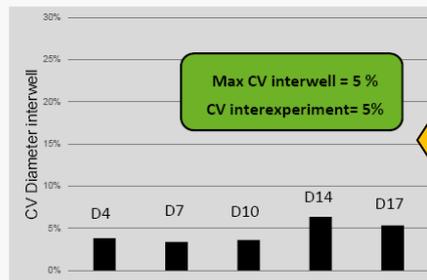
**Figure 4: Multiphoton view of spheroid.**  
Tridimensional reconstruction from multiphoton scanning micrographs of a representative HT-29 spheroid at 14 days. Spheroid is about 400 μm in diameter in all directions.

在單一 well 中培養出多個 HT-29 spheroid !!

## Linear and homogenous growth



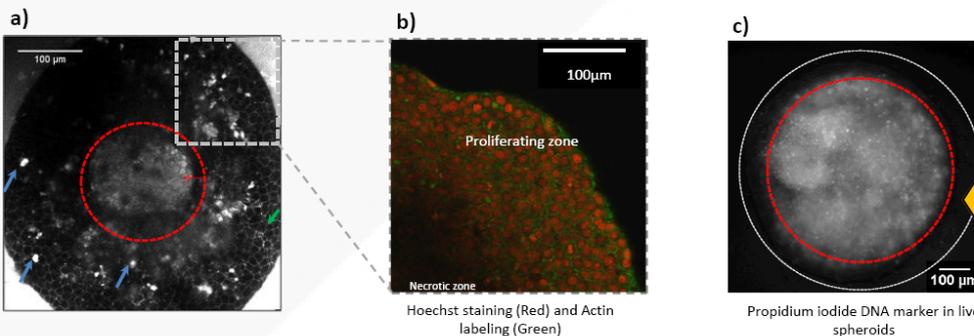
**Figure 4: Control of growth over time**  
Growth kinetics of HT-29 spheroids. Structures are continuously growing for up to 20 days, reaching a size of 600μm.



**Figure 5: Low coefficient of variation**  
Calculated CV (coefficient of variation) of measured spheroids diameter. Maximum observed CV's are 5% between wells of a same plate as well as different plates, regardless of the age of spheroids.

Spheroid 直徑隨時間線性增加，並且一致性高。

## Spheroids have all characteristics of avascular tumors



**Figure 6: Morphology of a representative HT-29 spheroid.**  
a) Cross-section imaged from SRB (sulforhodamine B) labeling include a peripheral proliferating area highlighted by typical SRB exclusion in intercellular environment (green arrow) and a necrotic center zone revealed by SRB diffusion (Red arrow). Interestingly, necrotic cells are present in the proliferating area (blue arrow). b) The peripheral proliferating area contains dividing cells, as observed by Hoechst staining of metaphasic plates (red) and rich actin network (green). c) The necrotic center zone revealed by using propidium iodide staining.

Spheroid 帶有尚未有血管分布的腫瘤的各種特性

# HCA compatibility facilitates characterization of MOA

藥物動力分析

的利器!!

一致性高的  
spheroid使  
有效濃度及  
EC50 測試精  
準明確

## Compatibility with standard viability readouts

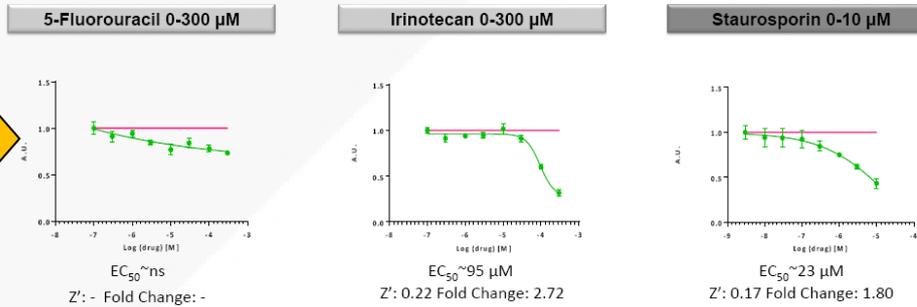


Figure 7: CellTiter Glo analysis and EC50 establishment

## A new model fully compatible with HCS

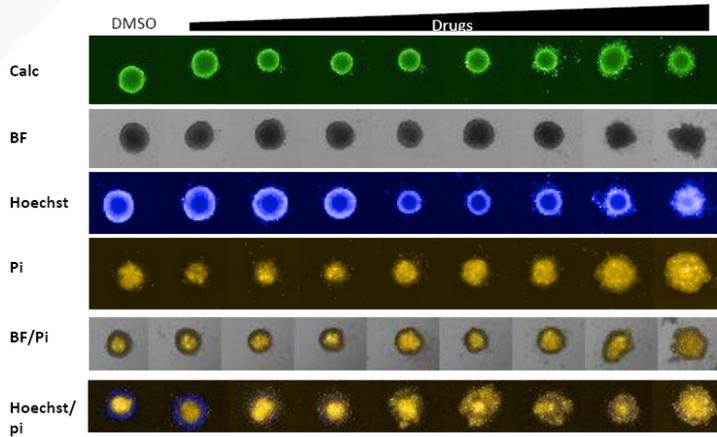


Figure 8: Illustration of labelings and image acquisition available with spheroids treated with different drugs in dose response. Calc: calcein. Pi: Propidium iodide. BF: Brightfield

適用於 HCS 設  
備, 不同濃度的  
藥物處理後, 能  
快速取得大量細  
胞染色後的量化  
數據

## Characterization of drug MOA

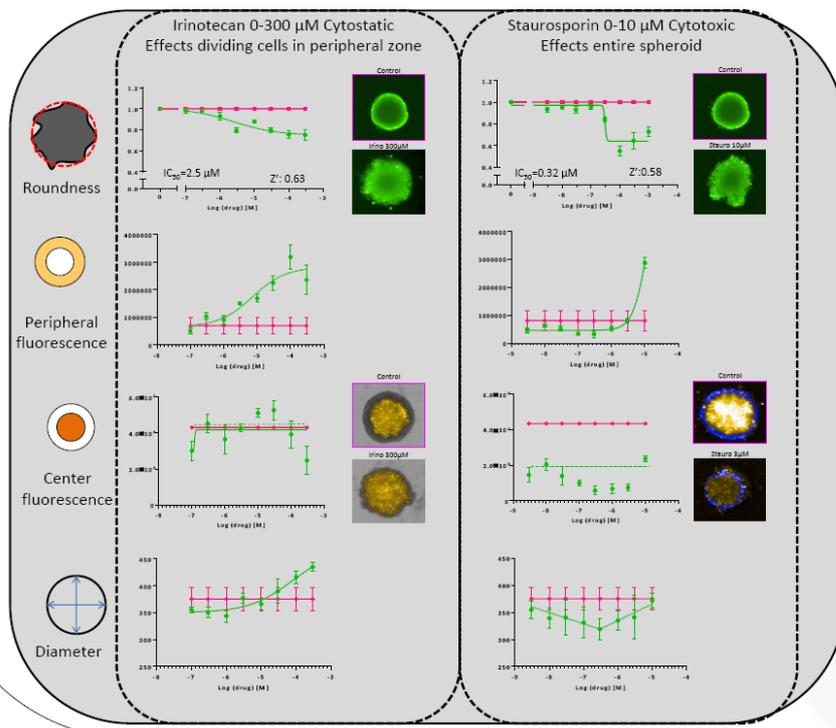
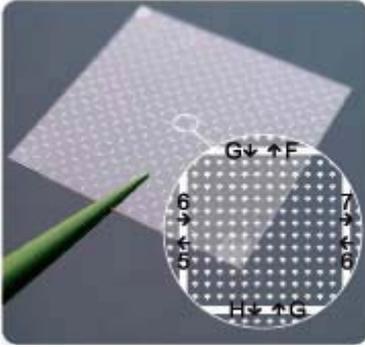


Figure 9: Validation of Oncospheres™ for image-based HCA and direct insight into spheroid response and compound MOA. Differences in local effects of a cytostatic versus a cytotoxic compound can be distinguished. Z' is >0.5 for several parameters. n=27 spheroids in 3 wells

完整精確的數據  
得以分辨藥物作  
用於 外層分裂中  
的細胞, 或是內層  
壞死中的細胞

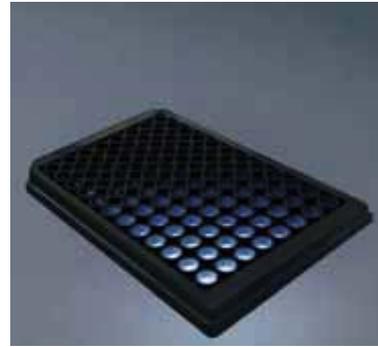
# CYTOO 產品型式

## CYTOOchips™ for research



19.5 mm x 19.5 mm, confocal 等級的玻片，帶有最多高達 20,000 個 micropatterns，排列成方便定位的矩陣，可搭配一搬 6-well plate，35mm dish，或 CYTOOchambers 進行體外培養。

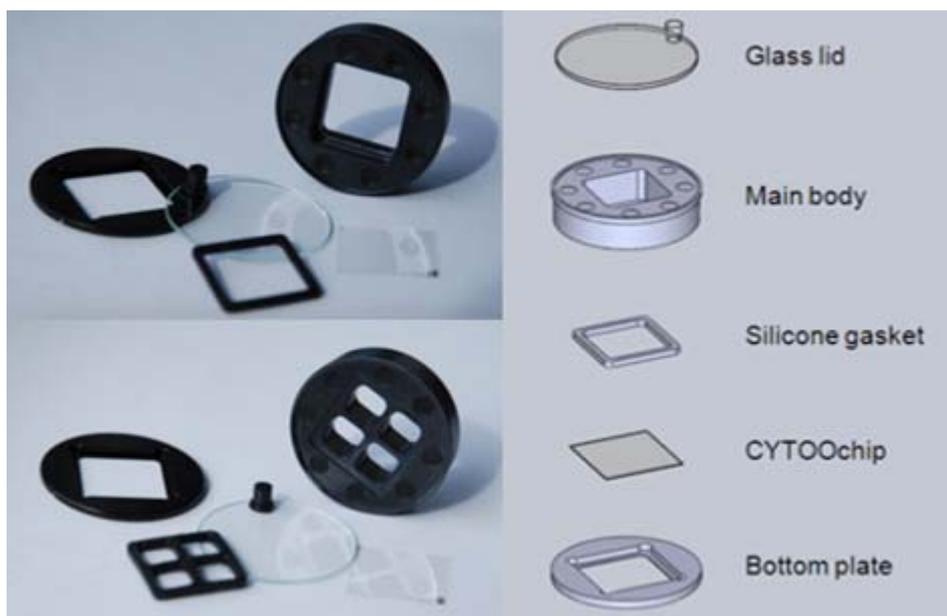
## CYTOOplates™ for screening



玻璃底的96孔盤，最多高達 1,000 micropatterns per well，適合 **HCS assays** 和 **drug screening**，.

## CYTOOchambers™ 1 and 4 wells

另有專用規格的活體影像磁座可供長時間的活體影像擷取



# 細胞遷移簡介

細胞遷移 (cell migration) 泛指細胞由一個位置移動到另一個位置的過程，可以指單細胞生物在環境中的移動，也可以指多細胞生物體內細胞的移動狀態。細胞遷移是反應細胞在該環境下所遇到的狀態，例如：單細胞生物會因為攝食的需求而移動；細胞也可能會遷移至其他的位置，後續發展成新的結構或器官。創傷或是免疫反應產生的物質，也會誘使細胞移動到特定的位置；當然癌細胞也可能透過細胞遷移離開原發器官轉移到其他的位置。

在後續的介紹中，我們將以真核細胞為主介紹細胞遷移。

細胞遷移的模式會因為細胞種類以及其週邊環境而不同。例如不同的細胞就可能有不同的細胞遷移能力，細胞周邊的間質種類、細胞的貼附強度、細胞與細胞間的附著度也都會影響細胞遷移的能力。以免疫細胞為例，免疫細胞內並沒有高度強化的細胞骨架，而且免疫細胞貼性低，能夠在組織間快速移動；有些腫瘤細胞內的細胞骨架並不是很有組織性，也能夠透過細胞膜的延展進行移動；而纖維細胞或上皮細胞大多有強黏著性且具有複雜的細胞骨架，故移動速度相對緩慢。

細胞遷移也會影響胚胎發育型態，在胚胎發育的初期，細胞經過遷移形成內胚層、中胚層、外胚層，而後依據後續其分化的模式，各細胞遷移到不同的目的地，而後繼續分化為各種器官。

另一個顯著的細胞遷移效應是發生在創傷產生或發炎反應，細胞遷移能夠修補傷口並避免感染。當皮膚表面產生傷口時，傷口會觸發訊號，刺激周圍的纖維細胞增生及遷移至傷口處進行修復。傷口產生也可能被微生物感染而產生傷口周圍的發炎反應，發炎的區域會釋放出特殊的訊號吸引免疫細胞往發炎處移動，並針對感染原進行吞噬、溶解等免疫反應。

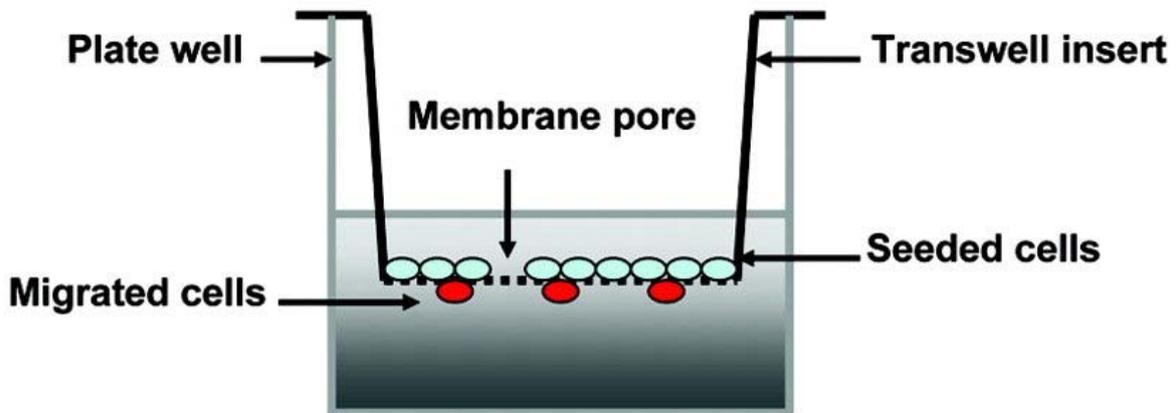
除了正常的細胞遷移以外，另一個研究重心是放在不應該出現的細胞遷移，也就是癌細胞的細胞遷移。有些腫瘤細胞只會在區域局部增生，但是某些腫瘤細胞有可能會侵蝕周圍結締組織，並脫離原來的位置並移轉至其他器官。

目前研究的方向包括了：

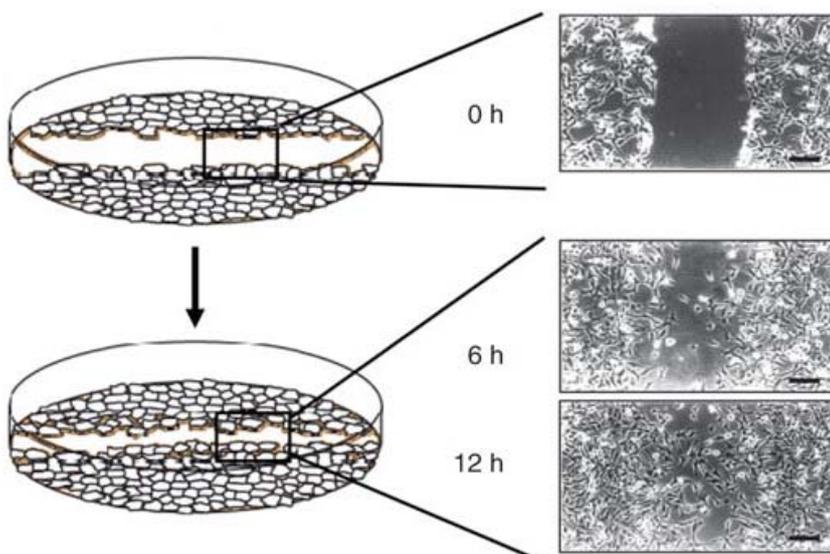
1. 研究藥物是否會抑制或促進細胞遷移，直接以不同濃度或劑量藥物處理細胞，觀察細胞遷移的速率增加或減少，作為評估後續藥品的使用量。
2. 研究細胞對特定方向的趨性，由於創傷產生與發炎反應都會誘發纖維細胞或免疫細胞往目標區域移動，表示細胞可能朝高濃度或低濃度的區域移動。
3. 研究細胞侵蝕的可能性，由於部分腫瘤細胞有可能侵蝕周邊組織或細胞間質，並脫離原來的器官轉移至其他位置。因此可以模擬體內環境，以細胞間質物區隔細胞，並觀察是否侵蝕細胞間質。

## 研究細胞遷移的常用方法

- ▶ Boyden Chamber：又稱為 Transwell。利用  $< 8 \mu\text{m}$ （常用的為  $8 \mu\text{m}$ 、 $3 \mu\text{m}$ 、 $0.4 \mu\text{m}$  孔徑）的多孔性膜作為中間層，將大於孔徑的細胞放入 chamber 內，等細胞移動至多孔膜下方後，移除膜上層 chamber 內的細胞，並對多孔膜下方細胞進行染色觀察，就能夠計算細胞遷移的效果。除了細胞遷移實驗外，只要有多孔膜上方先行放入細胞間質（ex：Matrigel、Collgen I），再加入細胞，由於細胞必須先侵蝕細胞間質才能移動到膜的下方，就能夠觀察細胞侵蝕（cell invasion）的效果。另外，由於多孔性膜也可以隔離 chamber 內外的培養基，Boyden Chamber 也是進行細胞趨性常用的材料之一。
- ▶ 癒合試驗（Wound healing assay）：由於最傳統的作法是在佈滿細胞的平面上劃出線性的缺口，因此又稱為 scratch assay。後續細胞遷移的速率將以創傷面積或距離的減少作為評估，相對於 Boyden Chamber 只能紀錄最終時間點的細胞移動情況，癒合試驗可以在同一個實驗中連續追蹤並紀錄細胞癒合的狀況，減少不同實驗間的差異。傳統的癒合試驗無法先行在細胞周邊包覆 Matrigel 之類的間質，因此無法進行細胞侵蝕相關實驗；也由於傳統使用尖銳物劃出的缺口不大一致，造成後續評估上的困難。後續市面上有許多針對癒合試驗的進行改善、加強的產品，不但能夠增加實驗間的重覆性、穩定度，也能夠進行細胞侵蝕觀察。



Boyden Chamber 示意圖：細胞先放入 chamber 內，待穿越膜上的孔洞後，再計算穿越的細胞數。



癒合試驗：在佈滿細胞的平面上劃出線性的缺口然後在不同的時間點觀察細胞的癒合情況，並計算距離的變化。

Cell culture insert 提供多孔性環境，用於模擬體內環境，提供細胞附著、生長與分化，並作為評估細胞遷移等相關實驗使用。

SPL 提供 0.4  $\mu\text{m}$ 、3  $\mu\text{m}$ 、8  $\mu\text{m}$  三種孔徑，並提供 Polycarbonate (PC)、Polyester (PE)、Polyethylene terephthalate (PET) 三種不同膜材質供實驗選用。

Polycarbonate (PC) 材質具有光滑表面，而且具有半透光特質，在後續染色時不容易因為染劑沾染造成背景污染而干擾後續的判讀。

Polyester (PE) 材質具有良好的有機溶劑耐受度，能夠抵抗化學性侵蝕，並降低蛋白質結合。

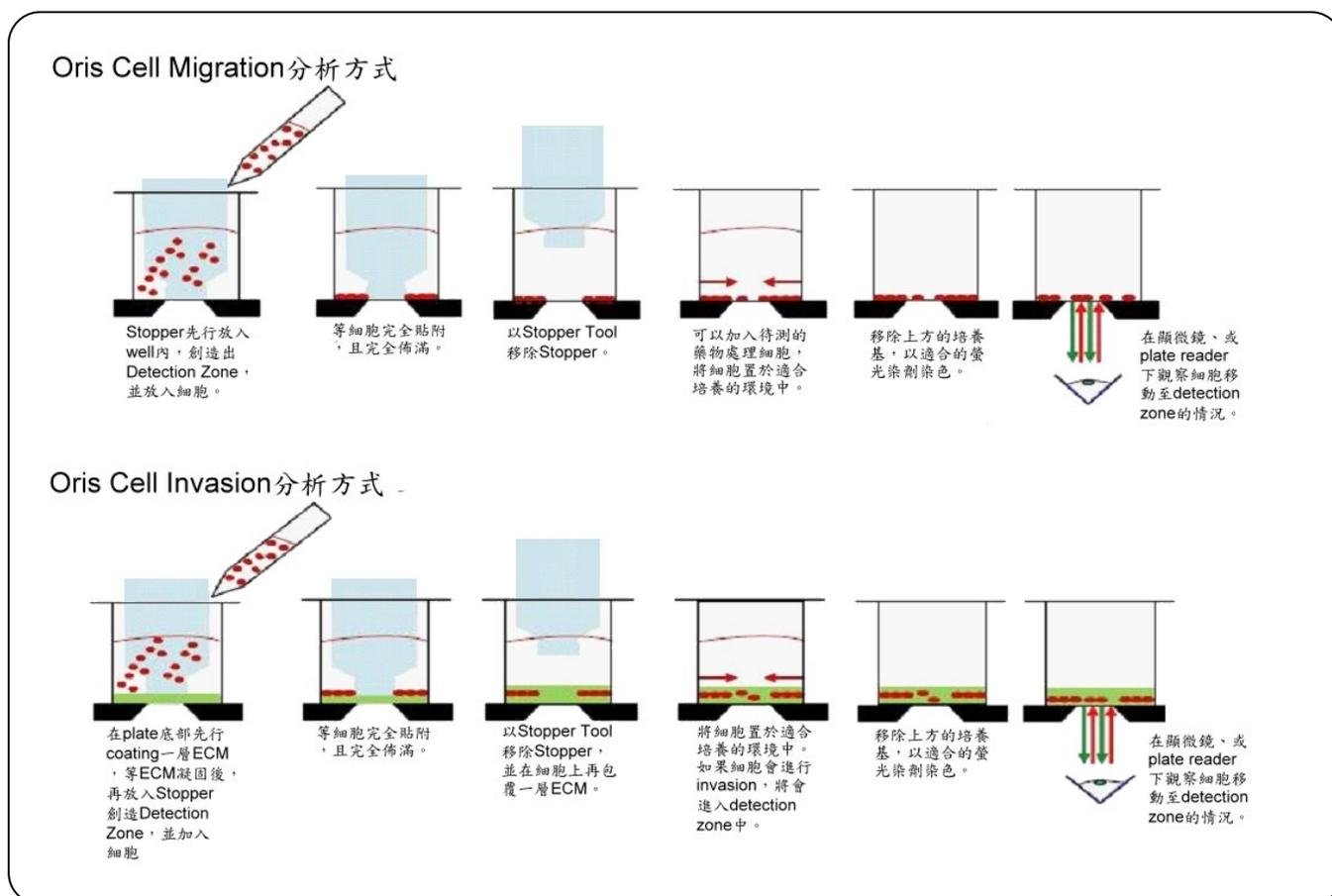
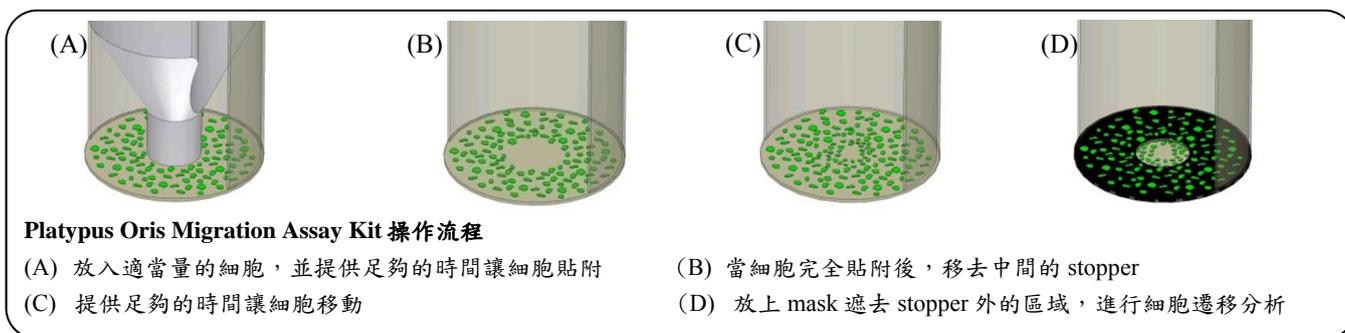
Polyethylene terephthalate (PET) 具有光滑表面及低蛋白結合度，且具有高透光特性，因此非常適合後續用於螢光染色相關實驗。

Catalog No.	膜材質	孔徑 ( $\mu\text{m}$ )	plate 形式	透光度	個數 (盤/箱)
35006	PC	0.4	6 well	不透光 (白色)	6 / 24
35106	PC	3.0	6 well	半透光	6 / 24
35206	PC	8.0	6 well	透光	6 / 24
35024	PC	0.4	24 well	不透光 (白色)	12 / 48
35124	PC	3.0	24 well	半透光	12 / 48
35224	PC	8.0	24 well	透光	12 / 48
36006	PE	0.4	6 well	不透光 (白色)	6 / 24
36106	PE	3.0	6 well	半透光	6 / 24
36206	PE	8.0	6 well	半透光	6 / 24
36024	PE	0.4	24 well	不透光 (白色)	12 / 48
36124	PE	3.0	24 well	半透光	12 / 48
36224	PE	8.0	24 well	半透光	12 / 48
37006	PET	0.4	6 well	透光	6 / 24
37106	PET	3.0	6 well	透光	6 / 24
37206	PET	8.0	6 well	透光	6 / 24
37024	PET	0.4	24 well	透光	12 / 48
37124	PET	3.0	24 well	透光	12 / 48
37224	PET	8.0	24 well	透光	12 / 48



細胞遷移 (cell migration) 是指細胞接收到遷移信號或感受到某些物質的濃度梯度後而產生的移動，在移動過程中，細胞會不斷重複著向前方伸出突觸/偽足，然後牽拉後方胞體朝著特定或非特定方向移動。在細胞移動的過程中有相當多細胞內的蛋白質或蛋白酶同時參與，不斷的改變細胞內細胞骨架的組成使得細胞遷移。由於細胞遷移與胚胎發生、傷口癒癒、感染與免疫反應、以及癌症轉移的生理現象息息相關，因此目前研究細胞遷移也是細胞生理學的重要課題之一。

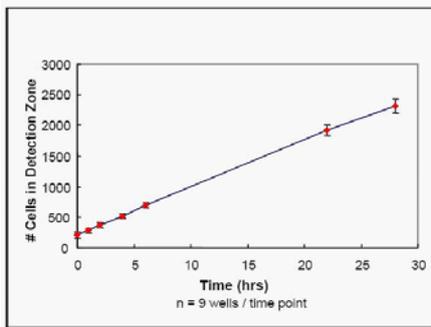
傳統的細胞遷移實驗多半是透過多孔性膜 (transwell membrane) 或是癒合實驗 (Wound Healing assay) 進行評估，但是這些實驗方式都很容易因實驗者的習慣而造成誤差，而且如果需要進行藥物處理時，也無法以上述兩種方式進行大規模評估。**Platypus Oris Cell Migration Assay Kit** 使用 96well plate 培養細胞，並在中央創造一個直徑 2mm 空間讓細胞移動，實驗者可以使用螢光顯微鏡、高通量影像系統 (HCS)、螢光計數器等工具進行細胞數、癒合面積或是螢光讀值量化，並做為細胞遷移實驗的評估依據。



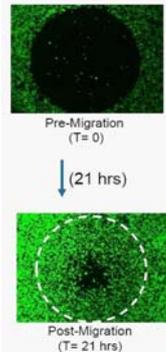
## 如何選擇合適的 Platypus Oris Kit 進行 cell migration assay ?

- Oris™ Cell Migration Assay Kit : stopper 已經在 plate 內，可直接進行細胞遷移實驗。
- Oris™ Cell Migration Assay Kit ( Collagen I or Fibronectin Coated ) : 適用於不易貼附的細胞
- Oris™ Cell Migration Assay Kit ( TriCoated ) : Tissue Treated 、Collagen I Coated 、Fibronectin Coated 各 32 個 well，可用來評估細胞在不同的細胞間質上附著程度與移動速率。
- Oris™ Universal Cell Migration Assembly Kit : Plate 與 Stopper 獨立包裝，適用於 cell invasion 實驗
- Oris™ Cell Migration Assembly Kit - FLEX : 內含 plate x4 與 stopper (24x4)，適合 cell invasion 實驗，也適合需要較多空盤的客戶。

(A) Kinetic Cell Migration



(B) Endpoint Cell Migration



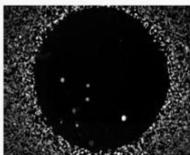
使用 HT-1080 cell 在 Oris Cell Migration Assay Kit 上進行細胞遷移實驗。細胞先以 CellTracker Green 染色，細胞密度訂為  $5 \times 10^5$  cells/mL，每個 well loading 100 $\mu$ L。

(A) 不同時間點計算進入 detection zone 的細胞數

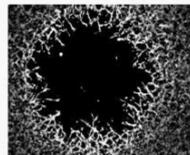
(B) HT-1080 在 pre-migration 與 post-migration 在顯微鏡下的移動狀況

(A)

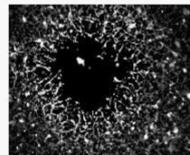
*HT-1080 cell*



T=0 hrs

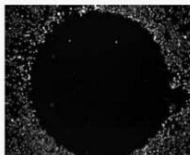


T=48 hrs (no FBS)

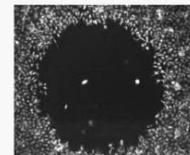


T=48 hrs (10% FBS)

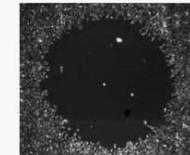
*NIH-3T3 cell*



T=0 hrs



T=48 hrs (no FBS)

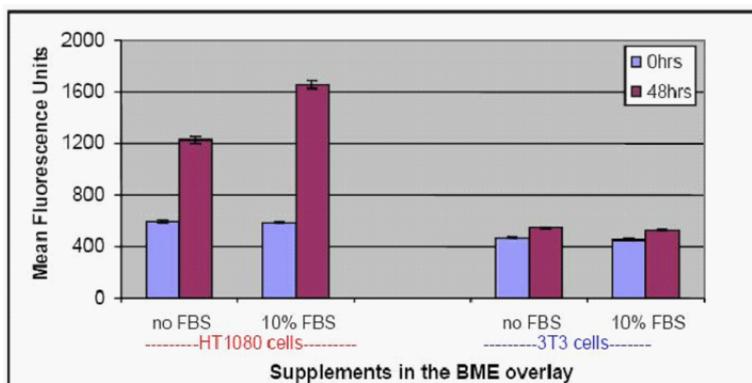


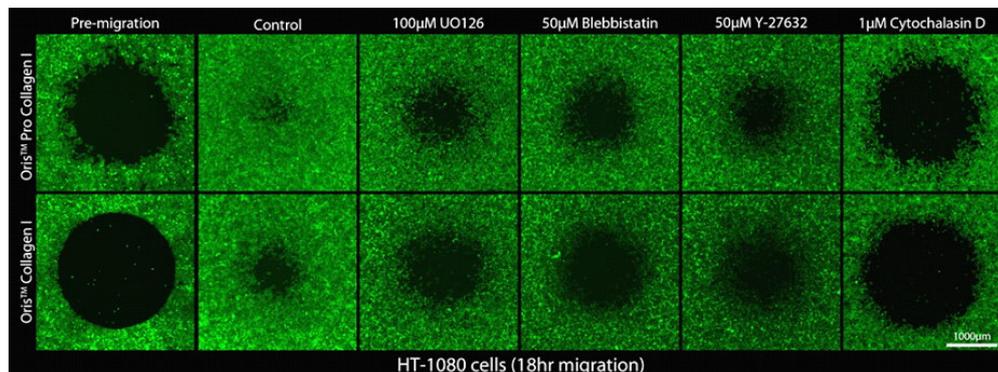
T=48 hrs (10% FBS)

HT-1080 cell 與 NIH-3T3 cell 以 Oris Cell Migration Assembly Kit 進行 cell invasion assay。

實驗進行前先在 plate 底部 coating 一層 BME (3.5mg/mL)，待 BME 凝結後再放入 stopper 創造 detection zone。每個 well 內的細胞數為  $5 \times 10^4$  cells，待細胞貼附後移除 stopper，每個 well 放入 40 $\mu$ L BME (12mg/mL) 包埋細胞，而後分別加入無血清與含 10% FBS 的培養基，48 小時以後觀察其 detection zone 的縮小面積 (A)，或是以 fluorescent reader 直接讀取 detection zone 內被染色細胞的螢光值 (B)。

(B)





分別使用 100µM UO126、50µM Blebbistatin、50µM Y-27632、1µM Cytochalasin D 處理 HT-1080 cell，並觀察其 18 小時後抑制細胞遷移的效果。

## Oris™ Cell Migration Assay Kit 系列

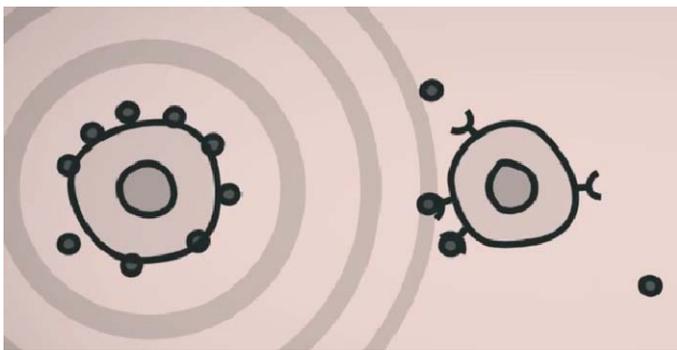
產品編號	產品內容與說明
CMA1.101	Oris™ Cell Migration Assay (Stopper 已在 plate 內，plate 底部為 cell culture treated，另付 stopper tool 與 detection mask)
CMACC1.101	Oris™ Cell Migration Assay Kit - Collagen I Coated (Stopper 已在 plate 內，plate 底部為 Collagen I Coated，另付 stopper tool 與 detection mask)
CMAFN1.101	Oris™ Cell Migration Assay Kit - Fibronectin Coated (Stopper 已在 plate 內，plate 底部為 Fibronectin Coated，另付 stopper tool 與 detection mask)
CMATR1.101	Oris™ Cell Migration Assay Kit - TriCoated (Stopper 已在 plate 內，plate 底部為 Fibronectin Coated，另付 stopper tool 與 detection mask)
CMAUFL4	Oris™ Cell Migration Assembly Kit - FLEX (內含 plate x4 與 stopper 4 包 (24/包)；另付 stopper tool 與 detection mask)
CMAU101	Oris™ Universal Cell Migration Assembly Kit (Plate 與 stopper 分開包裝，另付 stopper tool 與 detection mask)

## Oris™ Pro Cell Migration Assay Kit 系列

產品編號	產品內容與說明
PROCMA1	Oris™ Pro Cell Migration Assay Kit
PROCMACC1	Oris™ Pro Cell Migration Assay Kit - Collagen I Coated
PRO384CMA1	Oris™ Pro 384 Cell Migration Assay Kit
PRO384CMACC1	Oris™ Pro 384 Cell Migration Assay Kit — Collagen I Coated



## CellDirector® 2D 與 CellDirector® 3D 給你全新的 2D 與 3D Chemotaxis 體驗



細胞趨性實驗(Chemotaxis, 又稱為化學趨向性)是指體細胞、細菌或是多細胞生物會因為環境中某些化學物質而有趨向性或遠離性的運動。

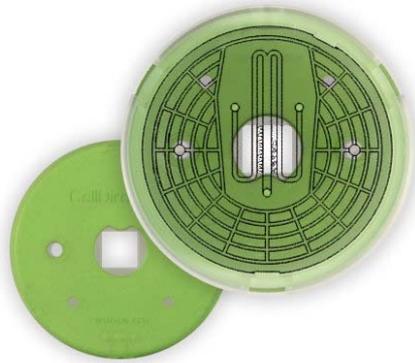
在真核細胞的機制中,細胞膜上有針對特殊化學物質的接受器(ex: VEGF receptor、NGF receptor、FGF receptor 等等),這些接受器能夠偵測環境中訊息傳導分子的濃度梯度,細胞會依據的濃度梯度進行評估,可能趨向或遠離濃度梯度進行移動。當然 Chemotaxis 的實驗不僅僅影響細胞 migration,也影響著細胞分化與器官型態(cell differentiation & organ morphogenesis),因此 Chemotaxis 相關實驗不論是對於基礎研究或是臨床研究都是相當的重要。

在 Chemotaxis 的實驗當中,最難的部分就是如何建立穩定又能夠長期觀察的梯度濃度。最傳統的 Chemotaxis 實驗是使用 transwell membrane 進行,將訊息傳導分子放入 well 中,期待透過 membrane 造成一個濃度梯度。但是這樣的濃度梯度維持的時間相當短,而且無法確實觀測濃度梯度形成的狀況,是否能真實呈現細胞在 in vivo 的趨性狀態,基本上應該要打一個大問號。

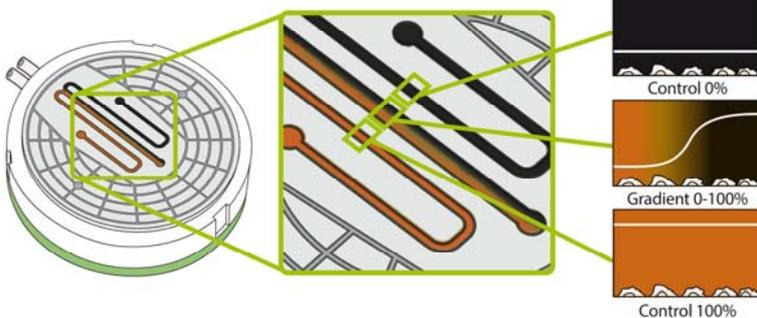
市面上還有其他品牌的 Chemotaxis assay kit,號稱可以建立濃度梯度,但是如果仔細研讀使用手冊就會發現,這些所謂的濃度梯度都是使用擴散的方式建立,因此必須在手冊內固定的時間內觀察,有的濃度梯度建立時間至少要 8 小時以上,有的必須在 3 小時內完成實驗,無法符合所有的細胞進行 Chemotaxis 實驗。

CellDirector 2D 及 3D 能夠在短時間內建立起濃度梯度,而且維持時間長達 16~32 小時,可以根據客戶的需求進行包括 Endothelial cell migration and angiogenesis、Neutrophil migration、Cancer cell migration、Cell differentiation、Organ morphogenesis、Differentiation of stem cells and spheroids、Axon guidance 以及 Angiogenic sprouting 等相關實驗。

Chemotaxis 實驗需求	CellDirector	Transwell membrane	他牌 Chemotaxis Kit
濃度梯度的穩定建立	可立即穩定建立	無法穩定建立	必須在固定的時間內
濃度梯度的長期維持	可維持 36~72 小時	無法長期維持	無法長期維持
能夠判斷細胞移動的方向性	可使用軟體分析細胞移動方向	只能在有限的時間內判斷方向性	可使用軟體分析細胞移動方向
能夠明顯區分 Chemotaxis 與 Chemokinetic 的不同	能夠明顯判斷	無法判斷	可以判斷



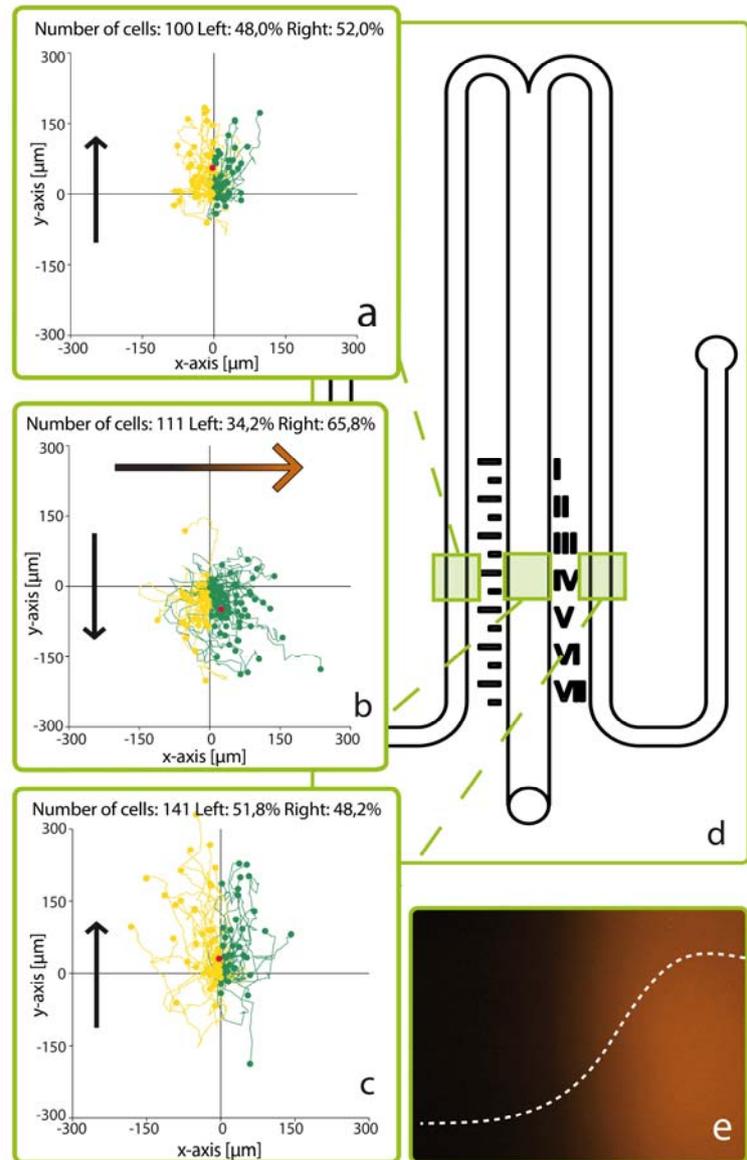
- 適用於 2D Chemotaxis 相關實驗
- 注入培養基同時立即建立濃度梯度，最久可維持 16 小時
- 觀察面為玻璃面，適用於 300nm~1200nm 波長觀察
- 可依據實驗需求，選擇是否 coating ECM
- 可搭配 Gradient Marker 觀察濃度梯度的分佈情況
- 用於 neutrophil migration、cancer cell migration、endothelial cell migration & angiogenesis、cell differentiation。



分別將含有訊息傳遞因子及不含訊息傳遞因子的注入 CellDirector Opal 的兩個通道中，立即在中央通道內形成穩定且持續的濃度梯度。可以分別透過這三個通道觀察細胞在含訊息傳導因子、不含訊息傳導因子以及在濃度梯度環境下的移動情形。

### CellDirector 2D 測試過的細胞株及是否需要 ECM coated

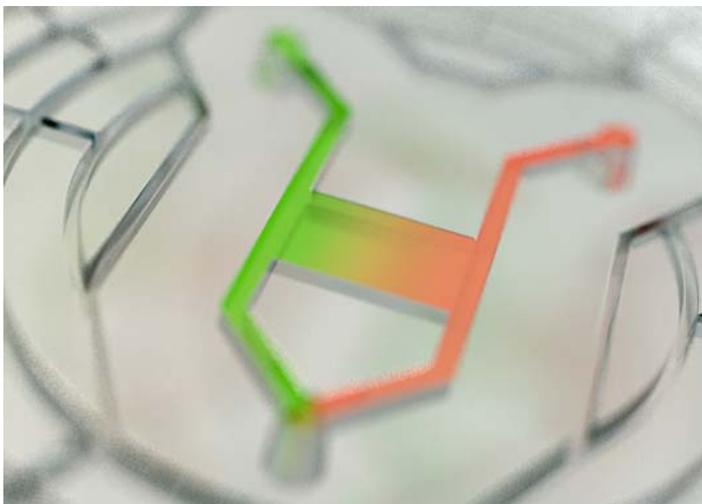
細胞名稱	細胞種類	是否需要 coated
MDA-MB-231	Breast cancer cell line (human)	Collagen, Gelatin
Primary bone marrow	Neutrophils (mouse)	Non-coated
HUVEC	Endothelial (human)	Gelatin
NIH3T3	Fibroblasts (mouse)	Fibronectin
C2C12	Myoblasts (mouse)	Fibronectin
HMVEC	Endothelial (human)	Gelatin
HT1080	Fibrosarcoma (human)	Gelatin
Primary hepatic stellate cell	Myofibroblasts (mouse)	Fibronectin
HASM	Smooth muscle cell (human)	Collagen
Neural crest cell	Stem cells (chicken)	Fibronectin
MSC from rat	Stem cells (rat)	Non-coated
DU145	Prostate cancer cell line (human)	Gelatin
U87	Glioma cells (human)	Collagen



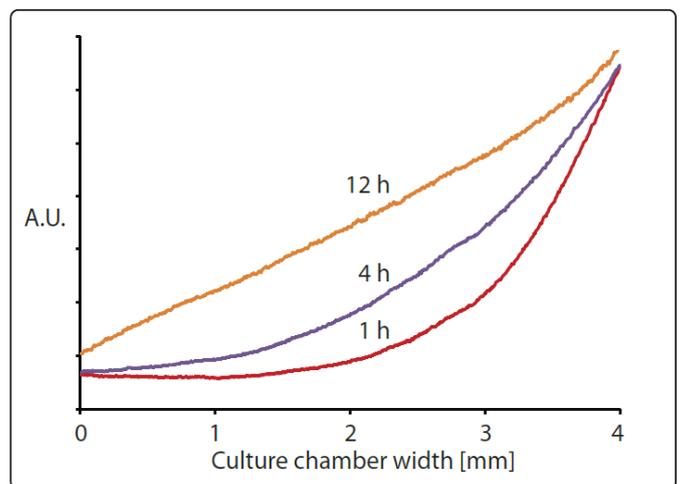
a) Control channel 0ng/mL MIP-2. b) 濃度梯度通道 (gradient channel) 0~50ng/mL MIP-2, MIP-2 濃度由左至右增加. c) Control channel 50ng/mL MIP-2. 在 a、b、c 三圖中黑色箭頭代表培養基流動方向。  
d) 在 CellDirector Opal 可觀察及拍照的區域。  
e) 使用 Gradient Marker TRITC 觀察 gradient channel 的濃度梯度分佈狀況。



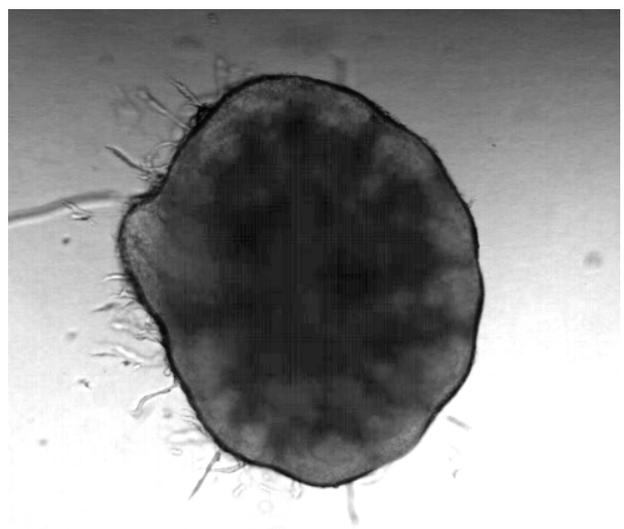
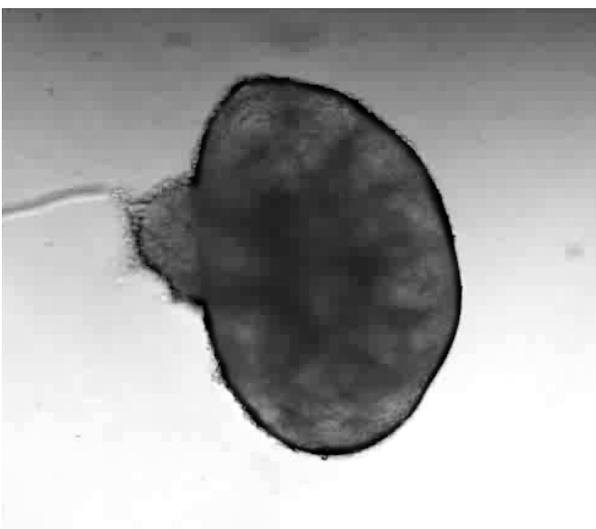
- 適用於 3D Chemotaxis 相關實驗
- 進行 3D cell culture 體積為 8 $\mu$ L
- 雙通道注入培養基 12 小時後建立穩定的濃度梯度，最長可以維持 72 小時
- 觀察面為玻璃面，適用於 300nm~1200nm 波長觀察
- 可搭配 Gradient Marker 觀察濃度梯度建立狀況
- 適用於 Organ morphogenesis、Tumor cells migration、Axon guidance、Differentiation of stem cells and spheroids、Angiogenic sprouting 等相關實驗



CellDirector 3D 建立的濃度梯度呈現型式



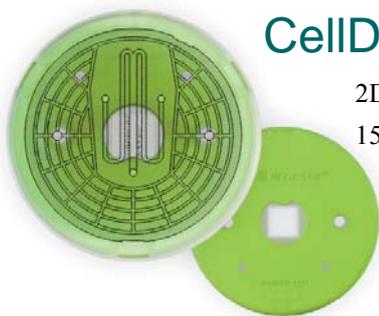
CellDirector Ruby 注入培養基後，在不同的時間點所呈現的濃度梯度。CellDirector Ruby 在 12 小時後建立穩定的濃度梯度。



小鼠胚胎腎臟 (embryonic mouse kidney) 包埋在 CellDirector 3D 建立的 VEGF 0~20ng/mL 濃度梯度中生長，連續觀察 48 小時。在圖片的左方具有較高濃度的 VEGF (20ng/mL)，左方為低濃度 VEGF，比較左圖 (0 小時) 與右圖 (48 小時) 可以發現右圖的高濃度 VEGF 區域有新生成血管。

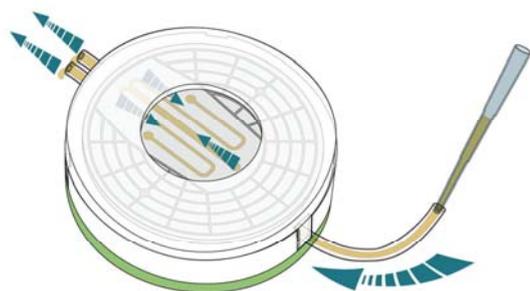
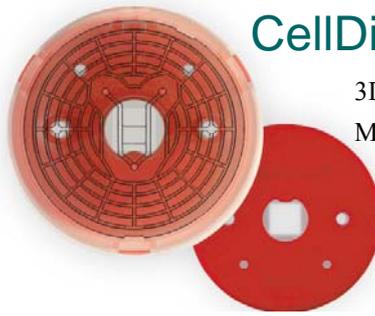
## CellDirector® 2D

2D 細胞趨性實驗  
15 分鐘立即建立的濃度梯度



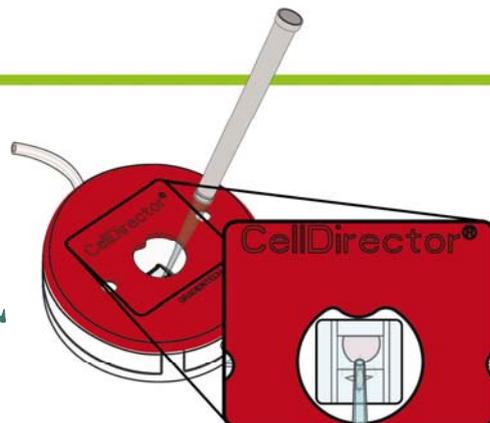
## CellDirector® 3D

3D 細胞趨性實驗  
Morphogenesis 實驗

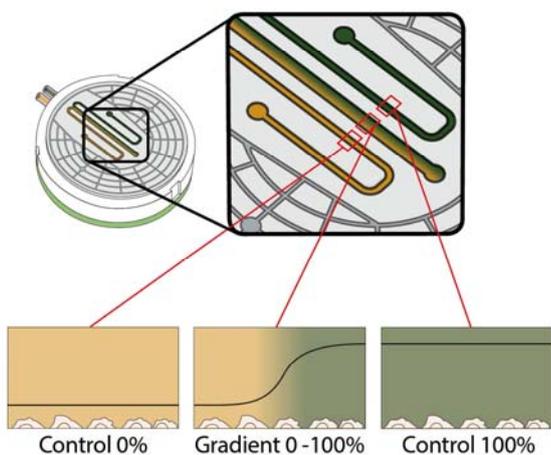


先將細胞打散懸浮，再透過特定的通道注入

### 注入細胞方式

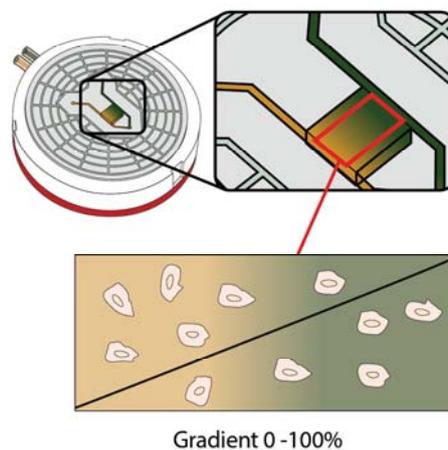


細胞先與 ECM 混合，再注入中央的立體區域



細胞貼附在底部，藉由觀察細胞在中央通道建立的濃度梯度中移動現象，統計細胞在濃度梯度間的細胞趨性。

### 濃度梯度 與 觀察模式



細胞或胚胎器官包埋在 3D 基質中 (ECM)，在基質中建立的線性濃度梯度讓細胞在類似 in vivo 的環境下生長。

Product Name	Catalog Number
CellDirector® 2D	11-001-10 (10 units)
CellDirector Start-Kit 2D	21-001 內含 CellDirector® 2D 20 units、 Gradient Marker FITC 20K (1mL)、 Gradient Marker TRITC 20K (1mL)、 Vacuum 104

Product Name	Catalog Number
CellDirector® 3D	10-001-10 (10 units)
CellDirector Start-Kit 3D	20-001 內含 CellDirector® 3D 20 units、 Gradient Marker FITC 20K (1mL)、 Gradient Marker TRITC 20K (1mL)、 Vacuum 104