

# cellZscope による ヒト皮膚バリア機能の測定

皮膚組織の上皮細胞層は、皮膚バリアとして外部からの病原菌への感染防御や物質の吸収や透過を制御しています。この皮膚バリア機能には、細胞間のタイトジャンクションが大きな役割を果たしていることが知られています。自動モニタリング装置「cellZscope」は、皮膚のバリア機能を経上皮電気抵抗値 (TER) として、リアルタイムに測定する事が可能です。本稿では、初代ヒト皮膚角化細胞を用いた TER の測定の方法とそのポイントについて、順天堂大学の Niyonsaba Francois 先生に測定の実例について教えていただきました。

## 目的

初代ヒト角化細胞における抗菌ペプチドであるヒト  $\beta$ -defensin-3 がタイトジャンクションに与える影響を cellZscope により測定する

## 材料

ヒト初代角化細胞 (クラボウ, Cat#KK-4009)  
増殖培地; HuMedia-KG2 with supplements (クラボウ, Cat#KK-2150S)  
高  $\text{Ca}^{2+}$  培地; 増殖培地 + 1.35mM  $\text{Ca}^{2+}$   
刺激培地; HuMedia-KG2 (without supplements) + 1.35mM  $\text{Ca}^{2+}$

## 方法

### Day 1

- 70-80% の状態の細胞をトリプシン処理により回収する
- 細胞の濃度を  $3.6 \times 10^5$  cells/ml に増殖培地で調製する
- 予め 24-well マルチプレートの各 well に 1.3ml の増殖培地を分注する
- カルチャーインサート (メルクミリポア, Cat#PIHT 12R) をウェルにいれて、200 $\mu$ l の細胞懸濁液を分注する
- 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  インキュベーターで、一晚培養する

### Day 2

- 新しい 24-well マルチウェルプレートの各 well に 1.3ml の増殖培地を分注する
- 培養したカルチャーインサートを新しい増殖培地が入った 24-well プレートに移す
- インサート内の古い培地をアスピレーターで除く
- 200 $\mu$ l の新しい増殖培地をインサート上部に加える
- 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  インキュベーターで更に 2 日間培養する

### Day 4

- 高  $\text{Ca}^{2+}$  培地 1.3ml を新しい 24-well マルチプレートの各 well に分注する
- 培養したカルチャーインサートを 11. で準備したマルチプレートに移す
- インサート内の古い培地をスピレーターで除き、200 $\mu$ l の高  $\text{Ca}^{2+}$  培地を添加する
- 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  インキュベーターで一晩培養する

### ここがポイント!

初代細胞ではロットにより接着率や倍加時間などが異なります。また、ロットにより、細胞層を形成しない場合もあるので注意が必要です。

### ここがポイント!

初代細胞では使用する継代数が重要です。本実験では、3 継代目の細胞を使用しています。



cellZscope 細胞タイトジャンクション  
リアルタイムモニタリングシステム  
(現行モデル cellZscope+)