

接着細胞遊走のマルチフォーマット分析

定量イメージングを用いた自動創傷治癒と
単一細胞トラッキングの統合

著者

Ernest Heimsath, PhD,
Joe Clayton, PhD,
Agilent Technologies, Inc.

概要

細胞遊走は、集団運動と個別運動の双方を捉えるために、直交型の測定手法を必要とする基本的な生物学的プロセスです。従来のスクラッチ創傷治癒アッセイは、手作業によるばらつき、細胞外マトリックス (ECM) の損傷、再現性の低さといった制限を受ける一方、単一細胞遊走分析では、多くの場合、スループットが不足しています。ここでは、Agilent BioTek Cytation 9 細胞イメージング・マルチモードプレートリーダーを使用して、再現性の高い創傷作成および集団細胞遊走分析と単一細胞のカイネティクストラッキングを統合する、自動化ワークフローについて説明します。このような補完的なアッセイフォーマットにより、生理学的に関連性の高い条件下で、創傷閉鎖および個々の細胞の軌跡の堅牢な定量が可能になります。同時に、このアプローチは、細胞遊走および薬理学的反応の多次元分析のための、拡張性と再現性の高い枠組みを提供します。

はじめに

細胞遊走は、組織の構築、免疫の監視、創傷修復、腫瘍の転移を可能にする、厳密に制御された多階層プロセスです^{1~3}。細胞は、生物学的状況に応じて、同調したグループとして集団的に、または自律的な単位として個別に遊走する場合があります、それぞれの状態は、異なる物理的相互作用、シグナル伝達経路、および微小環境への反応により制御されています。したがって、これらの運動を *in vitro* で詳細に調査することは、正常な生理機能、疾患の進行、および治療的調節を理解するのに不可欠です。

創傷治癒アッセイは、その概念が単純であることと、同調した動きを直接測定できることから、集団遊走を研究するための重要な基礎であり続けています⁴。ただし、手作業で実施する場合は、創傷形状の一貫性のなさ、位置の不正確さ、プレートの ECM コーティングの意図的ではない損傷など、大幅な実験的ばらつきが生じます。このような制約により、再現性が制限され、遊走反応での微細ではあるが生物学的には有意である差異が覆い隠されてしまいます。

一方、個々の細胞の動きを追跡するアッセイは、運動性、持続性、化学的または構造的な刺激への反応に関する機構的な知見を提供しますが、集団アッセイとは別に実施されることが多く、スループットの制限や分析者によるバイアスの影響を受ける可能性があります。その結果、単一の遊走形式に依存すると、細胞の運動について不完全または誤解を招くような解釈につながる可能性があります。

遊走の動態をより忠実にモデル化して、運動性の補完的な側面を捉えるためには、標準化されたアッセイの実施、長期的なカイネティクスイメージング、集団レベルと単一細胞レベルの両方での定量分析を組み合わせた統合的なワークフローが必要になります。これらの機能を統合した自動化プラットフォームは、生理学的に関連性の高い *in vitro* システムにおける、細胞遊走の再現性の向上、拡張性の向上、およびより包括的な特性解析への手段を提供します。

実験方法

細胞株

HT-1080 線維肉腫細胞（部品番号 CCL-121）および MCF10A 非腫瘍原性乳腺上皮細胞（部品番号 CRL-10317）は、ATCC（マナサス、バージニア州）から購入しました。核局在型 GFP 蛍光タンパク質（HT-1080）または核局在型 mKate2 蛍光タンパク質（MCF10A）を安定して発現する派生細胞株は、それぞれ eLenti-Green（部品番号 8711010）または eLenti-Red（部品番号 8711011）を用いて、メーカーのガイドライン（アジレント・テクノロジー、サンタクララ、カリフォルニア州）に従って作成しました。

フィブロネクチン ECM コーティング

Agilent 96 ウェルイメージングマイクロプレート（部品番号 204626）を、DPBS で 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に希釈したフィブロネクチン（部品番号 F1141、Sigma-Aldrich、パーリントン、マサチューセッツ州）で 30 分間処理した後、細胞播種前に DPBS で 3 回洗浄しました。

細胞播種

接着性の HT-1080 または MCF10A 培養細胞を、TrypLE Express（部品番号 12605036、Thermo Fisher Scientific、ウォルサム、マサチューセッツ州）を用いて剥離し、300 G で遠心分離して沈殿させてから、1X DPBS に再懸濁しました。細胞を、ランダム遊走アッセイでは 1×10^3 細胞/ウェルの密度で、創傷治癒アッセイでは 2.5×10^4 細胞/ウェルの密度で、96 ウェルプレートに再播種しました。播種後、細胞を室温（RT）で 30 分間フィブロネクチンコーティングされたウェルの下部に付着させた後、37 °C で一晩インキュベーションしました。

サイトカラシン D 処理

サイトカラシン D（CytoD）は、アクチンフィラメントの反矢じり端に結合して、その重合を阻害することにより、最終的に細胞の運動性および遊走を低下させる強力なマイコトキシンです^{5, 6}。各細胞株のそれぞれの培地で CytoD の希釈液を調製し、最終的に 8 段階、1000、316、100、31.6、10、3.16、1、0 nM（溶媒対照群）の濃度系列を作成した。

Agilent BioTek AutoScratch 創傷作成ツール

創傷治癒アッセイは、Agilent 96 ウェルイメージングマイクロプレートで、Agilent BioTek AutoScratch 創傷作成ツールを用いて実施されました。このツールは、マイクロプレート内で培養した細胞単層に、再現性の高いスクラッチ創傷を自動的に作成します。AutoScratch ツールは、ポリテトラフルオロエチレン（テフロン）製のチップを使用しており、ウェルの底部に手作業によりスクラッチ創傷を作成する場合と比較して、下層のEMCコーティング（本研究では、フィブロネクチン）を保持したまま、細胞単層に均一な幅の創傷を作成します（図 3）。最初の創傷が作成された後の洗浄ステップは、最大 2 台のペリスタルティックポンプ（8 チューブディスペンサー）、2 台のシリンジポンプディスペンサー、1 台のストリップウォッシャーを備えたモジュール型試薬ディスペンサーである、Agilent BioTek MultiFlo FX マルチモード・ディスペンサーを使用して実施しました。

カイネティクスイメージング

96 ウェルプレート全体のカイネティクスイメージングは、ランダム遊走アッセイでは 30 分間隔、創傷治癒アッセイでは 1 時間間隔に設定し、アッセイの総時間を 18 時間としました。どちらのアッセイでも、4 倍 (0.13 NA) 対物レンズを使用して、ハイコントラスト明視野および蛍光チャンネル（HT-1080 では GFP、MCF10A では Texas Red）を撮像しました。どちらのアッセイでも、レーザーオートフォーカス機能を有効にし、内因性核蛍光シグナルを使用して、焦点面を設定しました。これらのカイネティクスアッセイでは、Agilent BioTek BioSpa 8 全自動インキュベーターを使用し、イメージングを実施していない間も、37 °C、5 % CO₂ という最適な培養条件を維持しました。

画像処理と細胞解析

分かりやすくするために、以下の手順は、すべてのアッセイに共通するステップと、創傷治癒アッセイまたはランダム遊走アッセイのいずれかに固有のステップにグループ化しています。

- 一般的な画像処理ステップ（すべてのアッセイ）：
 - すべての画像処理および解析ステップは、Agilent BioTek Gen5 ソフトウェアを用いて実施しました。
 - 初期のカイネティクスアライメントおよびデータ処理のステップでは、ハイコントラスト明視野チャンネルを使用しました。
- 創傷治癒アッセイ固有の解析：創傷治癒アッセイは、ハイスループットの 96 ウェルマイクロプレートフォーマットに適合させ、以前の研究^{8, 9} および以下の説明に従って実施しました。
 - 細胞解析には、ハイコントラスト明視野チャンネルの画像を使用しました。

- ハイコントラスト明視野チャンネルの画像に対して、バックグラウンドを [Dark (暗)] に設定し、前処理の Background reduction (25 μm rolling ball) を適用しました。
- 細胞解析は、Background reduction 済み (Tsf) の画像セットに対して、以下のパラメーターを用いて実施しました。
 - Threshold : 1250
 - BackgroundDark (暗)
 - Split touching objects : 選択解除
 - Object selection size range : 500 ~ 100,000 μm²
 - Advanced detection : Image smoothing strength を [20] に設定
- カイネティクス細胞面積被覆値 (Object Sum Area) を用いて、次の式により経時的な創傷閉鎖を計算しました。

$$C_t = \frac{(\text{Object Sum Area}_t - \text{Object Sum Area}_0) \times 10}{I_A - \text{Object Sum Area}_0}$$

C_t は経時的な創傷コンフルエンスの割合、Object Sum Area_t は各タイムポイントにおける細胞の被覆面積、Object Sum Area₀ はタイムポイント 0 における細胞の初期面積、I_A は画像の総面積です。

- ランダム遊走アッセイ固有の解析：ランダム遊走アッセイは、ハイスループットの 96 ウェルマイクロプレートフォーマットに適合させ、以前の研究⁷ および以下の説明に従って実施しました。
 - 細胞解析には、蛍光チャンネルの画像を使用しました。
 - 蛍光チャンネルの画像（HT-1080 では GFP、MCF10A では Texas Red）に対して、前処理の Background reduction (25 μm rolling ball) を適用しました。
 - 細胞の動きは、核に局在する蛍光シグナルを用いて、一次マスクを設定することにより測定しました。
 - Agilent BioTek Gen5 オブジェクトトラッキングモジュールを使用して、検索半径 (Search radius) を 50 μm (核の直径の約 2 倍) に設定しました。
 - 可能な限りすべての対象物を含めるために、対象物の最小ライフサイクル (Minimum life-time) を 2 フレームに設定し、さらに Subpopulation 解析により、18 時間以上追跡された対象物に対するデータに絞り込みました。

結果と考察

AutoScratch 創傷作成ツールは、均一な創傷を作成しながら、ECM コーティングの完全性を維持します。

AutoScratch 創傷作成ツールは、マイクロプレートウェルの底部に形成された細胞単層に、一貫性があり再現性の高いスクラッチ創傷を作成する自動化ツールです^{8, 9}。このツールは、96 ウェルマイクロプレートの各列に対応するように配置された 8 本のピンを収容するマニホールドにより、構成されています。起動すると、マニホールドは、マイクロプレートの最初の列の上に配置され、ピンが細胞単層に接触するように下降して、

ウェルの中央に創傷を作成します。この操作が、マイクロプレートのすべての列に対して繰り返されます (図 1)。

AutoScratch ツールは、幅とウェルの位置が均一な創傷を各ウェルに作成します。最適なアッセイ結果を得るためには、スクラッチ創傷作成中に発生した細胞残屑を除去するための、スクラッチ創傷作成後の洗浄ステップが必要になります。このステップは、マルチチャンネルピペットを使用して手作業により実施するか、または MultiFlo FX マルチモード・ディスペンサー用に開発された全自動処理を使用して実施することができます (図 2)。

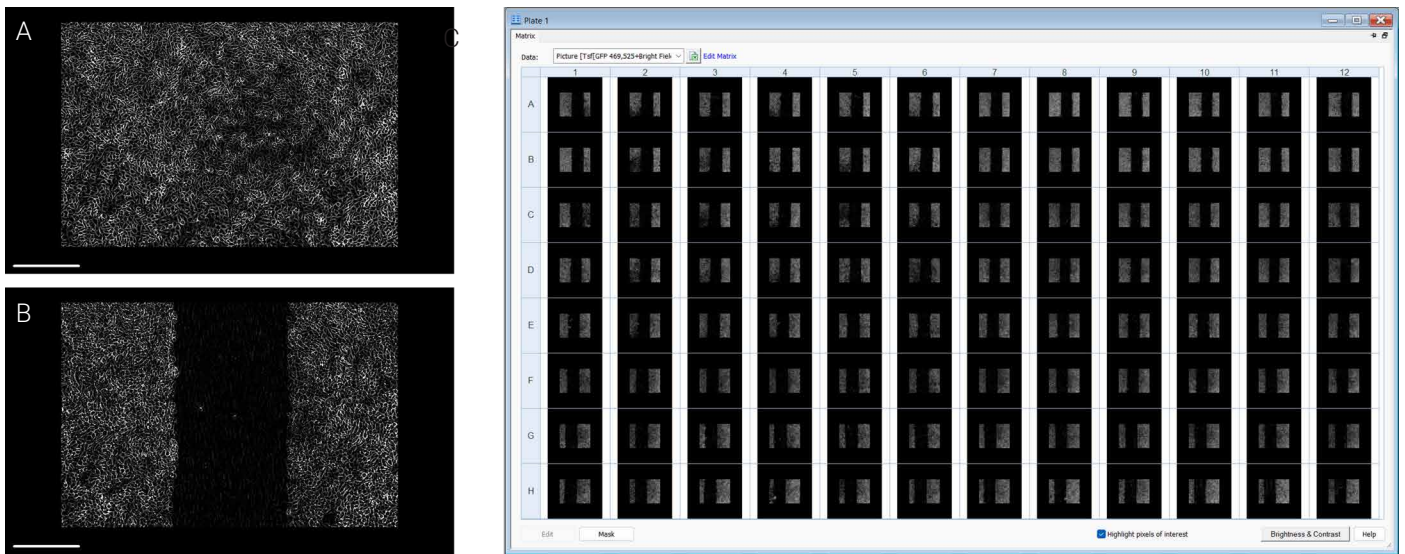


図 1. Agilent BioTek AutoScratch 創傷作成ツールは、一貫性があり再現性の高いスクラッチ創傷を作成する自動化ツールです。(A) AutoScratch 創傷作成ツールを適用する前の HT-1080 単層の画像。(B) (A) と同じウェルにおいて、テフロンチップを用いて創傷を作成した後の画像。スケールバー = 500 μ m。(C) 創傷に一貫性があり再現性が高いことを示す、96 ウェルマイクロプレートのマップビュー

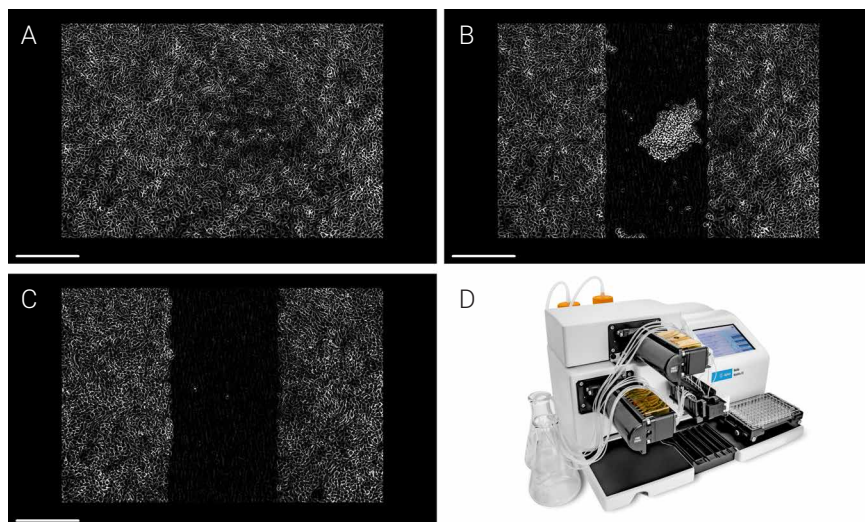


図 2. Agilent BioTek AutoScratch 創傷作成ツールから細胞残屑を除去する作業は、Agilent BioTek MultiFlo FX マルチモード・ディスペンサーを用いて自動化することができます。(A) スクラッチ創傷作成前の HT-1080 細胞の単層。(B) AutoScratch テフロンピンを適用した後の (A) と同じウェル。細胞残屑が残っており、正確な解析を実施するために除去する必要があります。(C) MultiFlo FX (D) による自動洗浄後の (A) および (B) と同じウェル。スケールバー：(A) ~ (C) = 500 μ m

ECM コーティングされたマイクロプレートを用いた創傷作成に対する AutoScratch の適合性の確認

ECM は、細胞の遊走と運動性を促進する、生物学的に関連性の高い足場を提供します。したがって、創傷治癒アッセイが *in vivo* 条件を再現するためには、創傷作成中に ECM が完全な状態であり続けることがきわめて重要になります。ただし、手作業による創傷作成技法では、ECM が破壊されたり、大部分が除去されたりする傾向があります。AutoScratch システムが、底部の ECM を破壊することなく、正確で再現性の高い創傷を作成できることを実証するために、蛍光標識フィブロネクチン (FITC) を使用して、96 ウェルプレートの培養領域をコーティングしました。最初に、P200 ピペットチップを用いて、ウェルの底部に手作業により水平方向のスクラッチ創傷を作成しましたが、標識されたフィブロネクチンコーティングが明らかに破壊されました (図 3A)。一方、AutoScratch ツールを用いて、同じウェルに垂直方向のスクラッチ創傷を作成したところ (図 3B)、AutoScratch ピンのテフロン材料が、コーティングされた ECM の損傷を最小限に抑えることが実証されました。

フィブロネクチン ECM の存在および既知の細胞骨格かく乱剤による処理に対して、HT-1080 および MCF10A は異なる創傷治癒特性を示します。

Cytation 9 細胞イメージング・マルチモードプレートリーダーと Agilent BioTek BioSpa 8 全自動インキュベーターを組み合わせることにより、創傷治癒プロセスの全経時変化を捉える、適切で長期的なイメージングが可能になります。AutoScratch ツールと組み合わせ、ECM コーティングが創傷閉鎖速度に及ぼす影響の比較解析を実施しました。フィブロネクチンコーティング上に播種した HT-1080 細胞は、底部の ECM が存在しない場合と比較して、より速い速度で創傷閉鎖を示すことが観察されました (図 3C および D)。

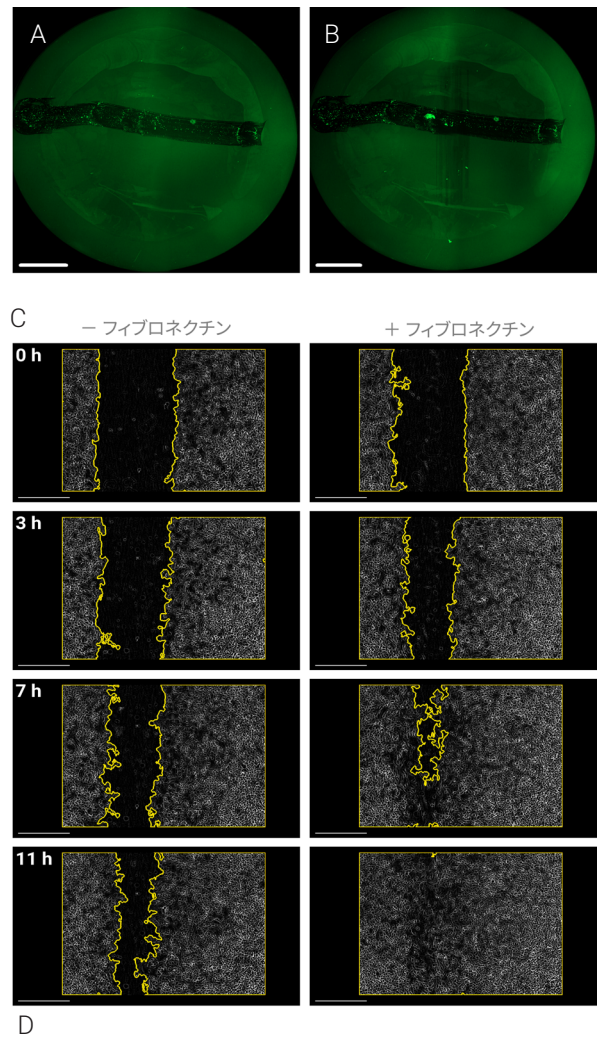


図 3. Agilent BioTek AutoScratch 創傷作成ツールは、フィブロネクチン ECM コーティングの完全性を維持し、HT-1080 細胞における創傷閉鎖を促進します。(A) FITC フィブロネクチン (緑) でコーティングされた 96 ウェルマイクロプレートウェルの 2 × 2 ステッチング合成画像。ウェルに対して水平方向に手作業によりスクラッチ創傷を作成し、コーティングを破壊しました。(B) AutoScratch テフロンピンを適用した後の (A) と同じウェル。スケールバー = 1000 μm。(C) マイクロプレートウェルに対する 10 μg/mL のフィブロネクチン ECM プレコーティングが存在する場合 (右) と存在しない場合 (左) における HT-1080 単層の創傷閉鎖を示す、選択されたタイムラプスフレーム。黄色の線は、(B) に示された全タイムラプス期間における % 創傷閉鎖を定量するために使用されたマスク領域を示します。スケールバー = 500 μm。(D) フィブロネクチン ECM が存在する場合 (緑) と存在しない場合 (赤) における HT-1080 の創傷閉鎖速度の定量比較

次に、アクチンフィラメントの重合を阻害して、細胞の運動性および遊走を阻害することが十分に特性解析されている、強力なマイコトキシンであるサイトカラシン D (CytoD) の希釈系列で処理することにより、HT-1080 の潜在的な運動性を調査対象にしました^{5, 6}。フィブロネクチン ECM コーティングが存在しない場合、HT-1080 細胞は、18 時間のアッセイ期間内に単層で創傷を閉鎖する可能性があります (図 4A)、これは CytoD により用量に依存して阻害され、IC₅₀ は 58.2 nM でした (図

4D)。フィブロネクチンコーティングされた条件下では、コーティングされていない条件の場合と比較して、HT-1080 の創傷閉鎖速度が速くなることが観察されました。ただし、それぞれの 100 % 創傷閉鎖時間を比較すると、フィブロネクチンコーティングが存在するかしないかに関係なく、HT-1080 の創傷閉鎖速度は、CytoD による阻害に対して同等の感度を維持していました (図 4C および D)。

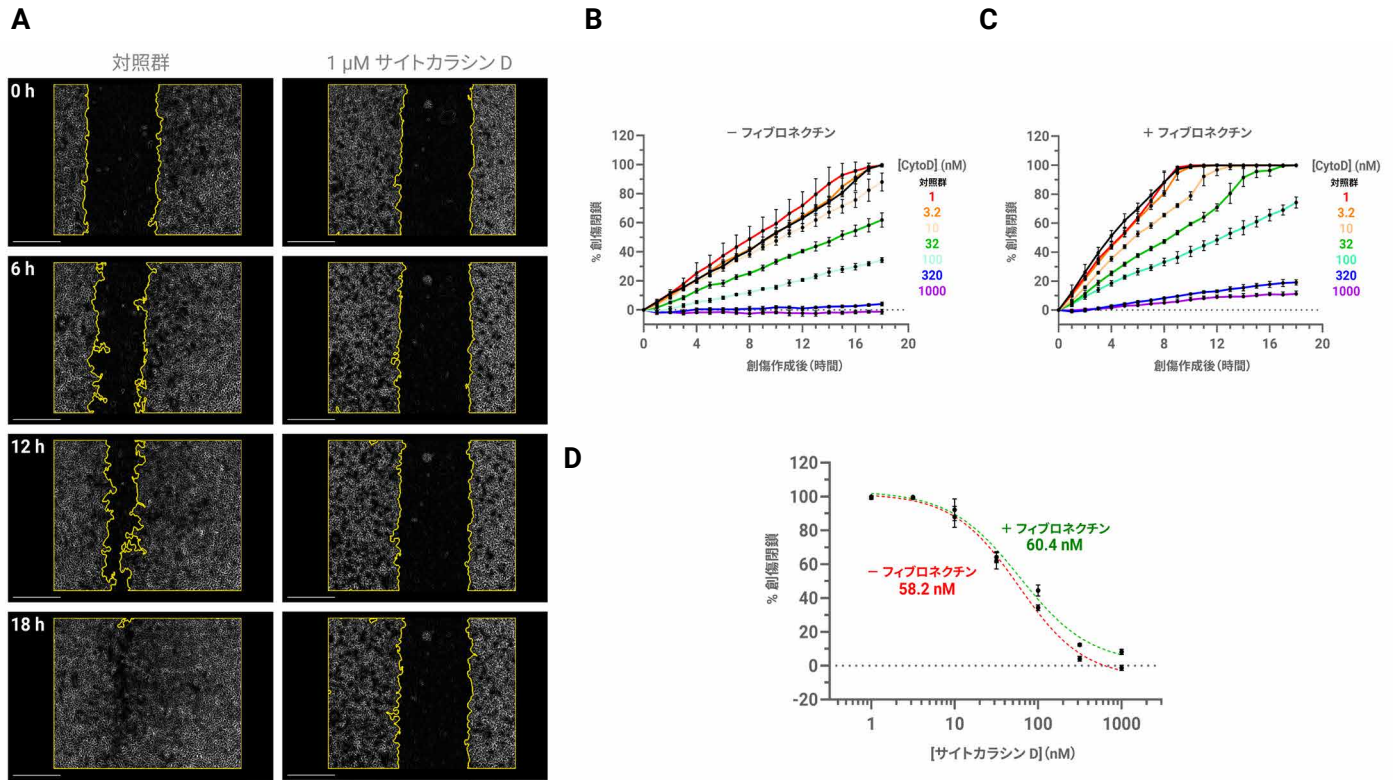


図 4. サイトカラシン D は、HT-1080 細胞単層における創傷閉鎖を阻害します。(A) 底部のフィブロネクチン ECM が存在しない状態で、1 mM サイトカラシンが存在する場合 (右) と存在しない場合 (左) における HT-1080 単層の創傷閉鎖を示す、選択したタイムラプスフレーム。スケールバー = 500 μm。黄色の線は、(B) フィブロネクチン ECM が存在しない場合、および (C) フィブロネクチン ECM が存在する場合に示された、全タイムラプス期間における % 創傷閉鎖を定量するために使用されたマスク領域を示しており、これは対照群が 100 % の閉鎖状態に戻るまでの期間です。(D) 対照群でのそれぞれの 100 % 閉鎖時間において、下層のフィブロネクチン ECM が存在する場合または存在しない場合の HT-1080 の % 創傷閉鎖に対するサイトカラシン D の用量反応。IC₅₀ も併せて示しています。

HT-1080 線維芽細胞由来の細胞株に加え、上皮由来の MCF10A 細胞株を用いた創傷治癒アッセイも、正常に実施することができました。興味深いことに、MCF10A の創傷閉鎖速度は、フィブロネクチン ECM コーティングの存在による影響をほとんど受けておらず (図 5A)、フィブロネクチンは、CytoD の感度に影響を与えていないように見えました (図 5B)。ただし、MCF10A では HT-1080 よりも、IC₅₀ 値が有意に高くなっています (図 4D および 5B)。

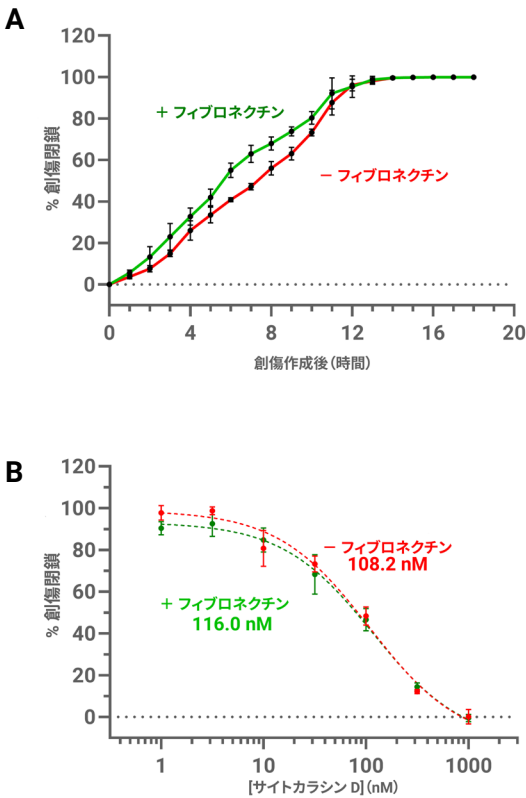


図 5. MCF10A 上皮細胞は、フィブロネクチン ECM が存在するかしないかに関係なく、同等の創傷閉鎖速度およびサイトカラシン D 感度を維持しています。(A) MCF10A 乳腺上皮細胞では、フィブロネクチン ECM 上に播種した際に、創傷閉鎖速度は増加しませんでした。(B) それぞれの 100% 閉鎖時間において、フィブロネクチン ECM が存在する場合 (緑) と存在しない場合 (赤) の MCF10A の % 創傷閉鎖に対するサイトカラシン D 感度の比較。IC₅₀ 値も併せて示しています。

HT-1080 線維芽細胞と MCF10A 上皮細胞の間での ECM の有無による単一細胞遊走の差異

集団遊走の測定に加え、ECM により調節された条件下での固有の単一細胞運動性を評価するために、ランダム遊走アッセイを実施しました。Cytation 9 と BioSpa 8 全自動インキュベーターを組み合わせて使用することにより、96 ウェルマイクロプレートフォーマットでタイムラプスイメージングを実施し、Gen5 オブジェクトトラッキング解析により、遊走

速度を定量しました。フィブロネクチン ECM コーティング単体での影響を評価したところ、HT-1080 線維芽細胞では、コーティングされていない条件の場合 (11.2 $\mu\text{m/hr}$) と比較して、フィブロネクチンコーティングされた表面上で遊走速度が増加しました (19.7 $\mu\text{m/hr}$)。その一方、MCF10A 上皮細胞では、ECM が存在しない場合 (33.5 $\mu\text{m/hr}$) と比較して、フィブロネクチンが存在する場合は遊走速度が低下しました (24.1 $\mu\text{m/hr}$) (図 6)。これらの結果は、ECM の状況が固有の遊走運動を調節する仕組みにおいて、細胞種固有の差異が存在することを示しています。

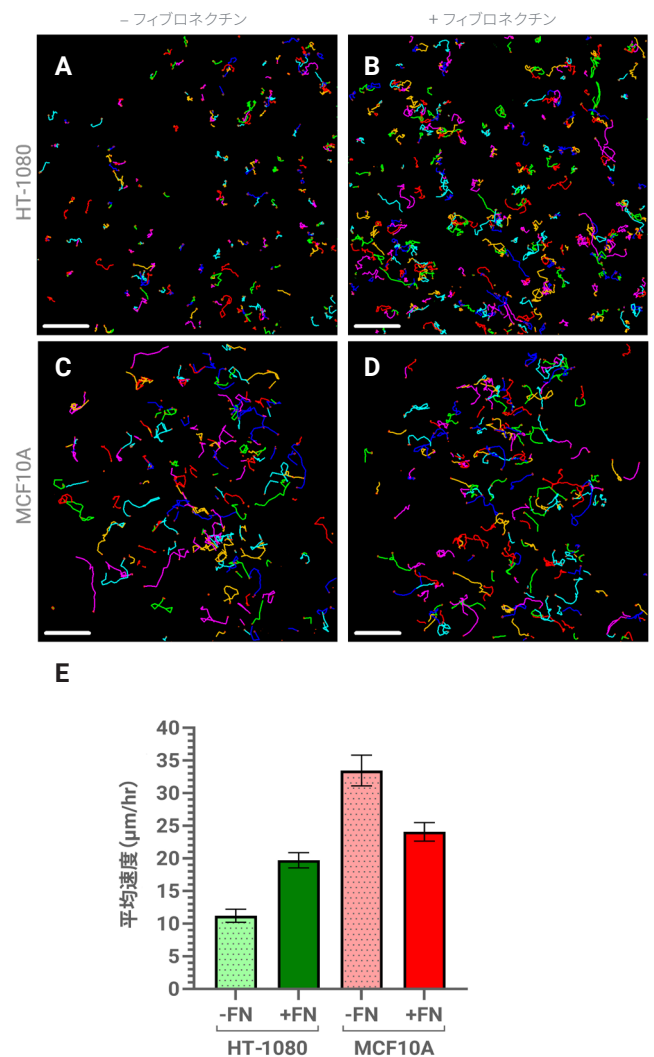


図 6. フィブロネクチン ECM が、HT-1080 細胞および MCF10A 細胞のランダム遊走カインेटクスアッセイに及ぼす影響。フィブロネクチン ECM が存在しない場合と存在する場合における、18 時間後の HT-1080 細胞 (A および B) および MCF10A 細胞 (C および D) の遊走軌跡。スケールバー = 500 μm 。(E) フィブロネクチン ECM が存在する場合と存在しない場合における、HT-1080 細胞および MCF10A 細胞の平均速度

次に、ECM コーティングされた条件およびコーティングされていない条件下における、サイトカラシン D に対する遊走反応を評価しました (図 7)。HT-1080 細胞の場合、フィブロネクチン上での遊走の強化に伴い、阻害に対する感受性が低下しており、 IC_{50} は ECM が存在しない場合の 149.2 nM から、フィブロネクチン上では 223.8 nM へとシフトしました (図 7E)。一方、MCF10A 細胞では、フィブロネクチン上での遊走速度は低下しましたが、ECM コーティングされた条件下での阻害に対する感

度 ($IC_{50} = 243.0$ nM) は、ECM が存在しない場合 (113.6 nM) よりも低下していました (図 7F)。これらの結果を総合すると、フィブロネクチン ECM は、線維芽細胞由来の細胞株と上皮由来の細胞株において、ランダム遊走のカイネティクスと阻害剤の感度を異なる形で調節していることが示され、単一細胞の運動性の測定を解釈する際に、ECM の環境が重要であることが改めて強調されています。

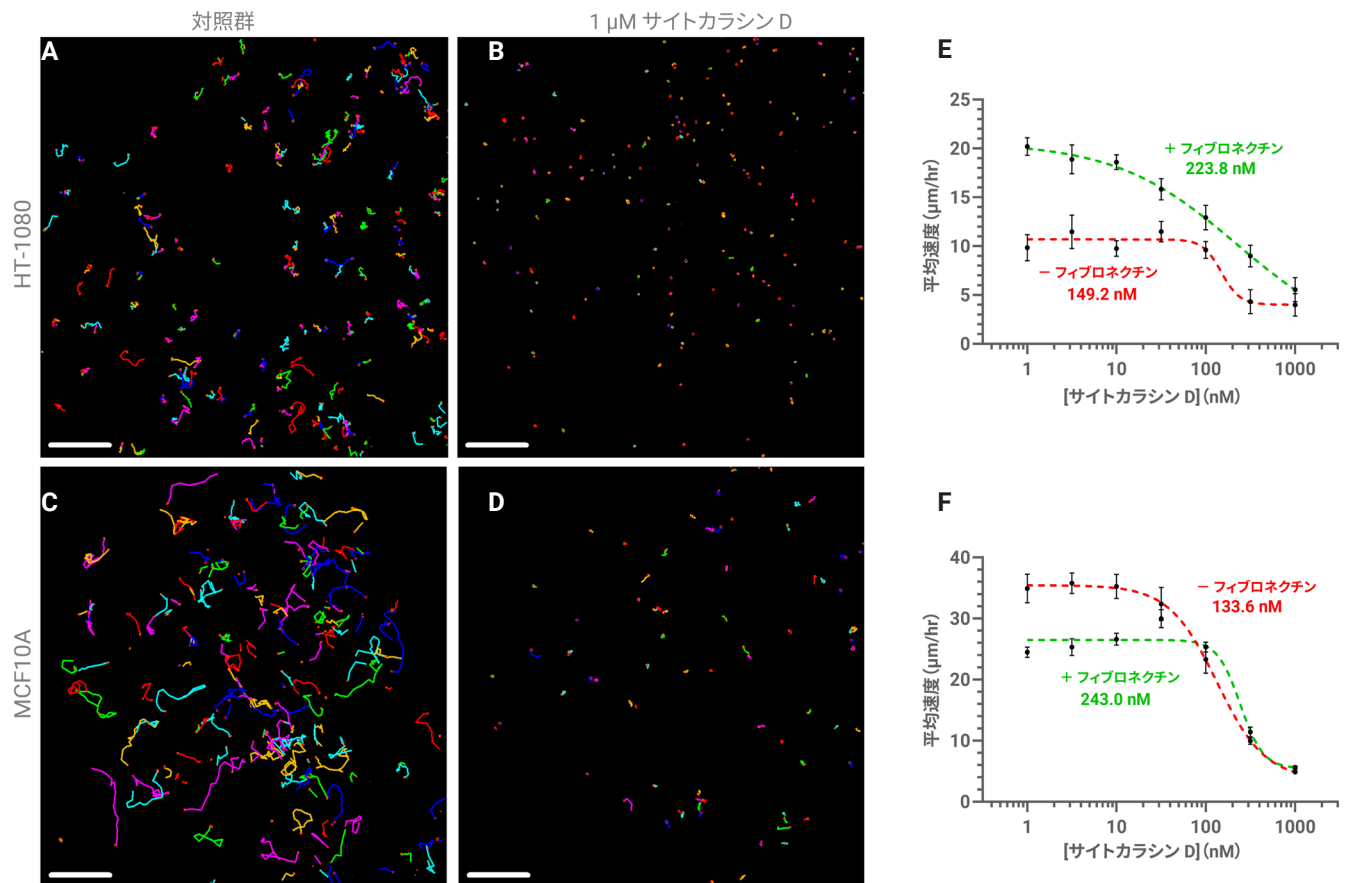


図 7. HT-1080 細胞および MCF10A 細胞のランダム遊走カイネティクスアッセイ。1 mM サイトカラシン D が存在しない場合と存在する場合における、18 時間後の HT-1080 細胞 (A および B) および MCF10A 細胞 (C および D) の遊走軌跡。スケールバー = 500 μm。フィブロネクチン ECM が存在する場合と存在しない場合における、18 時間後の HT-1080 (E) または MCF10A (F) の平均速度に対するサイトカラシン D の用量反応。それぞれの IC_{50} 値も併せて示しています。

まとめ

細胞遊走は、集団運動と単一細胞運動の基礎となる別個のメカニズムにより制御される、マルチスケールで状況依存的なプロセスです。このアプリケーションノートでは、単一ワークフロー内で直交型の遊走アッセイを組み合わせることにより、個々のアプローチに依存する場合よりも、遊走表現型をより包括的に特性解析することが可能になることを実証しました。Agilent BioTek Cytation 9 細胞イメージング・マルチモードプレートリーダーを用いて自動創傷治癒アッセイとランダム遊走分析を組み合わせることにより、同等の実験および分析条件下で、集団レベルの同調性と固有の単一細胞運動性を並行して評価することができます。

線維芽細胞由来の細胞株と上皮細胞由来の細胞株の間で観察された差異は、細胞の種類と細胞外マトリックスとの相互作用が、遊走運動および薬理的応答に影響を与えることを明確に示しています。創傷閉鎖とランダム遊走の測定結果に差異が存在することは、遊走速度、同調性、障害剤感度といった指標が、アッセイや状況に依存することを明確に示しており、適切な生物学および微小環境の枠組み内で結果を解釈することの重要性を強調しています。

方法論的には、Cytation 9 細胞イメージング・マルチモードプレートリーダーと Agilent BioTek BioSpa 8 全自動インキュベーターを統合することにより、制御された条件下での安定した長期的なカイネティクスイメージングが可能になると同時に、Agilent BioTek Gen5 ソフトウェアでの標準化された測定および解析により、アッセイ全体での一貫性と再現性の向上が促進されます。Agilent BioTek Gen5 オブジェクトトラッキングモジュールは、個々の細胞の軌跡の堅牢な定量をさらに支援し、集団遊走とは異なるメカニズムにより制御される遊走運動の評価を容易にします。これらの相互に補完し合う機能は、生理学的に関連性の高い *in vitro* モデルにおける細胞遊走の多次元分析や薬理的摂動の比較評価のための、実用的で再現性の高い枠組みを提供します。

参考文献

1. SenGupta, S.; Parent, C.A.; and Bear, J.E. The Principles of Directed Cell Migration. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2021**, *22*, 529–547. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00366-6>
2. Wu, C.; Asokan, S.B.; Berginski, M.E.; Haynes, E.M.; Sharpless, N.E.; Griffith, J.D.; Gomez, S.M.; and Bear, J.E. Arp2/3 Is Critical for Lamellipodia and Response to Extracellular Matrix Cues But Is Dispensable for Chemotaxis. *Cell* **2012**, *148*(5), 973987. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.12.034>
3. Rotty, J.D.; Brighton, H.E.; Craig, S.L.; Asokan, S.B.; Cheng, N.; Ting, J.P.; and Bear, J.E. Arp2/3 Complex Is Required for Macrophage Integrin Functions But Is Dispensable for FcR Phagocytosis and In Vivo Motility. *Dev Cell* **2017**, *42*(5), 498–513. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.08.003>
4. Jonkman, J. E.; Cathcart, J. A.; Xu, F.; Bartolini, M. E.; Amon, J. E.; Stevens, K. M.; Colarusso, P. An Introduction to the Wound Healing Assay Using Live-Cell Microscopy. *Cell Adhes. Migr.* **2014**, *8*(5), 440–451. DOI: <https://doi.org/10.4161/cam.36224>
5. Carlier, M.F.; Criquet, P.; Pantaloni, D.; Korn, E.D. Interaction of Cytochalasin D with Actin Filaments in the Presence of ADP and ATP. *J Biol Chem.* **1986**, *261*(5):204–50. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)35894-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)35894-5)
6. Hayot, C.; Debeir, O.; van Ham, P.; van Damme, M.; Kiss, R.; Decaestecker, C. Characterization of the Activities of Actin-Affecting Drugs on Tumor Cell Migration. *Toxicol Appl Pharmacol.* **2005**, *211*(1):30–40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.06.006>
7. Heimsath, E.G. [Automated High-Throughput Imaging and Analysis of Cell Migration](#). Agilent Technologies, Inc. **2023**, 5994-5600EN.
8. Larson, B. [Incorporation of a Novel, Automated Scratch Tool and Kinetic Label-Free Imaging to Perform Wound Healing Assays](#). Agilent Technologies, Inc. **2021**, 5994-2585EN.
9. Larson, B. [Advanced Wound Healing Assay Workflow using Automated Scratch Wound Creation, High Contrast Brightfield and Fluorescence Kinetic Imaging](#). Agilent Technologies, Inc. **2021**, 5994-2397EN.

このアプリケーションで使用した製品

アジレント製品

BioTek Cytation 9 細胞イメージング・マルチモードプレートリーダー [🔗](#)

BioTek AutoScratch 創傷作成ツール [🔗](#)

BioTek BioSpa 8 全自動インキュベーター [🔗](#)

BioTek MultiFlo FX マルチモード・ディスペンサー [🔗](#)

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE-014355

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2026
Printed in Japan, April 29, 2026
5994-9152JAJP

