

Oris™ Cell Based Assays FAQ



創世紀生技

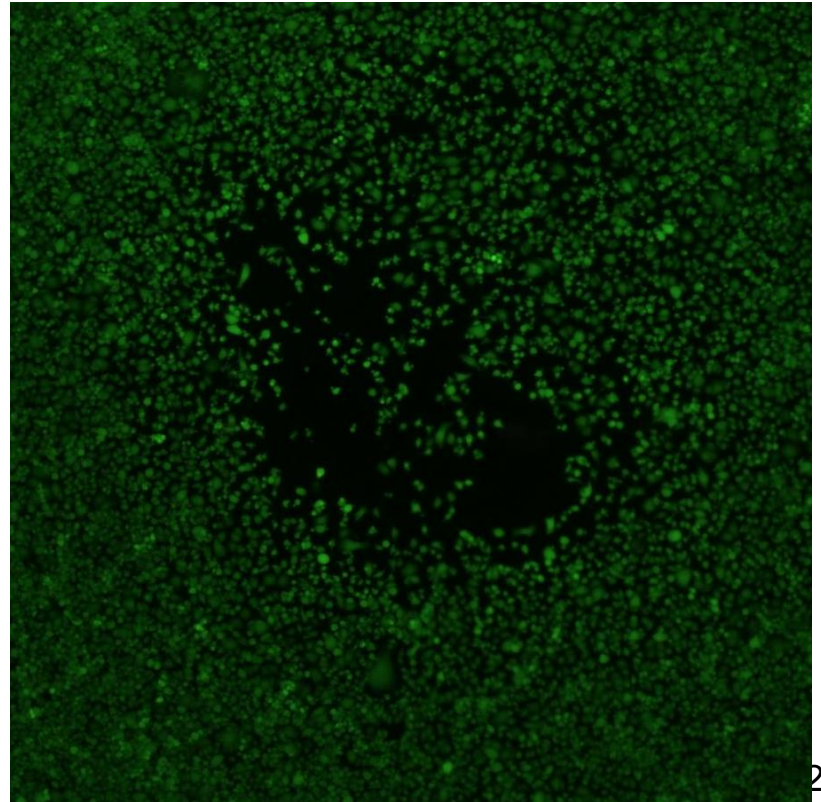
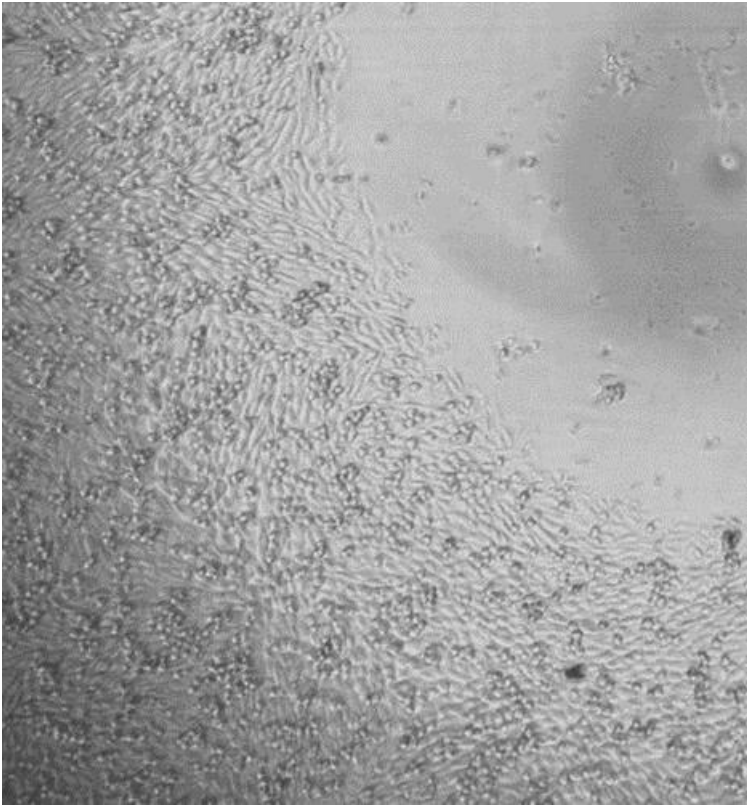
Bio-Genesis Technologies



螢光染劑?

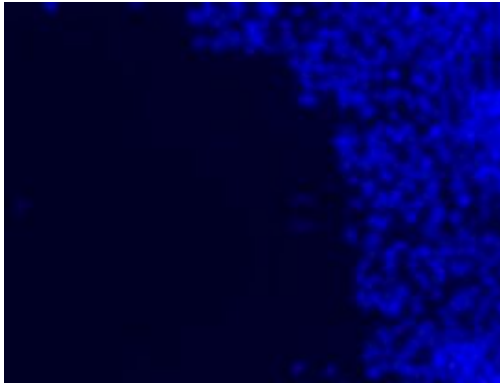
1. 是否需要染螢光?

雖然明視野也可觀察到細胞migration/
invasion的變化,可視為一種定性分析,但
當要做定量分析時,還是以螢光標記為佳,
可用來排除細胞的代謝物,plate的刮痕等
所造成的誤差!

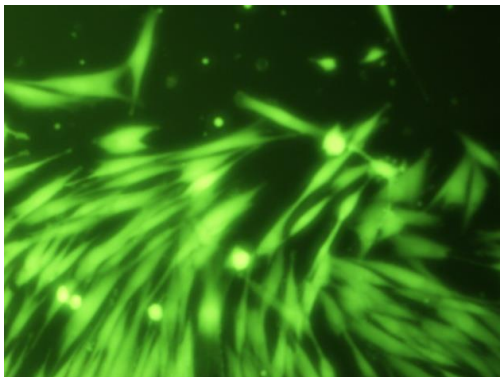


螢光染劑?

| DAPI | Hoechst | Calcein AM | TRITC-phalloidin |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 358nm ~ 461nm | 350nm ~ 461nm | 494nm ~ 517nm | 540nm ~ 573nm |



Hoechst 33342



Calcein AM

2. 螢光染劑的選擇?

- (1) 只要偵測系統有符合螢光染劑的 excitation and emission filter 都可使用!
- (2) 只要螢光染劑的 emission 波長不會 overlap, 即可做 multiple stains!
- (3) 如果要精確的計算細胞數量 (by Image J or high content image software), 建議使用染核的染劑, 如: DAPI, Hoechst 33342, 33258, 但若要上 microplate reader 則不建議使用, 因為其訊號強度可能不足!
- (4) 其他螢光染劑, 如: 染細胞骨架的 TRITC-phalloidin, 或染細胞質的 Calcein AM, 可觀察到明顯的細胞型態的變化! 可利用面積來計算細胞 migration/ invasion 的程度!

Matrix gel coating for invasion

1. Matrix的種類

- (1) 原廠使用的matrix有**BME**(Basement membrane extract \approx 14mg/ml)-R&D
主要成分為laminin, collagen IV, entactin, and heparin sulfate proteoglycan.
- (2) **collagen I(rat tail)**

一般細胞都可以使用**BME**, 除非有特別需求,如collagen I對MDA-MB-231 cell的效果較明顯!

2. Overlay Matrix的濃度

- (1) for R&D BME:濃度需 $>$ 9mg/ml才會凝膠,建議濃度為10-12mg/ml
- (2) for collagen I: 3mg/ml

matrix的最佳濃度會依細胞種類而有差異,user需測試找出最佳化條件!

3. 如何coating

- (1) coating第一層時,不要有殘留的matrix
- (2) coating第二層時,動作一定要慢,最後一段不排空,避免氣泡形成
- (3) matrix一定要放冰上,coating時也要在冰上

coating沒做好會影響cell invasion的效果!

4. medium的選擇

使用phenol-red free medium,以避免干擾螢光的偵測