

MED プレートへの iCell® 心筋細胞 2.0 の播種と培養

1. はじめに

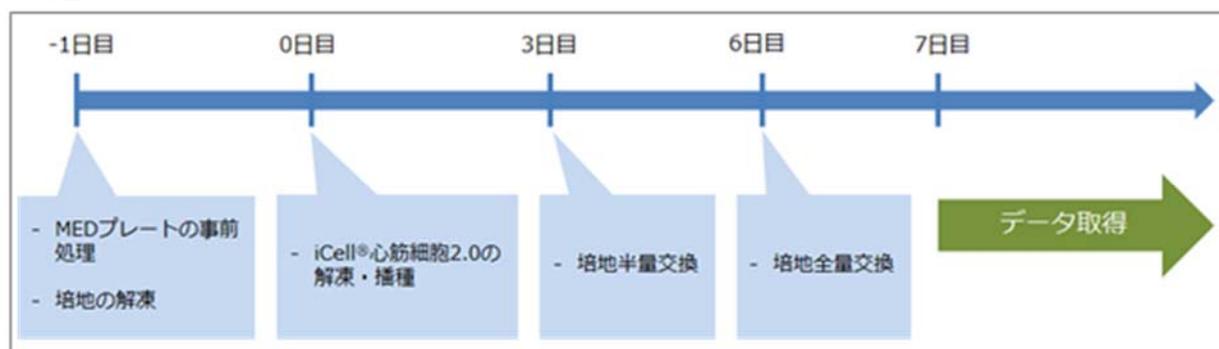
MED64-Presto は、神経細胞や心筋細胞等の興奮性細胞が発する電気活動を、細胞外の電場電位として検出する非侵襲かつ低ノイズのプラットフォームです。MED64-Presto で使用するマルチウェルプレート型の MEA (micro electrode array; 微小電極アレイ) である MED プレートは、電極素材としてカーボンナノチューブを使用することによって高い信号ノイズ比を実現しており、高品質なデータ取得を可能にします。心筋細胞は種々の化合物に反応して複雑かつ繊細な応答を示すため、それらを用いた化合物評価試験にはデータの信頼性及び再現性を保証する、検出感度の高い装置が重要です。MED64-Presto はその高い信号ノイズ比によって心筋細胞が示す幅広い帯域の波形成分及びその変化をより正確に取得し、なおかつ最大 48 標本の多検体処理を可能にします。iCell® 心筋細胞 2.0 は富士フイルム株式会社が市販する高品質なヒト iPS 細胞由来分化心筋細胞です。ヒト由来の試料であることから、ヒト心筋細胞の生理的機能の基礎研究や、医薬品開発の非臨床段階における安全性薬理試験等、多様な用途で幅広く活用されています。iCell® 心筋細胞 2.0 は MED プレートの電極上への直接播種・培養が可能であることから、MED64-Presto と組み合わせることによって、よりスループットの高い高品質な電気生理学的データの取得を実現します。本書は iCell® 心筋細胞 2.0 及び MED64-Presto を用いたデータ取得を行う上での細胞播種・培養プロトコルを中心に説明します。

2. MED プレートの事前処理と iCell® 心筋細胞 2.0 の播種

2-1. 準備するもの

品名	製造メーカー	カタログ番号
細胞		
iCell®心筋細胞 2.0-01434	FUJIFILM Cellular Dynamics	C1016
iCell®心筋細胞 解凍用培地	FUJIFILM Cellular Dynamics	M1001
iCell®心筋細胞 維持用培地	FUJIFILM Cellular Dynamics	M1003
コーティング剤		
フィブロネクチン	Roche	11051407001
細胞培養用試薬		
70%エタノール	各種	
滅菌済み蒸留水(滅菌水)	各種	
生理食塩水	大塚製薬	
TrypLE Express	Thermo Fisher Scientific	12604013
テルガザム®	Alconox 21837-118	21837-118
実験装置・器具		
MED プレート	アルファメッドサイエンティフィック	MED-Q2430M
MED スポットコースター	アルファメッドサイエンティフィック	MED-CRD24
遠心チューブ (50 ml)	各種	
マイクロチューブ (1.5 ml)	各種	
細胞培養ペトリディッシュ 135 ml	Thermo Fisher Scientific	166508
ピペット、アスピレーター、ペトリディッシュ、キムワイプ、恒温槽、安全キャビネット、CO ₂ インキュベーター、混合ガス、遠心分離機、顕微鏡		

2.2. ワークフロー



2.3. MED プレートの事前処理 (-1 日目)

注: 以下の全工程において、MED プレートの電極部に触れないようご注意ください。

MED64-Presto ではマルチウェルプレート型の MEA である MED プレートの各ウェルの電極上に細胞を生着させなければなりません。新品の MED プレート表面は疎水性のため、親水化処理を行う必要がありますが、不適切なコーティング剤の使用、処置は細胞の生着、培養状態、電気信号の取得に悪影響を及ぼす可能性があります。本項では iCell® 心筋細胞 2.0 使用に際し、弊社が推奨する事前処置方法を記述します。

2.3.1 MED プレートの滅菌

- 1) 300 μ l の滅菌水で MED プレートの全ウェルを 3 回以上洗浄します。
- 2) MED プレートの全ウェルを 70%エタノール (300 μ l) で満たし、室温下で 15 分間静置します。乾燥後に有機物の欠片が MED プレート上に残存することを避けるため、等級の高いエタノールの使用を推奨します。

注: 絶縁膜等への影響を防ぐため、15 分間以上のエタノール処置は避けてください。

- 3) エタノールを吸引除去した後、全ウェルを滅菌水で 3 回以上洗浄します。
- 4) 15-30 分間 UV 照射しながら MED プレートを乾燥させます。あるいは、安全キャビネット内で MED プレートを 2 時間静置して乾燥させます。
- 5) MED プレートの乾燥を確認後、滅菌した容器に MED プレートを保管します。以降、MED プレートはこの滅菌容器に入れた状態で取り扱います。

2.3.2 MED プレートのコーティング

本プロトコルでは、各ウェル中央部に配置された記録電極部のみをコーティングします。

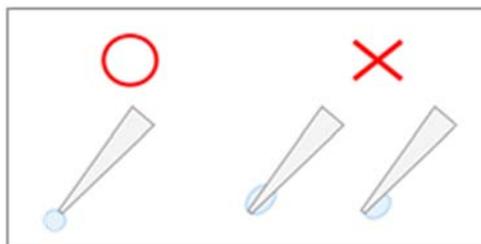
- 1) 50 μ g/mL のフィブロネクチンを準備します (次頁の詳細説明参照)。
- 2) 滅菌済みの MED スポットコースターを MED プレートの下に設置します。
- 3) ウェル中央部の記録電極上にフィブロネクチンを 4 μ l ずつ滴下します。電極位置は MED スポットコースターが示す赤点上になります。赤点を目安にピペットチップの先端が電極に触れないよう慎重に滴下します。また、全ウェルへのコーティングが完了するまでに滴下したフィブロネクチンが乾燥しないよう十分ご注意ください。



図 2.1. MED スポットコースターの上に 24 ウェル MED プレートを設置。記録電極の位置は赤点でマークされている (左)。赤点を目安にフィブロネクチンを電極上に滴下 (右)。

フィブロネクチン滴下のコツ

フィブロネクチンを記録電極上に正確に滴下するため、球状の液滴がピペットチップの先端に付着した状態 (下図左参照) で滴下してください。下図中央や右のように液滴がチップの外側にまとわりついている場合、電極上への的確な滴下が困難となり、電極を破損させる恐れがあります。



- 4) MED プレートを MED スポットコースターから外し、滅菌済容器に入れて冷蔵庫 (4°C) で一晩静置します。MED プレートの収納にはトレイの使用をお奨めします。フィブロネクチンの蒸発を防ぐため、滅菌水で満たしたシャーレを同梱して保管します。



図 2.2. 記録電極上に滴下したフィブロネクチン (左)。MED プレートの保管例 (右)。

フィブロネクチン調製法

- 1) 1 mg のフィブロネクチン (Roche, #11051407001) を 1 ml の生理食塩水 (大塚製薬) で希釈します。
- 2) 37°C インキュベーターで 30-60 分間静置します。
- 3) 滅菌済みの 1.5 ml 容器にフィブロネクチンを 50 μ l ずつ分注してストック溶液を調製し、冷凍 (-20°C) 保存します。解凍したフィブロネクチンストック溶液は、その日のうちに使い切るようにします。

培地の解凍

iCell[®] 心筋細胞 2.0 の User's guide に従い、解凍用培地を冷蔵庫 (4°C 下) で一晩かけて解凍します。

2-4. iCell[®] 心筋細胞 2.0 の解凍と播種 (0日目)

あらかじめ冷蔵庫 (4°C 下) で解凍した解凍用培地を取り出し、iCell[®] 心筋細胞 2.0 を解凍する前に室温に戻します。

- 1) フィブロネクチンでコーティングされた MED プレートを冷蔵庫から取り出し、37°C で 1 時間インキュベーションします。
- 2) iCell[®] 心筋細胞 2.0 クライオバイアルを恒温槽 (37°C) で 3 分間温めます。
注: 細胞加温の時間は極めて重要なため、時間を厳守してください。
- 3) 恒温槽から取り出して 70%エタノールで消毒した後に、速やかに安全キャビネット内に移動させます。
- 4) 細胞懸濁液 1 ml を 50 ml 遠心チューブにゆっくり移動させます。
- 5) 空になった iCell[®] 心筋細胞 2.0 クライオバイアル容器に解凍用培地 (室温) 1 ml を添加、リンスし、#4 の 50 ml チューブに移します。この際、90 秒かけて滴下します (4-5 秒に 1 滴)。細胞懸濁液を完全に混合し、解凍された細胞への浸透圧ショックを最小限に抑えるため、混合中にはチューブをタッピング等で揺らします。



図 2.3. 50 mL 遠心チューブ。

- 6) 解凍用培地 (室温) 8 ml を細胞懸濁液の入った 50 ml チューブ (#4) にゆっくりと添加します。最初の 1 ml は 30-60 秒かけて滴下し、その後残りの 7 ml を 30 秒で添加します。
- 7) 50 ml チューブを静かに 2-3 回転倒混和 (90°以内) し、中身を混合します。

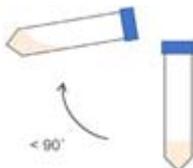


図 2.4. チューブを 90°以内で転倒混和。

- 8) 細胞懸濁液 100 μ l を、滅菌済みの 1.5 ml マイクロチューブに移し、細胞数をカウントします。
- 9) 細胞懸濁液を遠心し (室温下にて 180 x g、5 分間)、上清をアスピレーターで吸引除去します (細胞沈殿を吸引しないよう注意してください)。

- 10) 5×10^4 cells/4 μ l (1.25×10^7 cells/ml) となるように、細胞懸濁液を調製します。
- 11) 細胞懸濁液 4 μ l (細胞数およそ 5.0×10^4) を各ウェルの記録電極上に滴下します。フィブロネクチンは除去せずに、フィブロネクチン上に直接滴下します。また、4 ウェルごとの細胞播種を推奨します。なお、時間が経過すると細胞が懸濁液の底に沈殿するため、4 ウェル滴下ごとにチューブ内の細胞懸濁液をピPETTINGします。
- 12) 全ウェルへの播種終了後、37°C、5% CO₂ で 1 時間インキュベーションします。蒸発防止のため、MED プレートを入れたトレイには滅菌水で満たしたシャーレを同梱します。
- 13) MED プレートをインキュベーターから取り出し、事前に 37°C で加温した iCell 心筋細胞維持用培地 300 μ l を各ウェルに注ぎます。細胞が播種されたウェル中央部を避け、ゆっくり静かに注ぎます。この時、接着した細胞が流れていないことを確認しておきます。作業時間短縮ため、マルチチャンネルピPET (12 連タイプに 1 つ飛ばしで 6 本のマイクロチップを装着し、6 連ピPET として使用する) の使用を推奨します。



図 2.5. マルチピPETによる培地添加。12 連ピPETに 1 つ飛ばしでマイクロチップを装着。

- 14) MED プレートをトレイに戻し (滅菌水で満たしたシャーレを同梱)、再びインキュベーターに静置します (37°C、5%CO₂)。
- 15) 3 日後に維持用培地を半量交換します (3 日目)。
- 16) 6 日目に維持用培地を全量交換し、翌日 (7 日目) のデータ収録を推奨します。7 日目にデータ収録しない場合は、2-3 日ごとに培地を半量交換します (6 日目、9 日目、12 日目)。データ収録前日には培地を全量交換します。

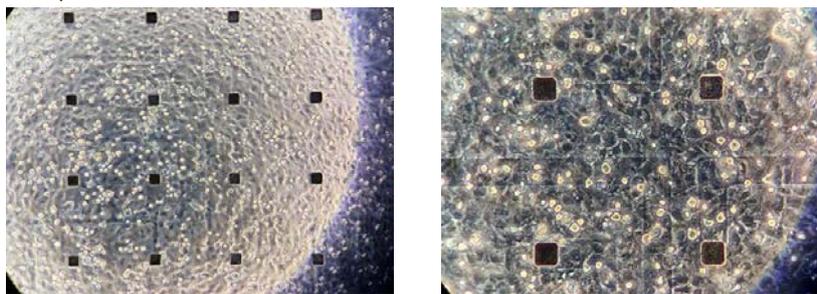


図 2.6. 培養 3 日目の iCell® 心筋細胞 2.0。

2-5. 使用済み MED プレートの洗浄

MED プレートの性能は初回使用時が最も優れています。MED プレートは電極の低インピーダンスによる高品質な信号取得を特徴としていますが、再使用時は細胞の残骸や残留したコーティング剤の影響等により、この性能が劣化します。しかし、丁寧かつ適切な洗浄により再使用も可能です。本項ではその手順を説明します。

注: 電極および絶縁膜を保護するために、MED プレート表面には触れないようにしてください。

- 1) 使用済み MED プレート内の培地をアスピレーターで完全に吸引除去した後、すみやかに 300 μ l の TrypLE Express (Thermo Fisher Scientific, #12604013) を各ウェル内に滴下します。
- 2) MED プレートを 1 時間インキュベートします (37°C)。
- 3) MED プレートをインキュベーターから取り出し、丁寧にピPETTINGしながらウェル底面の細胞を水流で分離します。電極を破損しないよう十分に注意します。
- 4) 全ウェルから TrypLE Express を完全に吸引除去します。
- 5) MED プレートを PBS で 3 回以上洗浄します。
- 6) 1%テルガザイム溶液を 300 μ l ずつ全ウェルに滴下します。なお、テルガザイムは滅菌水で希釈して 1%に用事調製し、55°C の恒温槽で完全に溶解させておきます。
- 7) MED プレートを室温で 1 時間静置します。
- 8) 再びゆっくりと丁寧に全ウェルをピPETTINGします。
- 9) 全ウェルからテルガザイム溶液を吸引除去し、MED プレートを滅菌水で 3 回以上洗浄します。MED プレートが十分に洗浄されていない場合は

#3-8 の工程を繰り返します。

- 10) 全ウェルを 70%エタノールで満たし、室温で 15 分静置します (注: 15 分以上の静置は避けてください)。
- 11) MED プレートを滅菌水で 3 回以上洗浄します。
- 12) 電極が乾燥しないよう全ウェルを十分な滅菌水で満たし、冷蔵庫 (4°C) で保管します。

3. データ収録

培養 iCell® 心筋細胞 2.0 を用いたデータ収録は、7 日目以降の実施を推奨します。データ収録前日には培地を全量交換します。

注: MED64-Presto の制御ソフトウェア MED64 Symphony の操作の詳細については、MED64 Symphony チュートリアルをご参照ください。

3.1. 推奨実験環境

データ収録時の推奨温度は通常 37°C ですが、設定温度は実験の目的等に応じて調整してください。

MED64-Presto アンブは MED プレート底面を温めるヒーターを内蔵していますが、使用に際し以下の点をご考慮ください。

- 1) MED64-Presto アンブは温度変化の激しい場所 (エアコンの送風口付近等) を避けて設置します。
- 2) MED プレート設置部にアクリル製のカバーをして環境温度をさらに安定化させます。
- 3) データ収録開始の 15-30 分以上前に付属の温度制御コントローラーの電源を入れ、設定温度に到達させます。

設定温度を変更する場合は、温度制御コントローラーの表示温度が変更後の温度に到達するのを待ってから収録を再開します。アクリルカバーのガスポートを通じて混合ガスを供給します (ガスの混合比率は使用する培地の組成に依存しますが、通常は 5 % CO₂、20 % O₂、N₂ バランス)。高湿度の環境を維持するため、混合ガスは滅菌水を含んだ三角フラスコ内でバブリングした後に供給します。



図 3.1. MED64-Presto の実験環境 (左)。高湿度の環境維持のため、ガスは滅菌水を含む三角フラスコ内でバブリングする (右)。

3.2. データ取得条件の設定

24 ウェル MED プレートの各ウェルにはそれぞれ 16 個の記録電極と 16 個の参照電極が配置されており、各記録電極と参照電極間に発生する電位を取得します。取得信号は 1000 倍に増幅、AD 変換された後に計測用 PC システムに取り込まれます。専用ソフトウェア MED64 Symphony はデータの取得と解析を行います。心筋細胞からデータ取得する場合は、ミニランチャーから Cardio ワークフローを RECORD モードで起動します。

Preview (データファイル出力なし) もしくは Record (データファイル出力あり) をクリックすることで、データ取得を開始します。



図 3.2.

MED64 Symphony は常に 0.1 Hz - 5 kHz の周波数帯域で生データを取得しますが、解析時には生データのプレフィルタリング処理が可能です。心筋細胞の場合、推奨設定は以下の通りです。

Low-pass filter (2 pole): none

High-pass filter (2 pole): none

Smoothing: Custom

MED64 Symphony のスムージングは Filed Potential Duration (FPD) 解析において重要な 2nd ピークを明瞭化しつつも 1st スパイクにはスムージングを適用しないアルゴリズムとなっています。取得信号の各データ点は Smoothing window で指定する時間幅で移動平均値に変換されますが、Smoothing window 内の標準偏差が Activation Threshold で指定した値を越えない場合は元のデータ点をプロットします。まずは初期設定条件 [Smoothing window (ms): 20、Activation Threshold (μV): 25 uV] でスムージングを適用し、取得信号に合わせて適宜条件を変更してください。

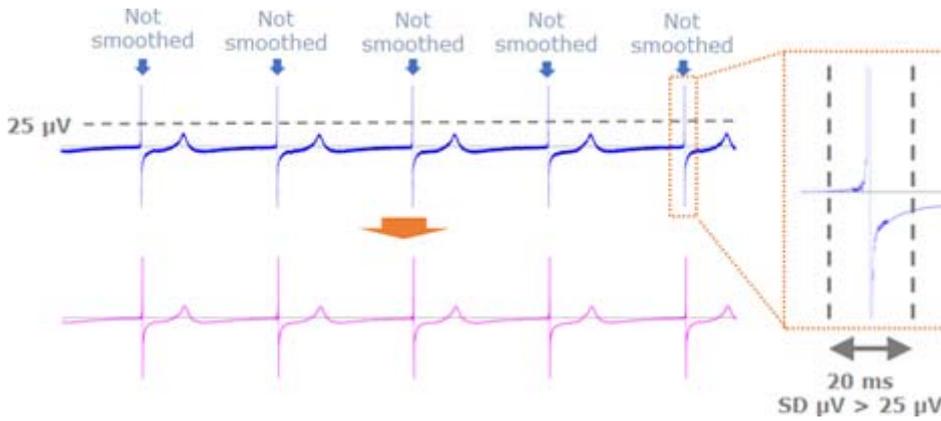


図 3.3. MED64 Symphony のカスタムスムージング。

3.3. ペーシング

MED64-Presto アンプは刺激アンプを内蔵しており、全ウェルに電圧刺激を印加できます。各ウェルの標本はそれぞれ独立して自律拍動するため、全標本をペーシングするのは容易ではありません。そのため、MED64-Presto でのペーシングには MED ペーシング・コントローラ (MED-S09) の利用を推奨します。MED ペーシング・コントローラの使用により、収録を中断することなく、刺激強度及び刺激間隔の操作が可能になります。MED ペーシング・コントローラ使用の際には、Stimulation Editor ウィンドウの Stimulator type 欄において External を選択し、OK をクリックします。それにより MED64 Symphony 上での刺激パターン設定は無効となり、MED ペーシング・コントローラで設定した刺激パターンを出力できます。なお、刺激電極の指定は MED64 Symphony 上で行います。

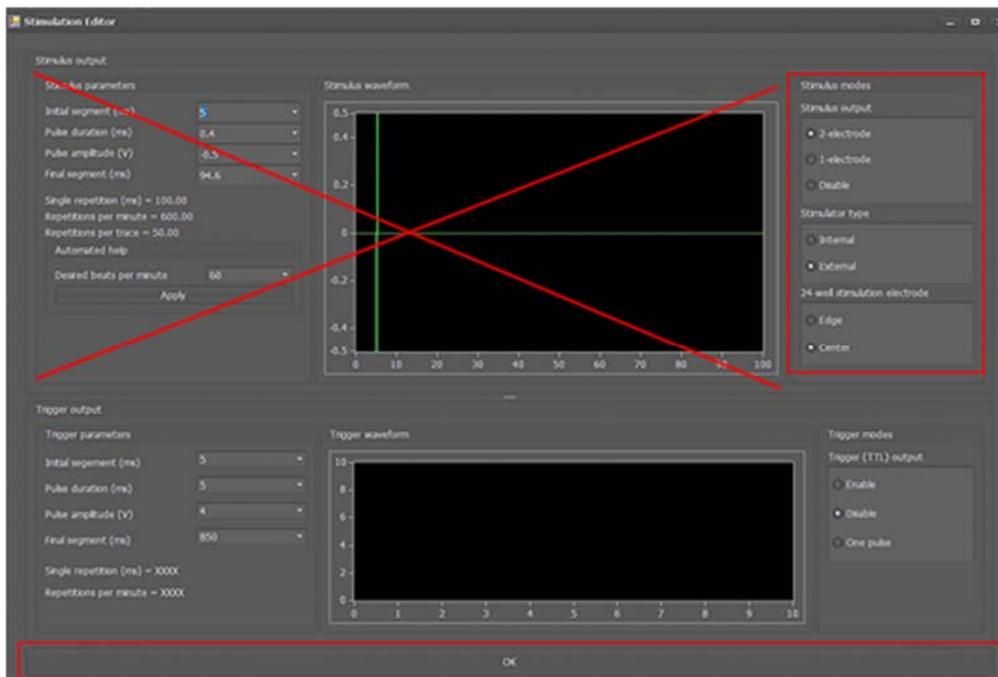


図 3.4. Stimulation Editor ウィンドウ。上部右側の Stimulator type 欄で External を選択すると Stimulus waveform 欄(上部中央) に示される刺激パターン (上部左側にて設定) は無効になります。



図 3.5. ペーシングの刺激電極数（1 電極または 2 電極）と、刺激電極位置（Edge または Center）の設定。

MED ペーシング・コントローラーはフロントパネル左の Output ボタンを押し、緑色のランプが点灯している間に刺激を出力します。刺激間隔は Interval 欄のダイヤルで設定した間隔になります。刺激幅は Duration 欄の上下ボタンにて、刺激強度は Output level のバーニアダイヤルにて設定します。MED ペーシング・コントローラーで出力可能な最大刺激強度は 2 V で、この時のバーニアダイヤルの目盛りは 10.00 です（目盛り 1.0=0.2 V）。電極の電気分解を防ぐため、0.7 V（目盛り 3.5）より大きな刺激強度を設定しないようにします。図 3.6 は MED ペーシング・コントローラーのフロントパネル（左）と出力刺激パターン（右）の対応を示します。

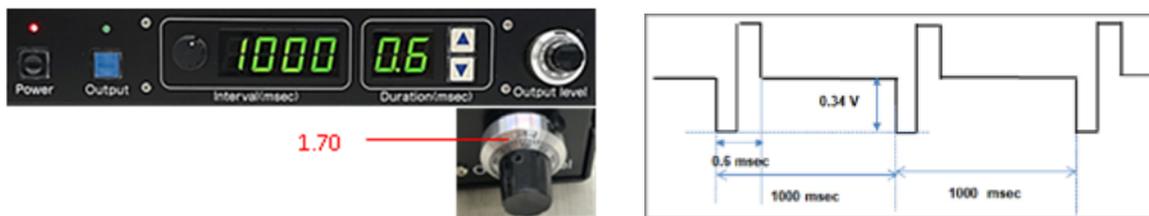


図 3.6. MED ペーシング・コントローラーのフロントパネル（左）の設定と出力刺激パターン（右）の対応。

細胞の成熟度や状態によって適切な刺激強度や刺激間隔は異なりますが、まずは以下の設定でペーシングを試すよう推奨します。

Output level (目盛り): 0.8、Interval: 1000 ms、Duration: 0.6 ms

3.4. MED64 Symphony

MED64 Symphony は任意に設定する振幅閾値を超える区間を心筋 FP 波形として検出し、その波形に基づいて様々な測度を算出します。検出条件の詳細設定は Beat Settings ウィンドウで行います。



図 3.7. RECORD モードの Cardio ワークフローのメインウィンドウ。
画面上部の Beats をクリックすると Beat Settings ウィンドウが開く。

MED64 Symphony で算出可能な測度

- Beat count (FP 波形の検出数)
- Beat frequency (1 秒間当たりの FP 波形検出頻度)
- Interbeat interval (拍動間隔、RR 間隔に相当)
- Beat rate (1 分間あたりの FP 波形検出頻度、BPM に相当)
- First peak amplitude (1st ピーク振幅)
- Second peak amplitude (2nd ピーク振幅)
- Field potential duration (FPD、FP 幅)
- CFPD Bazett (Bazett の補正式により補正した FPD、FPDcB)
- CFPD Fridericia (Fridericia の補正式により補正した FPD、FPDcF)

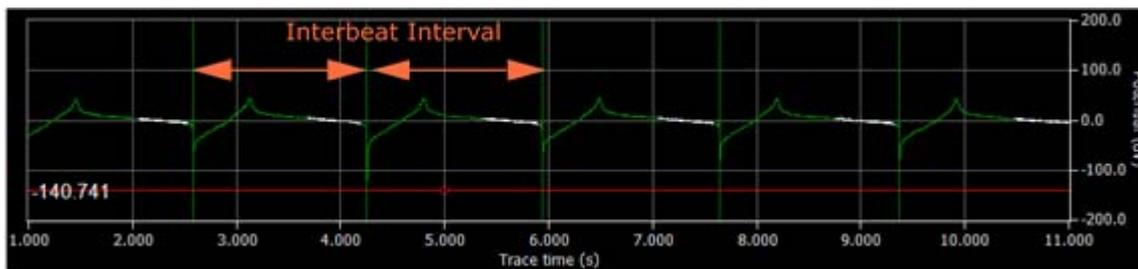


図 3.8. MED64 Symphony による FP 波形検出。赤色のカーソルで示す閾値を超えた直後のピーク点を起点に指定した前後区間を FP 波形として検出。検出した FP 波形は強調色 (本例では緑) で表示される。

3.4.1. MED64 Symphony での FPD 解析

MED64 Symphony では指定区間のピーク値間の間隔を FPD として算出します。2nd ピークは 2 本の赤いカーソル間から探索されるため、カーソル位置は FP 波形に応じて適宜変更します。

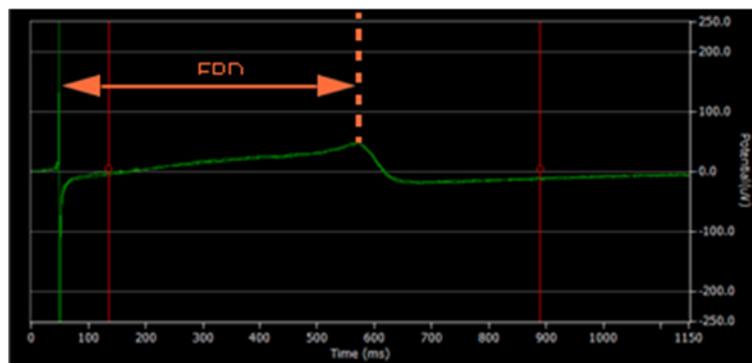


図 3.9. MED64 Symphony の FPD 解析。

3.4.2. ゴールデンチャンネルの選択

FPD 解析及びその他解析の対象とする電極 (ウェル内での解析対象電極) は、Beat Settings ウィンドウの Compute Cumulative Statistics 欄で自動指定できます。選択基準にする測度と電極数を指定し、Select Electrode をクリックして選択します。選択された電極は Cumulative Beat Statistics パネルの電極別チャート内で色付けされて識別されます。下図では“Second Peak Amplitude (2nd ピーク振幅)”が最大の 1 電極を選択する設定です。

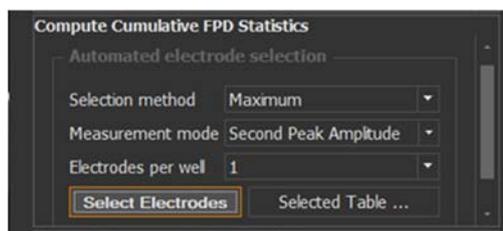


Figure 3.10. Compute Cumulative Statistics 欄での電極選択。解析対象電極は Cumulative Beat Statistics パネルの電極別チャート上での手動選択も可能。Shift キーを押しながら電極番号をクリックして選択する (同様の手順で選択解除)。

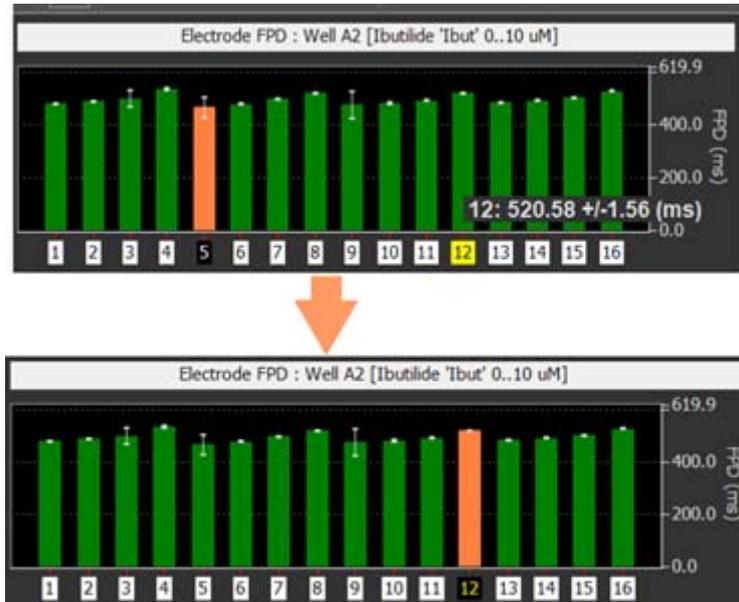


図 3.11. 解析対象電極の手動選択。

3.5. データ出力

MED64 Symphony では以下のデータファイルを出力できます。

- 各電極の生データ、またはフィルタリング適用後の生データ
- Beat Data (検出した拍動のデータ)
- 算出測度の逐次チャートのデータ
- 算出測度の累積的グラフのデータ

3.5.1. 各電極の生データまたはフィルタリング適用後の生データ

収録した生データは以下のファイル形式にて出力できます。サードパーティーの解析ソフトウェアで読み込み可能な形式に変換出力する場合や、特定区間、特定ウェル、特定電極のみのデータを必要とする場合は、データ収録後のファイル変換出力を行います。

- ASCII text (.csv file)
- Shorts 16-bit (.bin file)
- Mobius 16-bit (.modat file)
- Floats 32-bit (.bin file)
- Original voltage files (.modax)
- Compressed voltage files (.modax1)
- Nex5 file (.nex5 file)

Mobius の固有形式 (modat) に変換出力する場合は、MED64 Symphony の 384 電極分のデータを以下の電極配置でグループ分割します。

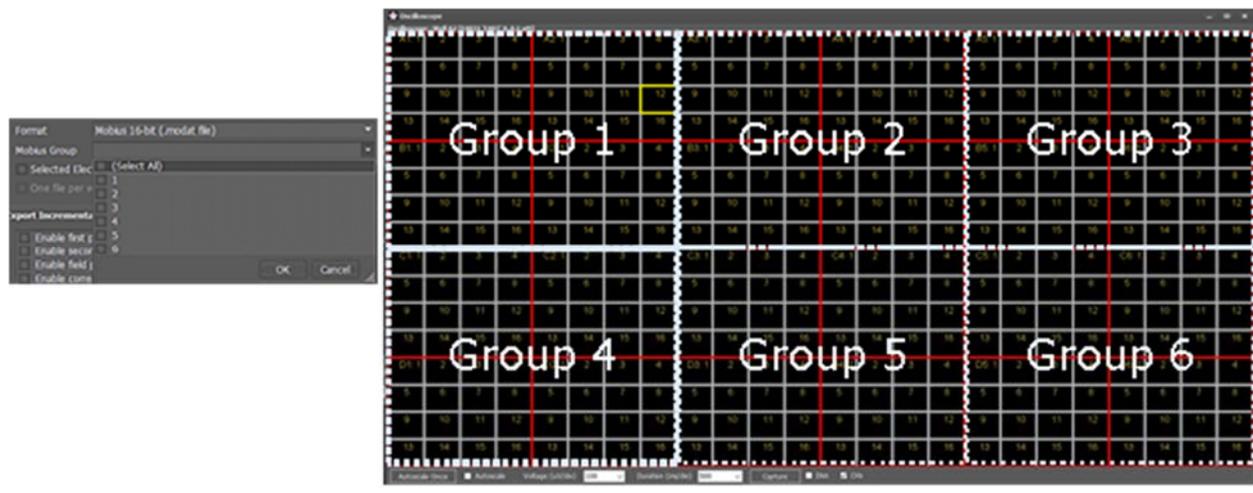


図 3.12. modat 形式で変換出力する際の電極のグループ分割。1-6 までのグループを任意選択可能。解析するウェルを含むグループを選択する。複数グループ選択も可能。

3.5.2. データ出力の流れ

1) Protocol Settings ウィンドウにて、データを出力するウェル (緑色のウェル) や区間を指定します。

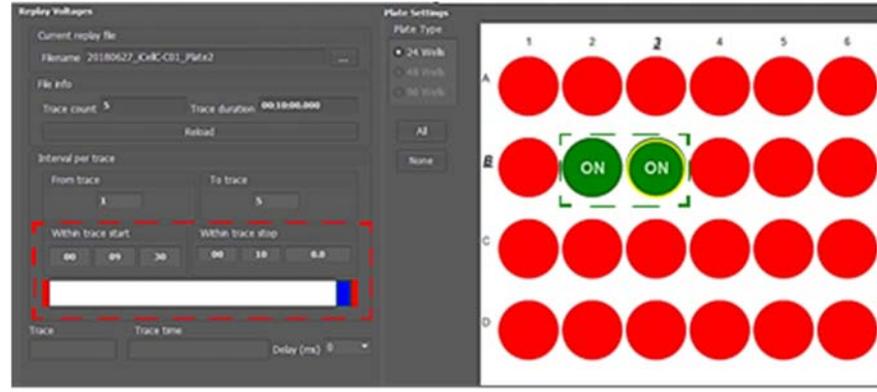


図 3.13. 出力するデータ区間の設定。本例ではウェル B2 及び B3 について、全 5 トレースの各トレース最終 30 s (9m30s-10m00s) のデータを出力する。

2) Export Settings ウィンドウにてファイル出力先フォルダーを選択し、ファイル名を指定します。出力するデータのチェックボックスにチェックを入れます。

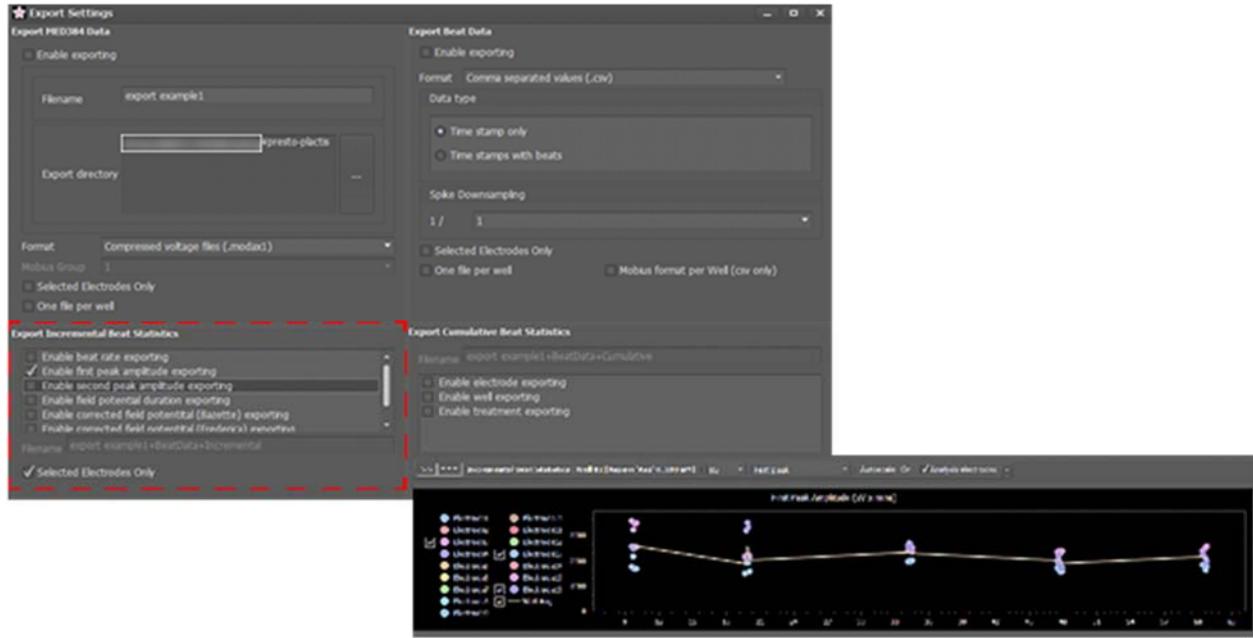


図 3.14. 出力するデータの選択。本例では Incremental Beat Statistics のうち、選択した電極 (3、13、16) の first peak amplitude を選択。

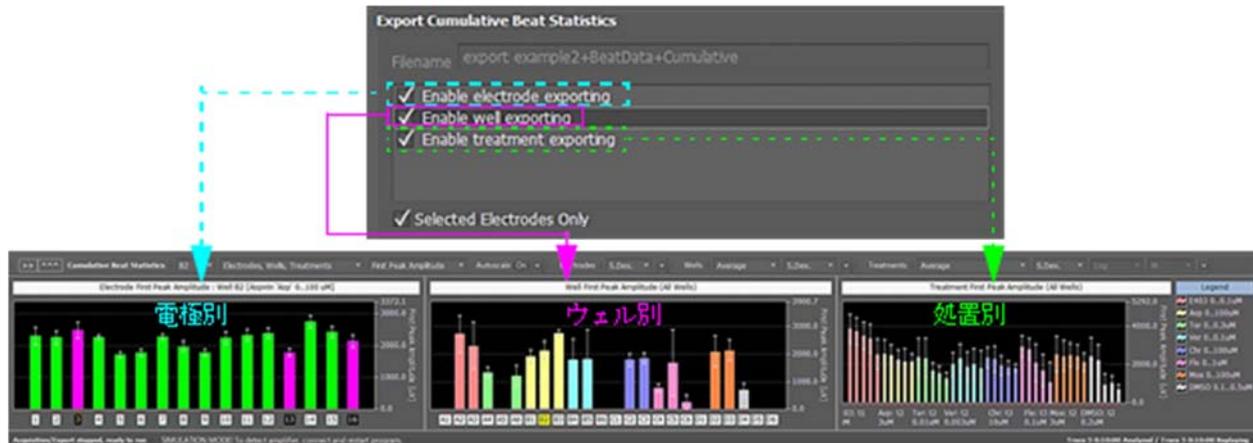


図 3.15. 出力する Cumulative Beat Statistics の条件設定。本例では選択ウェル (B2) について first peak amplitude を選択。Selected Electrodes Only にチェックが入っており、解析対象となる 3 電極のデータを結果として出力する。

3) メインウィンドウ上部の Export ボタンをクリックし、選択したデータをファイル出力します。



図 3.16.

また、各グラフ上での右クリックメニューから、グラフの画像や数値データそのものをコピーできます。



Trace	Electrode	Selected	Unit	Treatment	Comments	Frequency	Beat Count	Beat ID	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD	
1	Electrode																																						
2	Program V1.21.13 - (Rev.022) on 2018/01/31																																						
3	File Format: 2E=07																																						
4	Session ID: 2018/06/27 11:37:30+09																																						
5	Trace Dur: 10																																						
6	Mode: Full																																						
7	Mode: Full																																						
8	Trace	5	37	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.87	5.74	772.89	127.89	35.47	802.89	107.2	32.32	529.91	84.49	28.49	2251.25	261.64	72.93	175.99	206.31	57.22	27.35	0.26	0.07										
9	Trace	5	38	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.78	5.71	746.3	149.9	39.7	574.05	2.74	0.83	503.57	2.72	0.82	2338.68	186.82	81.81	12.68	0.55	0.15	27.35	0.24	0.07										
10	Trace	5	39	1.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.87	5.68	778.65	84.38	26.18	820.4	78.37	23.63	526.65	68.73	20.72	2462.48	293.21	71.89	12.58	0.49	0.14	27.35	0.24	0.07										
11	Trace	5	40	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.91	5.63	1097.99	4.77	2.32	844.36	5.98	1.83	742.89	5.54	1.7	2258.68	82.8	18.86	9.45	0.25	0.07	27.35	0.23	0.07										
12	Trace	5	45	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.95	5.76	742.26	81.27	22.54	920.22	69	20.8	500.24	81.01	18.39	1709.15	87.86	24.39	81.67	145.25	40.29	27.35	0.24	0.07										
13	Trace	5	46	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.84	5.73	1067.58	82.51	25.68	842.1	7.9	2.38	738.7	7.68	2.31	1788.33	114.82	32.4	7.67	0.37	0.1	27.35	0.24	0.07										
14	Trace	5	47	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.07	19.74	5.7	851.75	124.78	34.61	824.24	102.27	30.84	547.57	89.54	27	2264.28	78.97	21.95	13.26	0.68	0.24	27.35	0.24	0.07										
15	Trace	5	48	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.57	5.65	1097.99	5.2	2.44	844.72	5.98	2.62	742.1	5.48	1.65	2862.15	133.33	42.53	10.89	0.58	0.18	27.35	0.24	0.07										
16	Trace	5	53	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.07	19.94	5.76	777.13	87.26	24.2	802.26	75.28	22.09	527.46	84.62	18.48	1781.93	103.89	28.61	28.27	49.31	13.88	27.35	0.24	0.07										
17	Trace	5	54	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.07	19.85	5.73	747.84	2.83	0.79	575.47	2.58	0.78	504.81	2.87	0.86	2330.28	188.85	82.65	11.84	0.56	0.16	27.35	0.24	0.07										
18	Trace	5	55	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.07	19.78	5.71	1096.1	8.37	2.32	844.56	5.65	1.7	740.86	5.58	1.88	2317.86	168.37	46.14	12.92	0.49	0.13	27.35	0.24	0.07										
19	Trace	5	56	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.07	19.65	5.67	1072.18	84.81	26.07	828.99	78.89	23.73	725.23	88.39	20.82	2378.87	185.21	45.82	12	0.44	0.12	27.35	0.24	0.07										
20	Trace	5	61	1.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.95	5.76	794.23	1.91	0.53	888.38	0	0	518.12	2.38	0.72	1797.45	108.81	30.12	18.58	0.81	0.19	27.35	0.24	0.07										
21	Trace	5	62	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.83	5.78	781.27	2.82	0.78	582.44	2.73	0.82	510.89	2.91	0.88	2791	201.27	55.82	14.85	0.76	0.21	27.35	0.24	0.07										
22	Trace	5	63	0.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.82	5.72	1044.67	129.85	34.91	790.02	103.89	31.31	689.32	81.32	27.54	2403.99	176.83	49.04	11.93	0.33	0.09	27.35	0.24	0.07										
23	Trace	5	64	1.02	App	0.0001	0.43	13	2193.08	19.72	5.69	838.05	144.15	39.98	652.73	118.93	35.25	572.54	102.24	35.83	2125.31	187.57	52.02	10.87	0.54	0.18	27.35	0.24	0.07										

図 3.17. グラフ上で右クリックすると右クリックメニューが現れる (上)。Copy Data を選択すれば Excel への貼り付けが可能 (下)。

3.6. レポート機能

MED64 Symphony ではデータやその解析結果の出力以外に、解析結果をまとめた簡易レポートを作成、出力できます。Reporting Design ウィンドウにてその設定を行います。また、各グラフ上で右クリックメニューを呼び出し、Add to Report Template を選択して、そのグラフをレポートに追加も可能です。

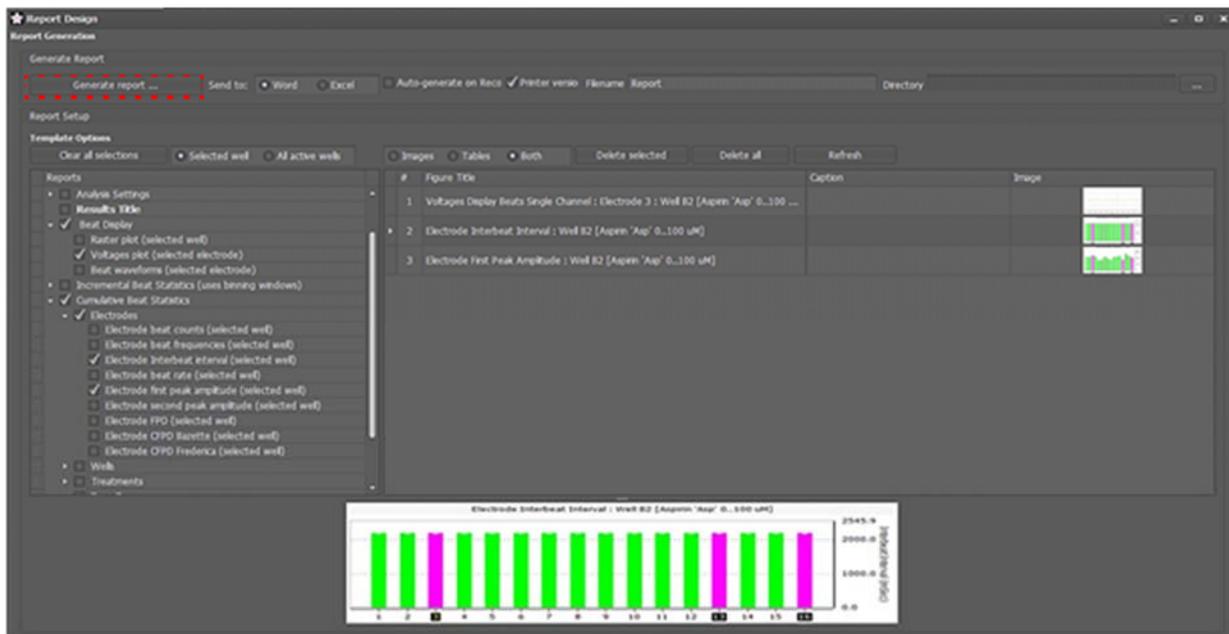


図 3.18. Report Design ウィンドウ。Report Setup 欄左でレポートに追加するデータやグラフを選択する。Report Setup 欄右に選択したグラフが一覧表示され、Generate report ボタンをクリックすると、Word または Excel (本例では Word を選択) ファイルとしてレポートが作成される。

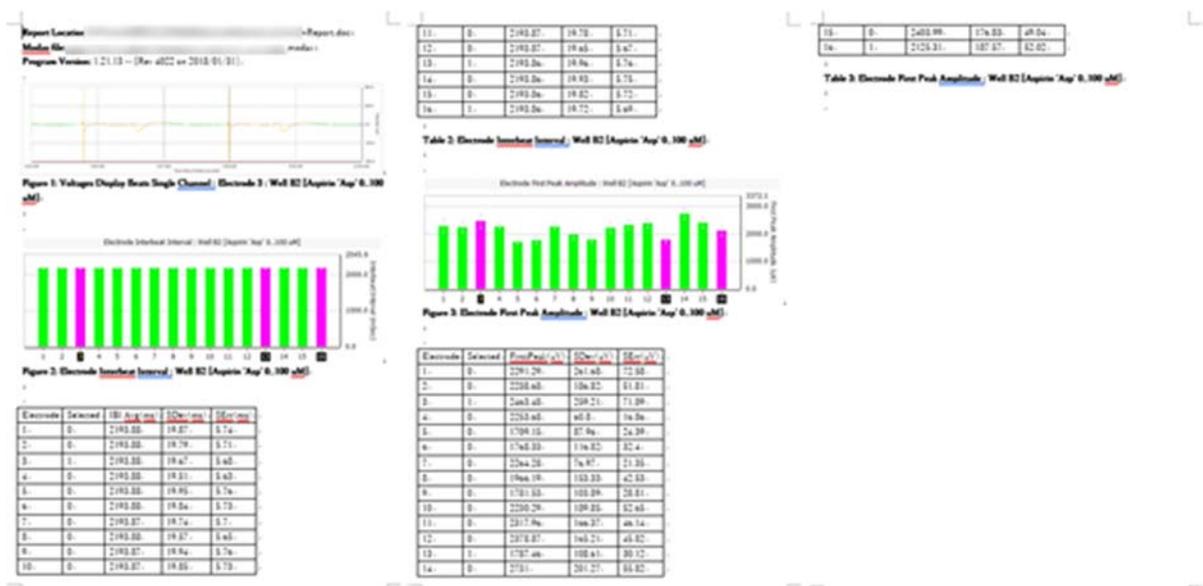


図 3.19. 作成したレポートファイル。

4. 監修・協力

森村 馨 様 (富士フィルム株式会社 バイオサイエンス&エンジニアリング研究所)
 望月 修征 様 (富士フィルム株式会社 バイオサイエンス&エンジニアリング研究所)
 亀井 綾子 様 (富士フィルム株式会社 バイオサイエンス&エンジニアリング研究所)

5. 免責事項

本書は弊社製品マーケティング活動の一環として、当該製品の円滑な使用を目的として作成されています。記載の内容は弊社にて慎重に検討されておりますが、記載情報が全ての場合において適応される保証はなく、内容についての責任は負いかねます。MED64-Presto を用いての実験に際しては、弊社製品および関連製品の取扱説明書、査読付き論文等をご参照ください。

目次

1. はじめに	1
2. MED プレートの事前処理と iCell® 心筋細胞 2.0 の播種	1
2.1. 準備するもの	1
2.2. ワークフロー	1
2.3. MED プレートの事前処理 (-1 日目)	2
2.3.1. MED プレートの殺菌	2
2.3.2. MED プレートのコーティング	2
2.4. iCell® 心筋細胞 2.0 の解凍と播種 (0 日目)	3
2.5. 使用済み MED プレートの洗浄	4
3. データ収録	5
3.1. 推奨実験環境	5
3.2. データ取得条件の設定	5
3.3. ペーシング	6
3.4. MED64 Symphony	7
3.4.1. MED64 Symphony での FPD 解析	8
3.4.2. ゴールデンチャンネルの選択	8
3.5. データ出力	9
3.5.1. 各電極の生データまたはフィルタリング処理後の生データ	9
3.5.2. データ出力の流れ	10
3.6. レポート機能	11
4. 監修・協力	12
5. 免責事項	12

本書は予告なく変更される場合があります。本書の一部または全てを著作権者であるアルファメッドサイエンティフィック株式会社の許可なしに複製、転載することを禁止します。本書の作成にあたっては細心の注意を払っておりますが、本書の記述にいかなる誤りや欠落があろうとも、またそれらの誤記や本書内で紹介するプログラムやソースコードによりいかなる損害が生じようとも、執筆者はいかなる責任も負わないものとします。いかなる場合でも、本書により直接的または間接的に生じた損害に対して、発行者および執筆者は責任を負いません。

© 2019 アルファメッドサイエンティフィック株式会社 ★不許複製・禁無断転載

Version: 1.00; 2019 年 3月27日

Version: 1.01; 2019 年 6月25日

アルファメッドサイエンティフィック株式会社

〒567-0085

大阪府茨木市彩都あさぎ 7 丁目 7-15

彩都バイオインキュベータ 209 号

E-mail: info@amedsci.com

Web: <https://alphamedsci.com>