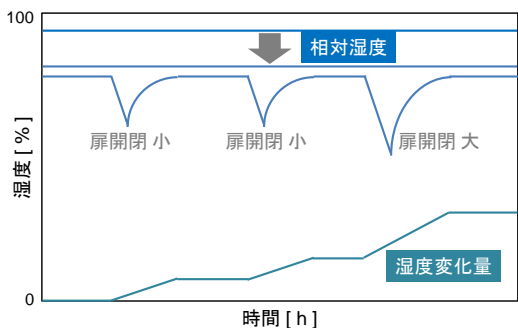


# マイクロウェルプレートのエッジ効果に対するインキュベータの評価

## 1. エッジ効果に対するIncubatorの評価

Incubatorでの培地や試薬の蒸発の影響因子は・・・

- ・庫内湿度 ← 加湿水トレイの液表面積 + 液面への気流 + 温度
- ・庫内湿度の変動 ← 扉の開閉
- ・庫内の気流 ← 庫内の容器 (配置、数など)



相対湿度  
庫内加湿方法  
+  
湿度変化量  
容器出入れ方法

Incubatorにおける蒸発の影響因子の解明

## 2. Micro well plateのエッジ効果評価

【実験条件】



Well plate	Coming 384-well (Flat) P.N.3702 Clear Polystyrene Microplates			Coming 1536-well (Flat) P.N.3730 Echo Qualified Microplates		
	General Incubator	SCALE	CellKeeper	General Incubator	SCALE	CellKeeper
Incubator	General Incubator	SCALE	CellKeeper	General Incubator	SCALE	CellKeeper
液量 $\mu\text{L}/\text{well}$	40			4		
Plate搬送枚数	扉から手操作	スライダ	スライダ	扉から手操作	スライダ	スライダ
	3	3	3	3	3	3

【実験方法】

0 day

- ・各Well plateの空の吸光度測定
- ・各Well plateに滅菌水を分注
- ・分注後、各Well plateの吸光度測定
- ・各Incubatorに上記の条件でWell plateを設置



General Incubator SCALE CellKeeper

3, 6, 9, 12, 15 day

- ・各Incubatorから1枚ずつWell plateを取出し
- ・各Well plateの吸光度測定
- ・測定後、Well plateをIncubatorに戻す

Table Well plate出し入れ・測定操作時間

	General Incubator	SCALE	CellKeeper
384 well plate [min]	2.5	3.2	3.3
1536 well plate [min]	4.7	4.3	4.8

## 3. Micro well plateでの蒸発量測定方法

バイオテック株式会社

BioTek  
A part of Agilent



12ステージワークステーション  
EDR-384SX



ハイブリッドマルチモードプレートリーダー  
Synergy Neo2

滅菌水の分注

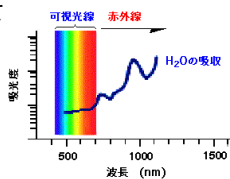
滅菌水の吸光度測定

384well plate  
滅菌水 40  $\mu\text{L}$  / well  
1 plateに1回で分注

①波長977nm、900nmにて  
全Wellの吸光度を測定

1536well plate  
滅菌水 4  $\mu\text{L}$  / well  
1 plateに4回で分注

②吸光度の差分を算出  
吸光度(977nm-900nm)  
全Wellの吸光度を測定



【実験条件】

- ・各実験条件に対して、3枚のMicro well plateを設置
- ・3枚の吸光度差分値について、各座標のWellごとに平均値を算出

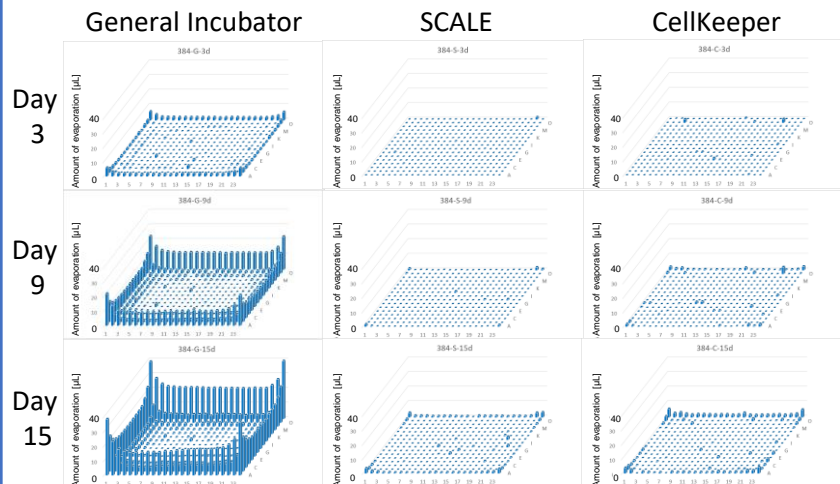
## 4. データ解析方法

【蒸発量の算出】

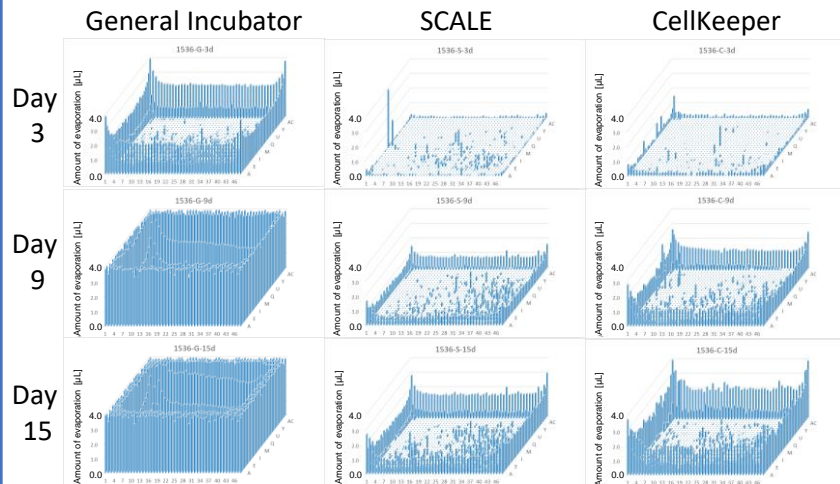
- ①各Micro well plateに対して、吸光度差分値に対する液量の検量線を作成
- ②検量線から、各Wellにおける液量を算出
- ③3枚のMicro well plateの算出から、各Wellにおける液量の平均値を算出
- ④以下の式より、各Wellにおける蒸発量を算出

$$\text{蒸発量} [\mu\text{L}] = 0 \text{ dayの平均液量} [\mu\text{L}] - \text{測定日の平均液量} [\mu\text{L}]$$

## 5. 384well plate蒸発量経時変化



## 6. 1536well plate蒸発量経時変化



## 7. まとめ

- ・ General Incubatorでは、384well plateでは6日目より、1536well plateでは3日目より、最外周のWellにてエッジ効果が確認され、15日目まで外周から5Wellまでの領域で顕著なエッジ効果が確認された
- ・ SCALE、CellKeeperでは、384well plateで15日目に最外周のWellにてわずかなエッジ効果が確認され、1536well plateでは6日目より最外周のWellにてエッジ効果が確認されたが、15日目でも外周から2Wellの領域しかエッジ効果が確認されなかった
- ・ 庫内への容器出入れによる湿度変化量の積分値および庫内の気流については、エッジ効果にほとんど影響しないことが示唆された
- ・ 庫内の相対湿度の値が、エッジ効果に大きく影響していることが示唆された