



MatriMix (511)で包埋培養した細胞の回収方法

ゲルの容量や細胞によって条件が変わるため、適宜濃度や反応時間を調整して下さい。

以下は、12-well plate を用いて 200 μ L のゲルで培養した場合の例になります。

1. 培地を除去して、ゲルを PBS で洗浄する。

2. 0.5 mg/mL Brightase-C (Nippi) を 1 ウェルあたり 1 mL 添加する。

※Brightase-C の調製方法は、製品添付の取扱説明書をご覧ください。

※Brightase-C は、FBS を含まない基礎培地 (Ca 含有) または、2 mM CaCl_2 (+) PBS で希釈して下さい。

3. 37°C で 15–30 分間処理する。

※適宜ゲルの様子を観察して、消化が不十分な場合は反応時間を延ばして下さい。

4. 細胞を遠心回収する。

5. 1 mM EDTA/PBS でウェルに残った細胞を回収して、工程 4. の細胞と懸濁する。

6. 細胞を遠心回収する。

7. 0.25% Trypsin/EDTA を適量添加する。

※回収チューブや細胞の種類に応じて、Trypsin 濃度や液量を調整して下さい。

※細胞塊での回収の場合は、工程 7–10. は不要です。ただし、その場合、Brightase-C の残存によるゲル化の失敗に繋がるため、1 mM EDTA/PBS で複数回洗浄して下さい。

8. 37°C で 3–5 分間処理する。

※予め事前検討を実施の上、細胞の分散度合いや生存率に応じて、適宜反応時間を調整して下さい。

9. FBS(+)培地または Trypsin 中和液を適量添加して、ピペッティングする。

10. 細胞を遠心回収する。

11. 細胞に 10%FBS(+)培地を加えて、ピペッティングする。

12. 細胞数を測定する。

13. 必要量の細胞を分取して、遠心回収する。

14. MatriMix (511)の取扱説明書に従い、包埋培養する。