

接着細胞培養方法

接着細胞の一般的な培養方法をご紹介します。培養方法の詳細は細胞によって異なりますので、ご使用前にメーカーのHPやマニュアル等をご確認ください。

■ 試薬 ■

- ・ 培養用培地……メーカーの推奨している培地(HPやマニュアル等をご参照ください)
- ・ PBS(-) ……カルシウム、マグネシウムを含まないリン酸緩衝液
- ・ トリプシン/EDTA溶液

■ 器具 ■

- ・ 培養容器……シャーレ、フラスコなど
- ・ 遠沈管……先端がV型のものを使用する
- ・ ピペット類

■ 方法 ■

- ① 古い培養液を捨てる。この時に細胞層を傷つけないように注意する。

※細胞の付着していない側面から吸引すると良い。

- ② 吸い取った培養液の半量程度のPBS(-)を静かに加え、細胞層を洗浄する。

- ③ PBS(-)を吸い取り、トリプシン/EDTA溶液を細胞層が浸る程度加え(培養液の1/10量程度)、37℃で加温する。

- ⑤ 顕微鏡にて細胞の状態を観察し、細胞が円球化しつつあれば、血清の入った培地を適量加え、トリプシンの作用を止める。

無血清培地を使用している場合は、トリプシンインヒビターを添加する。

※細胞の状態によって、トリプシンの処理時間が異なるので、良く顕微鏡で観察する。

- ⑥ ピペットにてピペッティングを行い、細胞を培養容器より剥がすと同時に細胞を分散させる。

- ⑦ 細胞懸濁液を遠沈管に移し、メーカーが推奨している条件で遠心回収する。

- ⑧ 細胞を吸引しないように注意しながら、上清を除く。

- ⑨ 軽くタッピングをして細胞を散らせたのちに新しい培地を加え、優しくピペッティングを行い、細胞懸濁液を調製する。

- ⑩ 細胞懸濁液の一部を取り、そのままあるいは適当に希釈した後、血球計算板等にて細胞生存率や生細胞数を測定する。

- ⑪ 各細胞株で推奨されている播種細胞密度で培養容器へ播種する。

<お問い合わせ先>

株式会社ケー・エー・シー 試薬事業部

〒661-0978 兵庫県尼崎市久々知西町 2 丁目 1-20

TEL: 06-6435-9747 FAX: 06-6435-9748

E-mail: shiyaku-info@kacnet.co.jp

HP からもお問い合わせ可能です。

URL: <https://www.saibou.jp/>



細胞培養テクニカル動画

URL: <https://www.saibou.jp/technology/techvideos/cultivation/>

