

スマート細胞培養皿SSCW[®]による細胞培養の基本操作の流れ

—細胞の播種・培養から細胞シートの剥離回収まで—

CS TERM

細胞播種前①

細胞接着因子をプレコート処理し、一定時間 37°C でインキュベーションします(*)。

*必須操作ではありません。細胞が接着しづらい場合にお奨めします。

細胞播種②

培養皿を冷却しないように細胞懸濁液を添加します。

細胞観察③ | 培地交換④

顕微鏡観察の際は培地温度が30°C以下に下がらないようにご注意ください。

培地交換の際は事前に37°Cに温めた培地を培養皿に静かに添加してください。

細胞剥離⑤

培地温度を20~25°Cに下げると、コンフルエント状態に増殖した細胞がシート状に自然剥離できます(*)。

*剥離しづらい場合にはピペッティング操作で剥離しやすくなります。



30°C以下では細胞が接着しない表面となりますので、培養操作時の温度管理にご確認ください。

スマート細胞培養皿SSCW[®]ご使用時のワンポイントアドバイス

《細胞播種前①》

・細胞接着が弱い場合は、あらかじめSSCW[®]培養皿へ細胞に適したマトリクスを入れ、少なくとも30分程度CO₂インキュベーターで37°Cにインキュベーションしてください。フィブロネクチン等の細胞接着因子のプレ・コーティングも有効です。

《細胞播種②》

・培地の入ったSSCW[®]培養皿の中に細胞懸濁液を加える際には、培養皿を冷却しないように、細胞播種操作は少量の枚数(2-4枚)ずつインキュベーターから取り出して行うようにしてください。

《細胞観察③》

・顕微鏡観察は、なるべく速やかに作業し、培地温度を30°C以下に下げないようにしてください。保温プレートのご使用や観察用と培養用で培養皿を分けられることをお勧め致します。

《培地交換④》

・あらかじめ交換する培地を37°Cに温め、静かに(培地を基材壁に伝わらずように)培地交換してください。

《細胞剥離⑤》

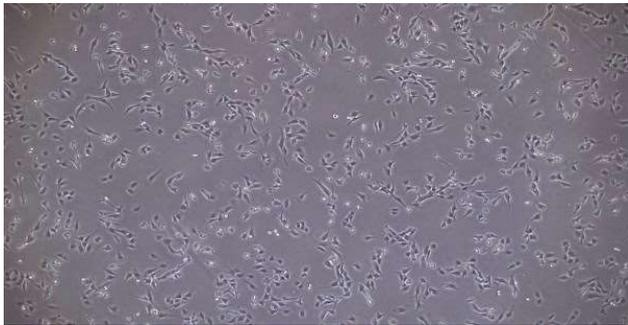
・20°C恒温槽のご使用をお勧め致します。恒温槽をお持ちでない場合、クリーンベンチ内で放置する方法、もしくは培地を除去後、冷蔵庫で冷却した培地あるいは緩衝液と交換し、その後クリーンベンチ内で放置する方法をお試し頂くようにお勧め致します。

・剥離の際、必要に応じてピペッティング(ピペットを使い培地を出入れする操作)を併用し剥離を加速することも可能です。

SSCW[®]-S (標準タイプ)を使用したマウス筋芽細胞株C2C12の接着培養

播種濃度: 1×10^5 細胞/ $\Phi 35$ mm dish、D-MEM(高グルコース)(L-グルタミン、フェノールレッド、ピルビン酸ナトリウム含有) +10% ウシ胎児血清

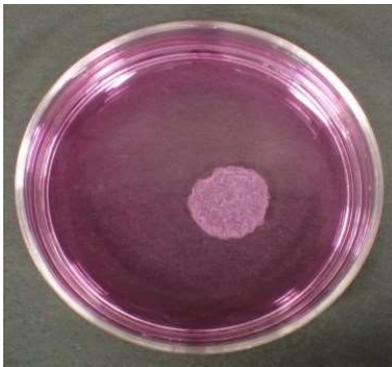
細胞播種1日後



細胞播種5日後



C2C12シートの写真



C2C12シートの位相差顕微鏡像



SSCW[®]-L (接着強化タイプ)を使用したウシ頸動脈正常血管内皮細胞株BAECの接着培養

播種濃度: 1×10^5 細胞/ $\Phi 35$ mm dish、D-MEM(高グルコース)(L-グルタミン、フェノールレッド、ピルビン酸ナトリウム含有) +10% ウシ胎児血清

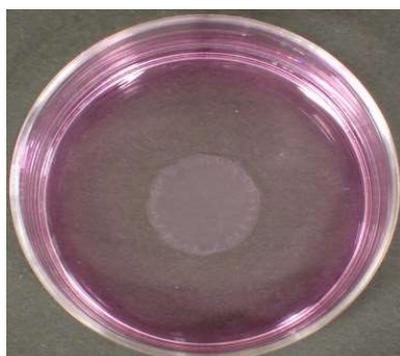
細胞播種1日後



細胞播種5日後



BAECシートの写真



BAECシートの位相差顕微鏡像



提供: 東京女子医科大学先端生命医学研究所 中山正道講師