

プロトコール

Mylc 細胞 Kit Cat.No. M01MD01001

■本キットに含まれているもの

< 冷凍製保存品 >

iMylc-2-D	バイアル (キャップカラー白)	1本	-150°C以下保存
Mylc 専用培地サプリメント A	バイアル (キャップカラーオレンジ)	1本(*)	-80°C保存
Mylc 専用培地サプリメント B	バイアル (キャップカラー青)	1本(**)	-80°C保存

< 冷蔵製保存品 >

Mylc 専用培地 A	100mL	1本(*)
Mylc 専用培地 B	100mL	1本(**)

< 常温保存品 >

専用 T25 フラスコ	2個(***)
-------------	---------

(御留意事項)

(*)サプリメント A は融解後、専用培地 A 10mL あたり 50 μ L の割合で添加します。

(**)サプリメント B は融解後、専用培地 B 10mL あたり 50 μ L の割合で添加します。

(***)細胞バイアル 1本につき 2個利用します

(有効期限：1年)

■注意事項

凍結細胞が届いたら素早く -150°C以下に保存して下さい(一時的に-80°C保存は可能ですが、できるだけ早く-150°C以下に移動させてください)。

■禁忌事項

本製品は、単回での研究用評価のみに使用可能です。

臨床等での再生医療行為及び、他の使用は認められていません。

< 購入者で用意する培地 >

Mylc 細胞洗浄用培地：10%FBS 含有 α MEM/nucleosides(推奨培地 Gibco：Product No.12571-063)

< Kit 材料で調整する培地 >

Complete 培地 A および Complete 培地 B

- ・サプリメント A：培地 A=50 μ L：10mL の割合で培地に添加し調整し冷蔵保存します。残ったサプリメント A は再凍結せず冷蔵で保存し 2週間を目処にお使いください。
- ・サプリメント B：培地 B=50 μ L：10mL の割合で培地に添加し調整し冷蔵保存します。残ったサプリメント B は再凍結せず冷蔵で保存し 2週間を目処にお使いください。

<細胞培養方法>

1. 購入者により用意している洗浄用培地を室温に戻し、そのうち 10 mL は解凍細胞用に 15mL 遠沈管に入れておきます。今回使用分の Complete 培地 A も室温に戻しておいてください。
2. 凍結細胞バイアルを取り出し、37°Cに温めた恒温槽に浸け、軽く振りながら 1 分以内に氷晶が大豆粒程度になるまで解凍します。
3. 手順 1 で用意した洗浄用培地の入った遠沈管に、バイアル中の細胞を素早く入れます。ピペッティングは控えてください。細胞のロスを少なくする為、培地でバイアル内を数回共洗いして下さい。
4. 遠心 (300×g、5 分、室温) して下さい。
5. 少し培地が残る程度に、上清をアスピレーターで除去します。
6. 細胞ペレットの入っている遠沈管に洗浄用培地を 10 mL 入れて穏やかにピペッティングし懸濁して下さい。
7. 手順 4~6 に続いて、手順 4~5 を行って下さい。(培地で 2 回洗浄します。)
8. 2 回洗浄後、細胞ペレットの入っている遠沈管に、予めご用意いただいた Complete 培地 A(**)1 mL (目処) を加えて穏やかにピペッティングし、トリパンブルー染色などで生存率を確認して下さい。
9. 細胞全量を Complete 培地 A に懸濁し、専用 T25 フラスコ (1 個目) で培養して下さい (Total 10mL/フラスコ)。
10. 37°C CO₂ インキュベーター内で 2 日間培養をします。この状態は未成熟樹状細胞ですので測定等に利用する場合はここで利用して下さい。
11. 2 日後、未成熟樹状細胞として培養されています。フラスコの底面を洗うように懸濁し、浮遊細胞を回収して下さい。測定等に利用する未成熟樹状細胞はここで分割して下さい。分化誘導培養を行うため、残り全量を遠心管に入れて 4,5 と同様に遠心操作をします。予めご用意いただいた Complete 培地 B 3 mL (全部を分化誘導する場合は 3mL を目処として細胞量に応じて変更) を加えて穏やかにピペッティングし、セルカウントして下さい。
12. 1×10^6 細胞を Complete 培地 B に懸濁し、新しい専用 T25 フラスコ (2 個目) に播種し 3 日間培養をします (Total 10mL/フラスコ)。

<参考：Mylc 培養上清調整手順>

96 well プレートで培養し種々の評価を行う場合、 1×10^5 cells / mLをおすすめ目します。
調製した細胞懸濁液をよく混ぜ、96 well プレート (平底) に 1×10^4 cells / 100 μ L / well で播種して下さい。
細胞懸濁液の入ったウェルに評価サンプルを添付する場合は、各 well に 100 μ L 入れて下さい。

《本製品に関するお問い合わせ》

マイキャン・テクノロジーズ株式会社

〒615-8245 京都府京都市西京区御陵大原 1-36 京大桂ベンチャープラザ

担当：品質保証部担当者

【Tel】 075-381-3008

【E-mail】 info2@micantechnologies.com

【URL】 <http://www.micantechnologies.com/>