



三次元培養用基材 MatriMix (511)

－取扱説明書－

【製品概要】

MatriMix (511)は、A液 (DMEM、ラミニン 511E8 断片/ヒアルロン酸架橋物)、B液 (炭酸水素ナトリウム)、C液 (ペプシン可溶化 I/III 型コラーゲンと酸抽出 I 型コラーゲンの混合物) の3液で構成される MatriMix シリーズの標準キット品です。培養直前に混合した3液で細胞を懸濁して、37℃条件下でゲル化させることで、三次元的に培養できます。

【内容】

1. A液 (1.85 x DMEM^{*1}、ラミニン 511E8 断片/ヒアルロン酸架橋物) 3.6 mL x 1本
2. B液 (2.5% 炭酸水素ナトリウム) 1.0 mL x 1本
3. C液 (5.0 mg/mL コラーゲン^{*2}) 3.0 mL x 1本

^{*1}3液混合後に1x となる濃縮 DMEM

^{*2}ペプシン可溶化 I/III 型コラーゲンと酸抽出 I 型コラーゲンの混合物

【保存方法・使用期限】

凍結は避けて、2-8℃で保存して下さい。各液を混合した後は速やかに使用して下さい^{*3}。使用期限は各液共に未開栓の状態では製造後6か月間です。

^{*3}各液の混合後は徐々に pH が上昇することでゲル化速度や線維形成に影響が出る場合があります。

【注意事項】

本製品は研究用試薬ですので、人体には使用しないで下さい。誤飲や皮膚等への接触などが発生した場合は速やかに大量の水で洗浄して医師の診断を受けて下さい。

【使用方法】

I. MatriMix 溶液の調製

混合した溶液は長時間保存できませんので、使用直前に調製して下さい。C液のコラーゲン濃度を変更する場合は、下記「III. C液コラーゲン溶液の希釈方法」をご覧ください。

- (1) 使用量に合わせて、A液 : B液 : C液 = 5.4 : 0.6 : 4.0 の量比となるように計算する。
- (2) A液に対して、B液^{*4}、C液^{*5}の順番で氷上において混合する^{*6}。

^{*4}A液にB液を加えることで、灰色がかった青緑色からピンク色に変化します。

^{*5}C液のコラーゲンは粘性が高いため、分取する際はピペット先端に空気が入らないように、ピペット内の液面が完全に停止するまで待つて操作して下さい。また、均一な溶液となるように、しっかりと混合して下さい。

^{*6}各液を最後まで分取するためにはチューブの形状 (直径、高さ) に合ったチップまたはピペットをご利用下さい。

- (3) 使用開始まで4℃または氷上で保存する。

II. MatriMix 溶液を用いた包埋培養

ご使用になられる培養容器や用途に合わせて適宜プロトコールを調整して下さい。但し、MatriMix 溶液の液量が少ない、またはゲルの高さが低い場合、細胞が沈降して、三次元的に培養できない場合がございますのでご注意下さい。細胞が沈降する場合は、あらかじめ作製したゲル上に播種するサンドイッチ培養法をお試し下さい。以下は一例として、12 ウェルプレートないし、それ以上の底面積であるマルチウェルプレートまたは、ディッシュを用いた培養方法を記載しています。

(1) あらかじめ培養容器を 37℃に設定した CO₂ インキュベーターで加温する。

(2) 常法に従い、必要量の細胞を準備する。

(3) MatriMix 溶液との混合前に、細胞を遠心回収して、氷上で保存する。

※MatriMix 溶液が薄まることを避けるため、可能な限り培地等を除去して下さい。

(4) 上記「I. MatriMix 溶液の調製」で準備した MatriMix 溶液を 150–250 μL 分取して、気泡が入らないように穏やかに細胞を懸濁する。

(5) 培養面の中央付近に MatriMix 溶液をドーム状 () に滴下する。

(6) 37℃に設定した CO₂ インキュベーター内で 30 分以上静置して、ゲル化させる。

※ゲル化前は溶液が垂れてウェル壁面に接触しやすいため、慎重に移動させて下さい。

※ゲル化すると薄く白濁します。ゲル化していない場合は静置時間を延長して下さい。

(7) ゲルが浸るように適量の培地をウェル壁面沿いに穏やかに添加して、培養を開始する。

III. C 液コラーゲン溶液の希釈方法

ゲルの固さを調整するために、本製品の C 液コラーゲン溶液は最大 2 倍まで希釈可能です。より高い希釈倍率が必要な場合や、他の因子（成長因子や細胞外基質など）を混合する場合は、MatriMix@nippi-inc.co.jp までご相談下さい。

(1) 滅菌水を 4℃または氷上で冷却する。

(2) 最大 2 倍希釈の範囲で設定した量比となるように新しいチューブに滅菌水を分取する。

(3) 必要量の C 液を分取して、氷上において滅菌水としっかりと混合する。

(4) 上記「I. MatriMix 溶液の調製」に従い、MatriMix 溶液を調製する。

IV. その他情報

上記「II. MatriMix 溶液を用いた包埋培養」の培養方法以外にも、サンドイッチ培養法やゲル上培養法なども行なうことが可能です。ご不明点などございましたら、MatriMix のウェブサイト (<https://matrimix.nippi.bio/>) の FAQ をご覧頂くか、MatriMix@nippi-inc.co.jp までご連絡下さい。