

霊長類 ES / iPS 細胞用凍結保存液 ステムセルキープ



ステムセルキープは、ガラス化能を高く維持したまま細胞毒性を低く抑えるよう最適化された、霊長類 ES / iPS 細胞用のガラス化凍結保存液です。

※本製品は研究用です。臨床用途には使用できません。

ご注意

※目的の細胞で事前に予備試験を実施して下さい。

※高い生存率を得るためには、細胞を保存液に懸濁した後、直ちにバイアルを液体窒素中へ浸漬する必要があります。事前に十分に準備をしてから操作を開始して下さい。また、解凍時もバイアルにあらかじめ温めた培地を添加して、すぐに溶解させた方が生存率は高まります。

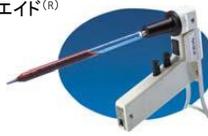
ご用意していただくもの

ステムセルキープ	細胞剥離液	ヒトES / iPS細胞用培地	PBS	液体窒素
セルスクレイパー	電動ピペッター	5 ml滅菌ピペット	15 mlチューブ	細胞保存用クライオチューブ

関連製品のご案内

フナコシでは、細胞剥離液、アスピレーター、クライオチューブなど関連製品を各種取り揃えています。フナコシホームページの検索画面に下記製品ページ番号を入力することで、製品の詳細をご覧頂けます。ぜひご活用下さい。



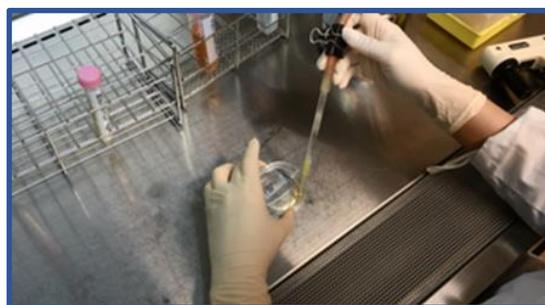
<p>細胞剥離液</p> <p>製品ページ番号: 2334</p>  <p>組織および培養細胞分離 / 分散溶液 Accutase</p>	<p>ヒト iPS細胞培養用培地</p> <p>製品ページ番号: 8571</p>  <p>フィーダー細胞フリーでの培養を可能にする培養液と増殖添加剤のセット CELRENA</p>	<p>アスピレーター</p> <p>製品ページ番号: 4200</p>  <p>トラップ用フラスコ付きアスピレーター アスピレーター FTA-1</p>	<p>電動ピペッター</p> <p>製品ページ番号: 8175</p> <p>電動式ピペット吸引器具 ピペット・エイド シリーズ</p>  <p>ピペット・エイド^(R) XP</p>
<p>セルスクレイパー</p> <p>製品ページ番号: 6887</p>  <p>接着性培養細胞の回収用ツール Cell Scraper / Cell Lifter</p>	<p>卓上遠心機</p> <p>製品ページ番号: 3346</p>  <p>ベンチトップサイズの低速遠心機 LMC-3000</p>	<p>クライオチューブ</p> <p>製品ページ番号: 5957</p>  <p>白色の書き込み面と黒色の目盛りを2色プリントしたクライオチューブ CryoFreeze Tube</p>	<p>ピペット・エイド^(R) XPress</p>  <p>ピペット・エイド^(R) Gravity Drain</p> 

操作① 細胞剥離液の添加

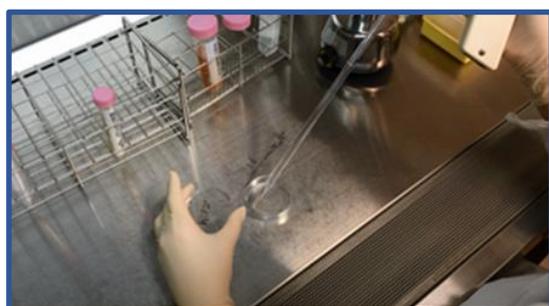


1. コンフルエントになったヒト iPS細胞を用意する。

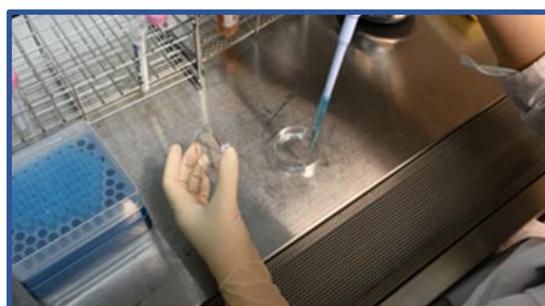
※60 mmディッシュでコンフルエントの場合、
1~5バイアル程度へ凍結可能。



2. 培地をピペットで吸引除去する。



3. PBSで2回洗浄する。



4. 細胞剥離液を1 ml添加する。

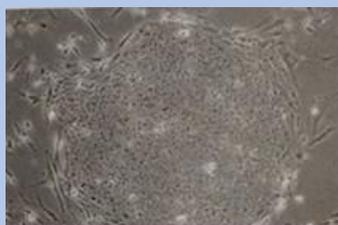
※細胞剥離液: 0.25%トリプシン/1 mg/ml
コラゲナーゼIV / PBS溶液



5. シャーレを軽くたたき、フィーダー細胞を剥がす。



6. 顕微鏡下で、フィーダー細胞の剥離を確認する。



細胞剥離液処理前



細胞剥離液処理後

操作② 細胞剥離



1. 細胞剥離液をピペットで吸引除去する。

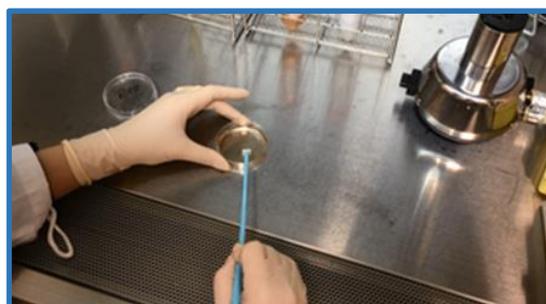
※必要に応じて血清含有の培地でトリプシン/EDTAの反応を停止させて下さい。



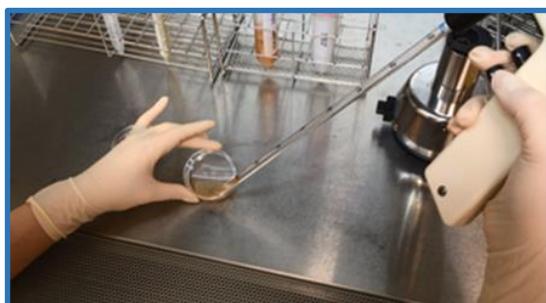
2. PBSで1回洗浄する。



3. ヒト iPS細胞用培地を 4 ml 添加する。



4. セルスクレイパーでヒト iPS細胞を剥がす。



5. 軽くピペッティングをする。これを 5回繰り返す。



6. 剥がれた細胞を培地ごと 15 mlチューブに回収する。



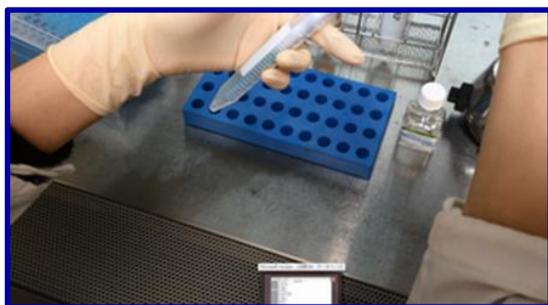
7. 1,000 rpmで5分間遠心する。



8. 遠心後の 15 mlチューブからピペットで上清を吸引除去する。

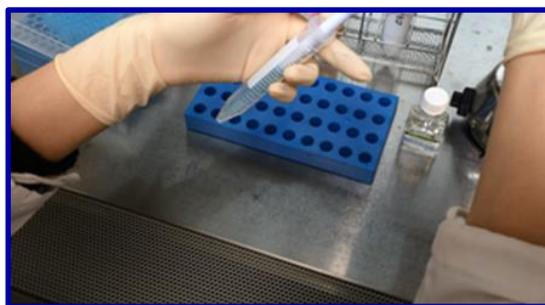
※複数本凍結する場合はここで氷冷しておき、1本ずつガラス化凍結の操作を行う。

操作③ ガラス化凍結



1. ステムセルキープを 200 μ l 添加する。

※これ以降, 液体窒素に入れるまでの操作は 30 秒以内に行う。



2. よくピペティングする。



3. 細胞保存用のクライオチューブに速やかに回収して蓋を閉める。

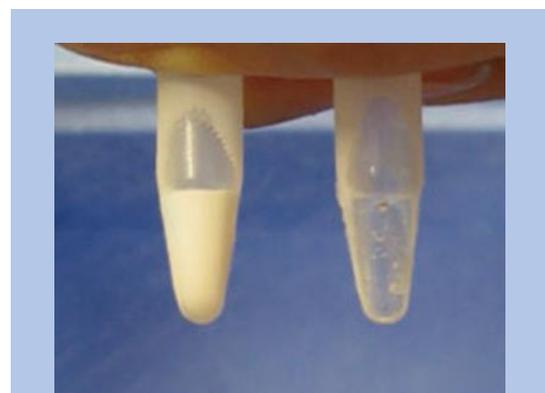


4. クライオチューブを直ちに液体窒素に浸漬し, ガラス化凍結を行う。

※液が透明ならガラス化が成功している。



5. 液体窒素タンクまたは -130°C のディープフリーザーで保存する。



右: ガラス化が成功した例

左: 再結晶化が起こり白濁した例

操作④ 解凍



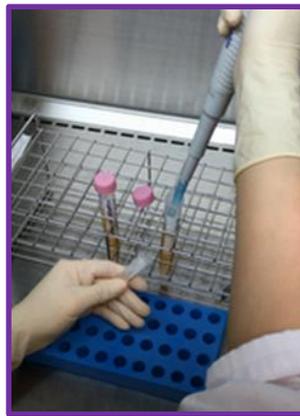
1. 37°Cで温めた培地を準備し、9 mlの培地を入れた遠心管を必要本数用意する。



2. ステムセルキープで凍結した細胞のバイアルを、デュワー瓶などに入れた液体窒素中でクリーンベンチまで運ぶ。



3. 取り出したバイアルの蓋をあけ、軽く手で温める。温めておいた培地 1 mlを素早く添加し、ピペティングして懸濁する。

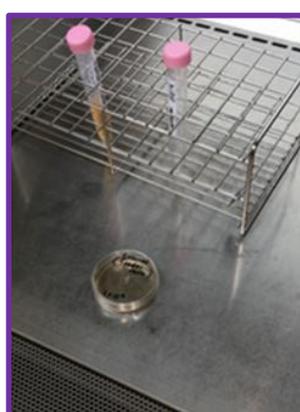


4. 1. で用意した 9 mlの培地入り遠心管に 3. の全量を移す。

※バイアルに培地を加えてピペティングしながら、遠心管に移す。



5. 1,000 rpmで 5分間遠心して、洗浄する。
※トリパンブルーを使用する際には、必ず洗浄する。



6. フィーダー細胞上に播種し、培養する。

販売店



総代理店

フナコシ株式会社

〒113-0033 東京都文京区本郷2丁目9番7号

http://www.funakoshi.co.jp/ e-mail: info@funakoshi.co.jp

試薬に関して: Tel. 03-5684-1620 Fax 03-5684-1775

e-mail: reagent@funakoshi.co.jp

受託に関して: Tel. 03-5684-1645 Fax 03-5684-6539

e-mail: jutaku@funakoshi.co.jp