



Accumax™を使用した組織からの初代培養プロトコール

CATALOG#: AM105

本製品は、プロテアーゼおよびコラーゲン分解酵素、DNase による培養細胞分散化剤です。

正確にセルカウントを行うための細胞凝集塊の単一細胞への分散、初代組織培養時の細胞への分散、標準的な組織培養用プラスチック容器およびコートされたプラスチック容器からの細胞剥離に、ルーチンでご使用いただけます。

ACCUMAX は哺乳動物、バクテリア由来成分を含みません。

形 式: 100 ml ready-to-use 滅菌済凍結液体

品質管理:

1. USP メンブレン濾過法による滅菌テスト済
2. 組織培養用プラスチック容器からの細胞剥離テスト済

成 分: 1 × ACCUMAX 酵素を Dulbecco's PBS で溶解
(Dulbecco's PBS: KCl 0.2 g/l, KH_2PO_4 0.2 g/l, NaCl 8 g/l, Na_2HPO_4 1.15 g/l)

安 定 性: -20°Cで安定です。解凍後2ヶ月以内は4°Cで保存可能
室温では保存しないでください。
冷蔵で一晩、または室温のウォーターバスで解凍してください。

必要な器具、試薬:**<滅菌済み>**

- ・ 解凍済みの本製品 (使用直前まで冷蔵保存してください)
- ・ DPBS (カルシウム、マグネシウムフリー)
- ・ 培地 例) DMEM/F12 with 10 – 20% FBS (またはその他適切な培地)
- ・ ピペッター 1mL, 10mL
- ・ ペトリ皿 -100 mm, non-tissue culture grade
- ・ T25 培養フラスコ
- ・ 遠心チューブ 15-50 ml (使用する組織の量に応じる)
- ・ メス、ハサミ

<滅菌不要>

- ・ プラットフォームロッカー (シーソー型)
- ・ トリパンブルー
- ・ 倒立顕微鏡
- ・ 遠心機

使用手順

1. 滅菌済み DPBS を入れたペトリ皿に組織を入れ、DPBS でリンスします。
2. もう1つのディッシュに組織を移し、不要な脂肪などを取り除きます。
3. ハサミやメスなどで組織を1mmほどの小さい断片に切り刻みます。

4. 新しい滅菌済み DPBS が入った 15 または 50mL の滅菌済み遠心チューブに断片を移します。
5. 組織断片を沈下させ、上清を注意深く取り除きます。この洗いを 2 回繰り返します。
6. 組織断片を新しいペトリ皿に移し、組織切片が十分に浸される程度の量の Accumax を加えます。
7. サンプルチューブを室温で、5-60 分プラットフォームロッカーなどのシェイカーでインキュベートします。
 - ・細胞をさらにばらばらにする場合は、穏やかなピペティングで攪拌をしてください
 - ・このインキュベーション中に数回細胞の生存率をカウンするとより良いです。
8. 細胞が完全にほぐれたら、細胞を滅菌済みチューブに移し、300g で遠心し、必要であれば細胞断片を除去してください。
9. 上清を注意深く取り除き、5mL の 10-20%FBS を含む DMEM/F12 で再懸濁します。または他の適切な培地を使用しても構いません。T25 フラスコに細胞をまきます。48 時間後に培地を交換してください。

オプション（肝臓などのやわらかい組織を使用する場合）

1. 1. 滅菌済み DPBS を入れたペトリ皿に組織を入れ、DPBS でリンスします。
2. もう 1 つのディッシュに組織を移し、不要な脂肪などを取り除きます。1-2mL の Accumax を加えてハサミで組織を細かくします。
3. 残余結合組織を取り除きたい場合はフィルターに通す、または沈殿させて取り除きます。
4. 300g で遠心し、細胞を沈殿させます。
5. 注意深く上清を取り除き、5mL の 10-20%FBS を含む DMEM/F12 で再懸濁します。または他の適切な培地を使用しても構いません。T25 フラスコに細胞をまきます。48 時間後に培地を交換してください。