

！ 培養開始にあたっての注意 ！

APS0010:iPS-S1 は、通常の多くの細胞とは異なります。

<融解時>

- ・融解後に必ずセルカウトを行い、生存細胞数が $1.0\text{--}3.0 \times 10^5$ cells/100mm dish (または、 $3.0\text{--}10.0 \times 10^4$ cells/60mm dish) になるように調整して培養を開始してください。
- ・融解直後は増殖性が低下しているので、継代まで 4-5 日必要となります。
- ・図 3) のようなコロニーが確認されたら継代操作を行ってください(画像参照)。

<継代時>

- ・継代時にも必ずセルカウトを行い、生存細胞数が $1.0\text{--}3.0 \times 10^4$ cells/100mm dish、(または、 $0.5\text{--}1.0 \times 10^4$ cells/60mm dish) になるように調整してください。
- ・継代時の洗浄には DMEM/F12 培地 (KSR 不含) を使用してください。
- ・継代操作には DMEM/F12 培地 (KSR 不含) で希釈した 0.1% Trypsin にて解離を行ってください。
- ・Single cell に単離して継代を行ってください。

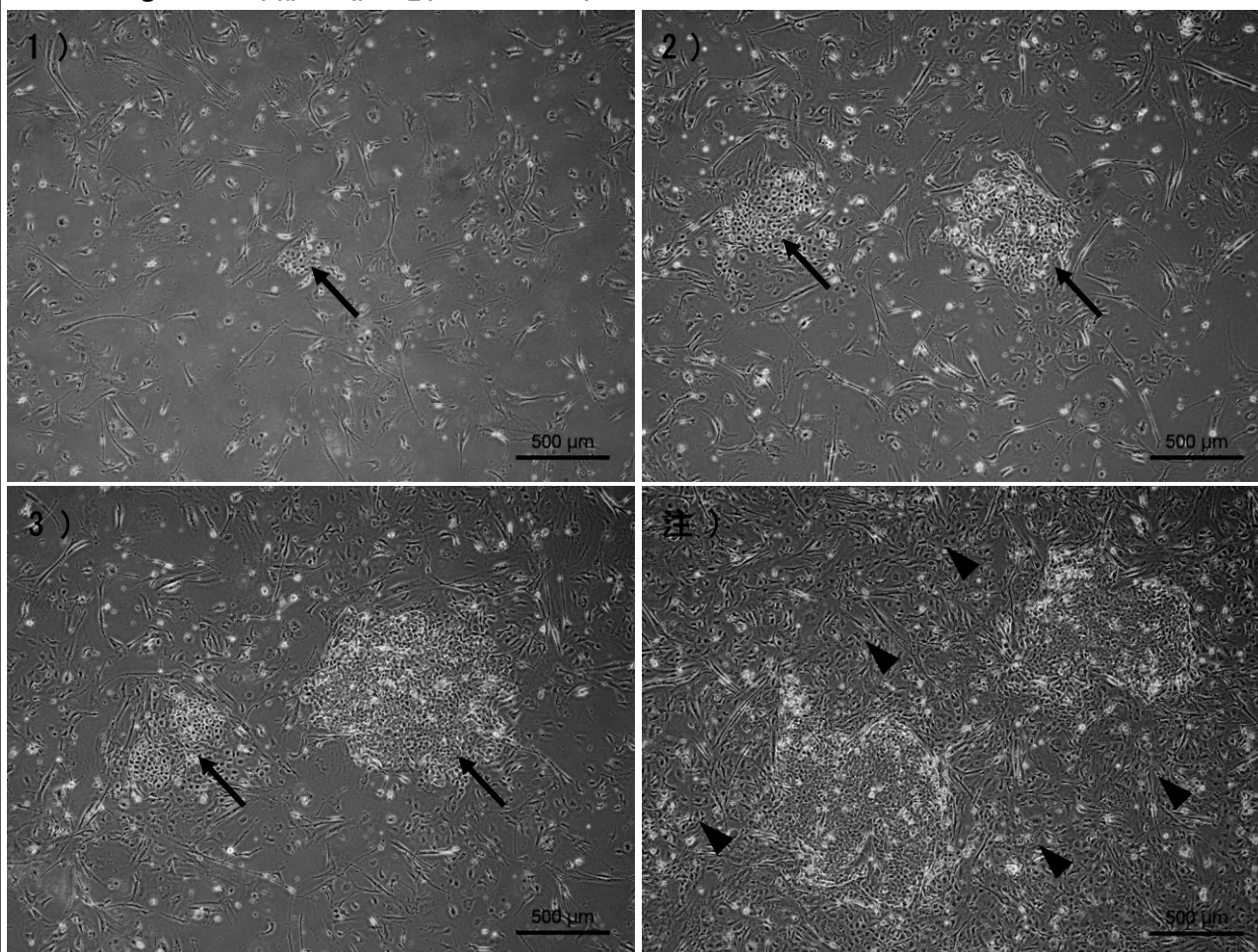


図. ウサギ iPS 細胞の増殖形態。融解 3 日後から 5 日後までを示す (3.0×10^5 cells/100mm dish で播種)。

- 1) 融解 3 日後、細胞が顕著に増殖を開始し、コロニー様の細胞の集合(矢印)が確認できる
- 2) 融解 4 日後、更に細胞が増殖し、細胞の輪郭が不明瞭なコロニー(矢印)が形成され始める
- 3) 融解 5 日後、継代可能なコロニー(矢印)が多数形成され、継代に適した状態になる(継代直前)

注) 融解後の播種数が多すぎると、コロニーを形成しない細胞(矢頭)が足場を埋め尽くし、良好な状態の iPS 細胞の増殖を妨げる原因となる (5.0×10^5 cells/100mm dish で播種、融解後 5 日後の様子)

培養の開始にあたりましては、この点にご留意ください。

【お問い合わせ】 cellqa.brc@riken.jp