

！ 培養開始にあたっての注意 ！

培養の開始にあたりましては、以下の点にご留意ください。

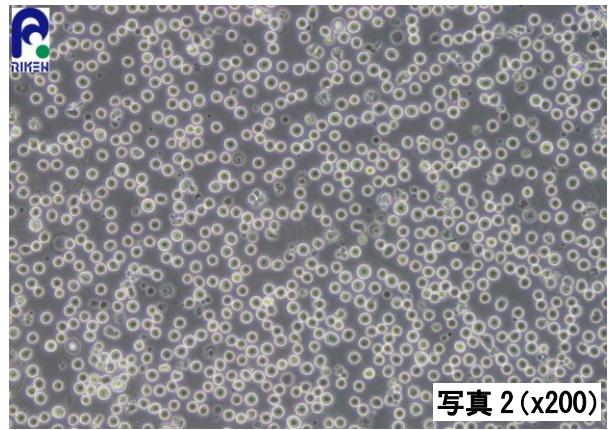
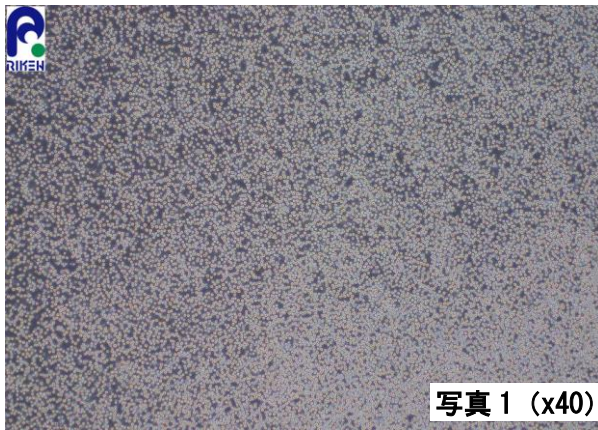
RCB1296 : HNT-34 Lot. 4

- ・融解操作によるダメージが大きい細胞です。
融解は必ず1本ずつ行い、できるだけ短時間で操作を完了して、速やかにインキュベータに移してください。
- ・遠心機は冷却せずに室温で使用してください。
- ・遠心 (DMSO の洗浄) は 1000 rpm 1 回に留め、穏やかなピペティングで再懸濁してください。
- ・このロットは 5.3×10^6 cells/tube で提供されます。
細胞密度を高く保つ事が重要で、特に融解時の細胞密度はその後の増殖に大きく影響します。
35mm dish をご使用の場合、培地 4mL で懸濁し、2mL ずつ 2 枚の播種が目安です。
他の培養容器をご使用の場合は 1×10^6 cells/mL を目安に播種して下さい。
- ・融解翌日は生存率が 4 割程度まで低下し、死細胞が集まって浮遊します。
数日*程度で回復してきますので、その間は 何も操作は行わず (回収、遠心、培地交換、継代 等) に裏面の C (写真 5、6) 位まで増殖するのを待ってから、最初は 1:2 ~ 1:4 位を目安に希釈して継代を行って下さい。
*融解操作の影響によって、回復までに必要な日数は変動します。(目安 3~7 日)
- ・増殖が安定してくれば 1:4 ~ 1:8 の希釈で継代が可能です。
その後の維持培養ではオーバーグロース (密度過剰)にもご注意ください。

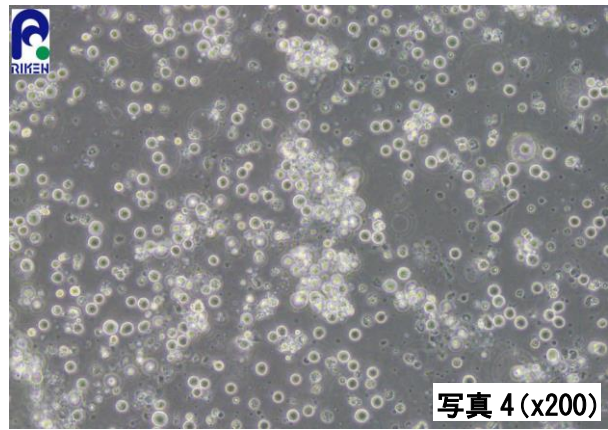
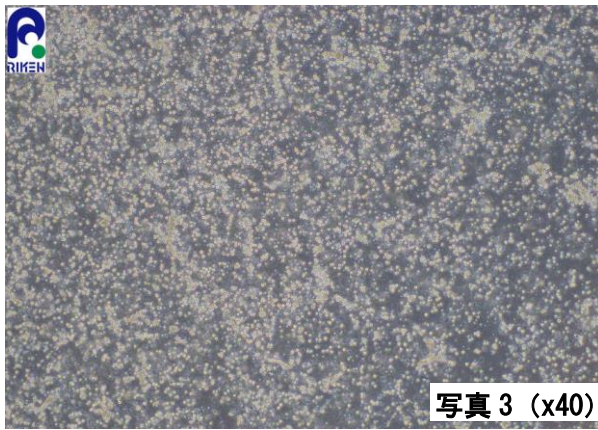
[→ 裏面に融解~継代までの写真があります]

【お問い合わせ】 cellqa.brc@riken.jp

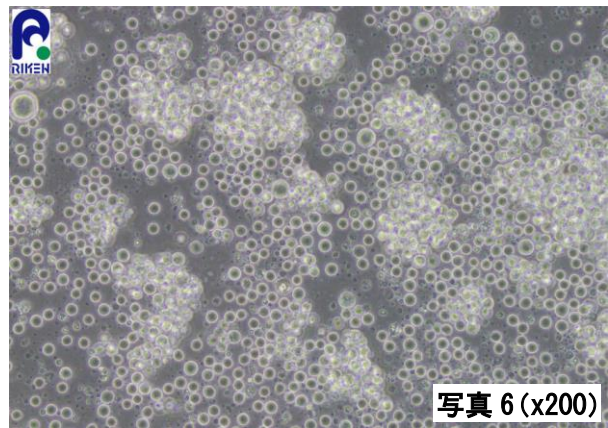
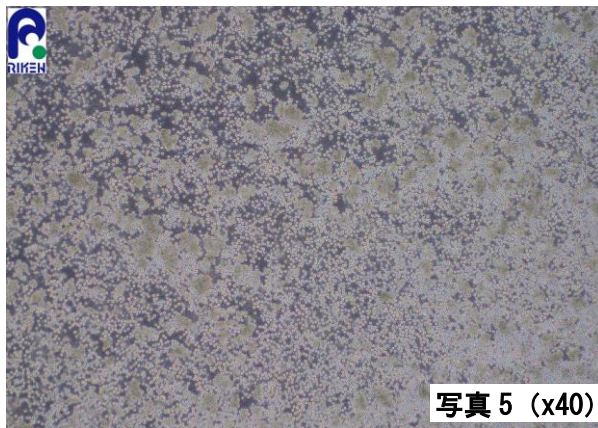
A 融解直後 ほとんどの細胞が輪郭のはっきりとしたきれいな球状をしている



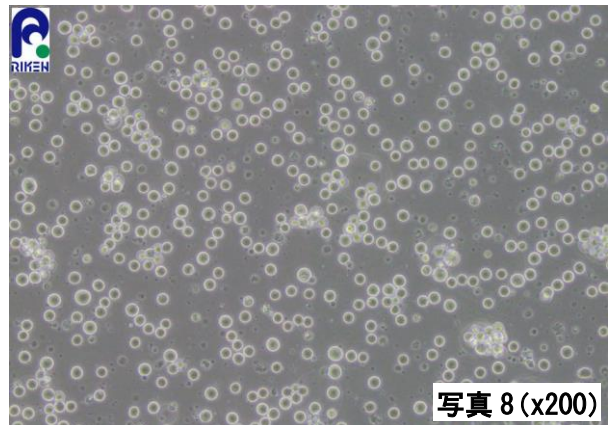
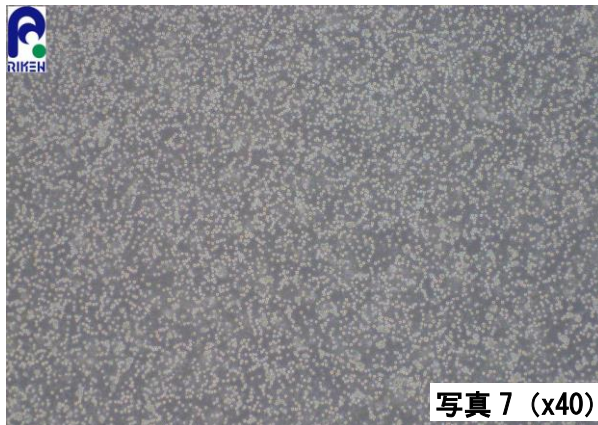
B 融解翌日 生存率が4割程度まで低下し、死細胞が集まって浮遊する



C 融解5日後 活発な増殖像が観察され、細胞が回復する → 最初の継代のタイミング



D 継代翌日 「C 融解5日後」を1:4で継代した場合の翌日の観察像



※重要 A ~ C の期間は何も操作を行わない (回収、遠心、培地交換、継代等)