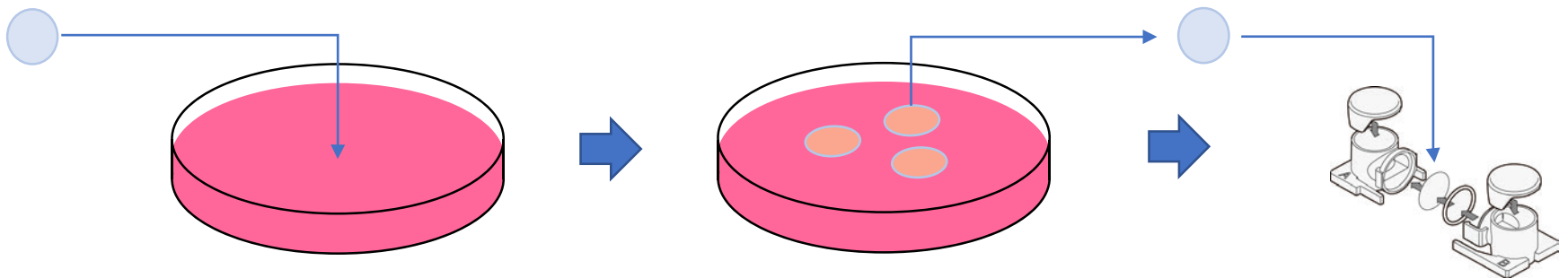
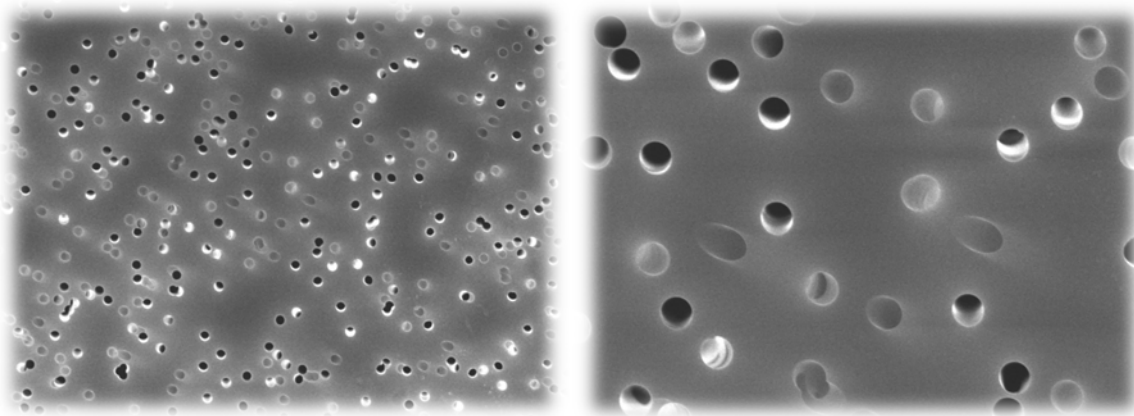


トラブルシューティング事例集 フィルター

共培養効果を見るためには、フィルターの処理が重要です。
フィルターには微細な孔が空いており、その中に空気が入っています。
使用前に十分に脱気しないと、空気が残存し孔を塞いだままになり、共培養効果が低下する可能性があります。



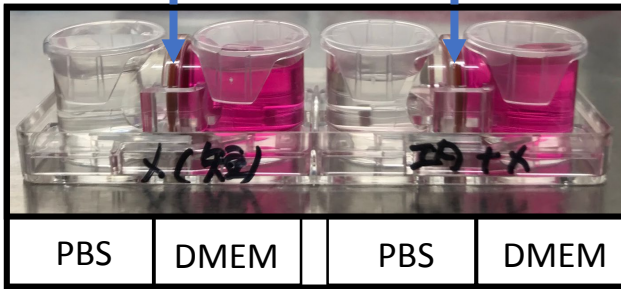
お勧め) 5分程度使用するメEDIUMに浸しておく。
ピンセットでフィルターをつまんで、よくすすいでから取り出す。
更にお勧め) メEDIUMに浸す前に100%エタノール1分処理

トラブルシューティング事例集 培地の移動

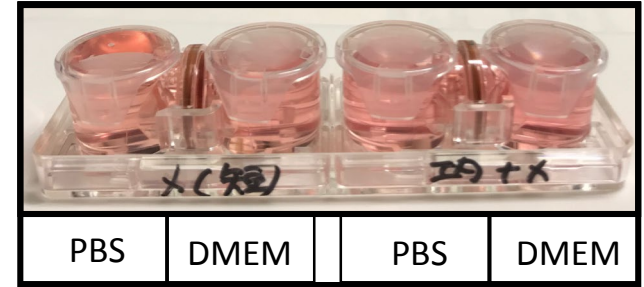
フィルター前処理による違いについて

0.6 μ m孔径フィルター
処理：メディウム (10秒)

0.6 μ m孔径フィルター
処理：70%エタノール
+メディウム (10秒)

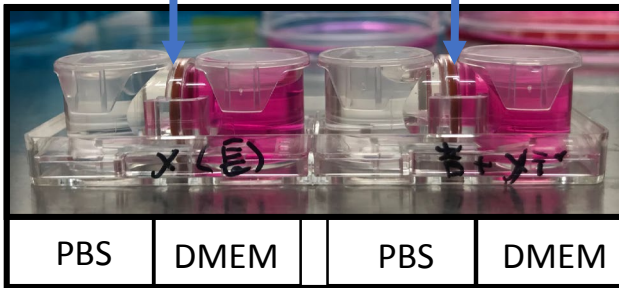


CO2インキュベーター
37°C 18時間

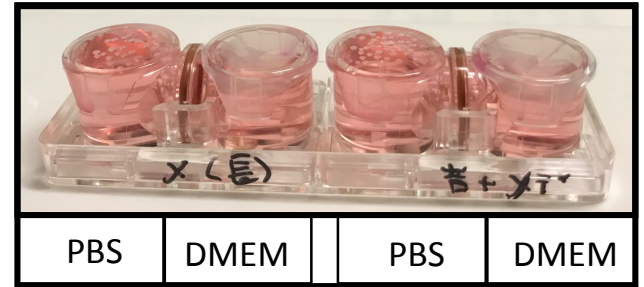


0.6 μ m孔径フィルター
処理：メディウム (3分)

0.6 μ m孔径フィルター
処理：メディウム+超
音波処理 (3分)



CO2インキュベーター
37°C 18時間



フェノールレッド色から見た移動度は、差がありませんでした。

トラブルシューティング事例集 BSA通過度

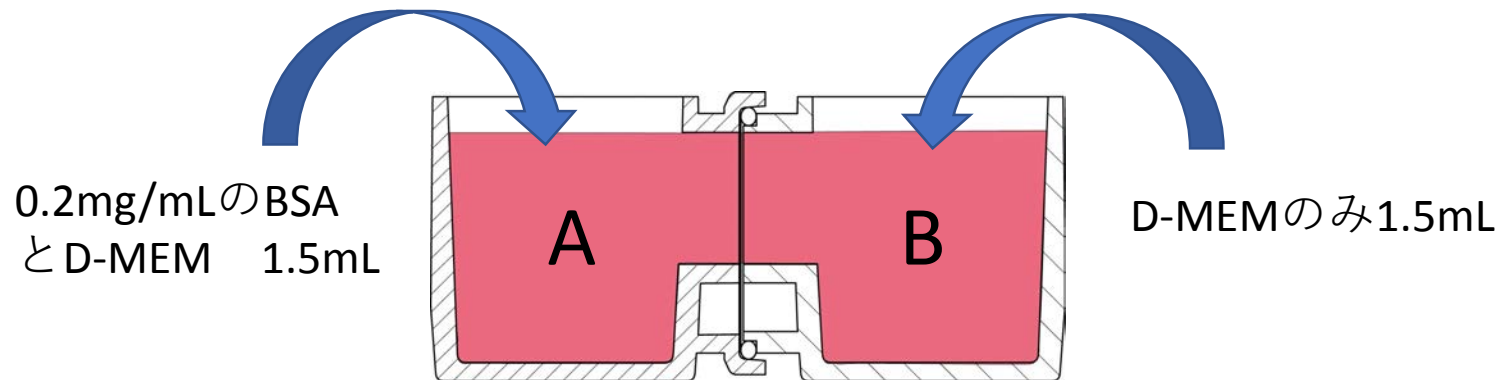
フィルター前処理による違いについて Bovine Serum Albumine (BSA)を用いた蛋白通過性の検討

0.6 μ m poreのfilterを使用。

Aには0.2mg/mLのBSAとD-MEM 1.5mL

BにはD-MEMのみ1.5mL

ドッキング後、6h,24h,48h,72h後にA,Bサイドから100 μ Lずつ回収し、その分を毎回補充した。回収したサンプルをタンパク定量し、時間ごとの移行率を算出した。



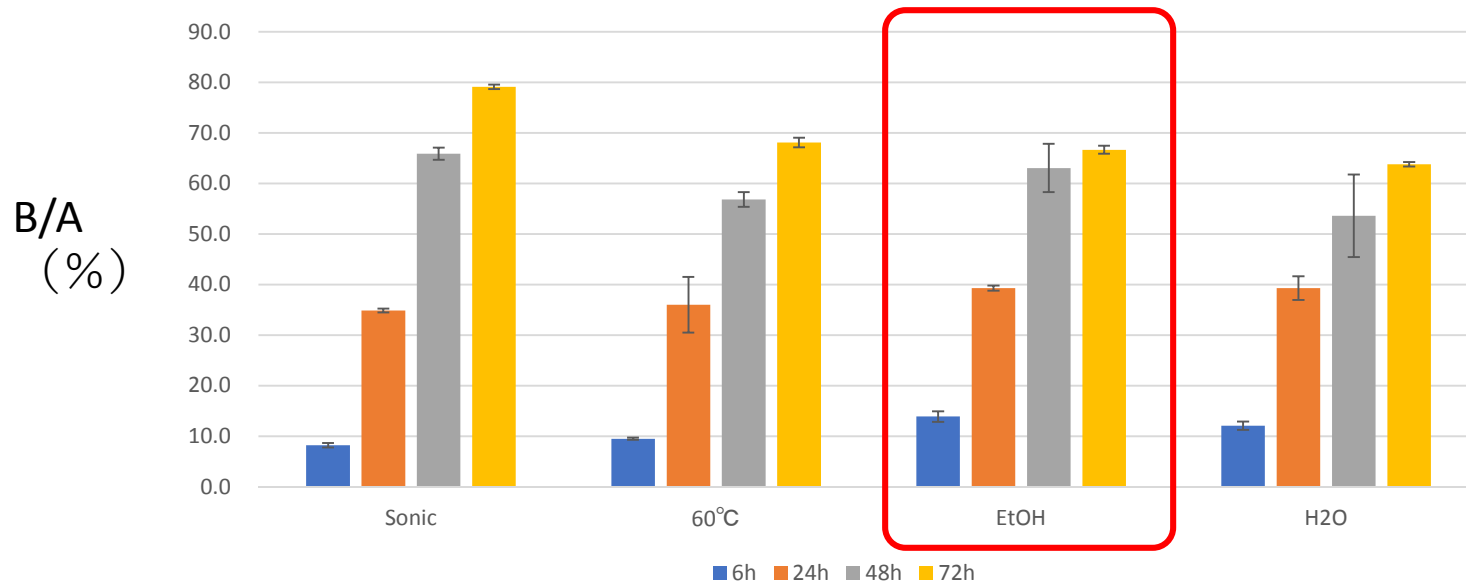
6h,24h,48,72h後に左右A,BのBSA量を定量
(Bへの移動度について割合(%)を測定した。)

トラブルシューティング事例集

BSA通過度

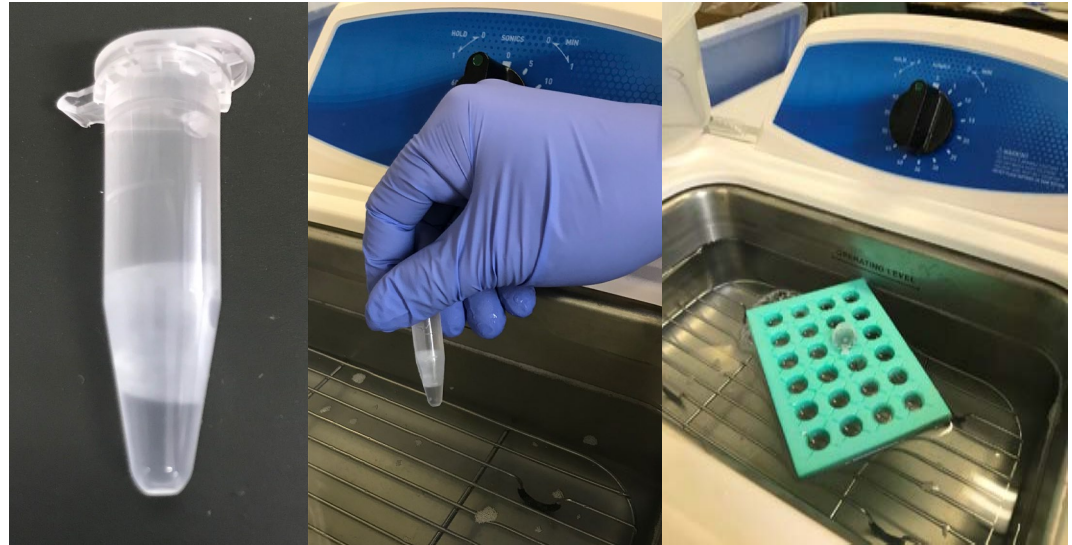
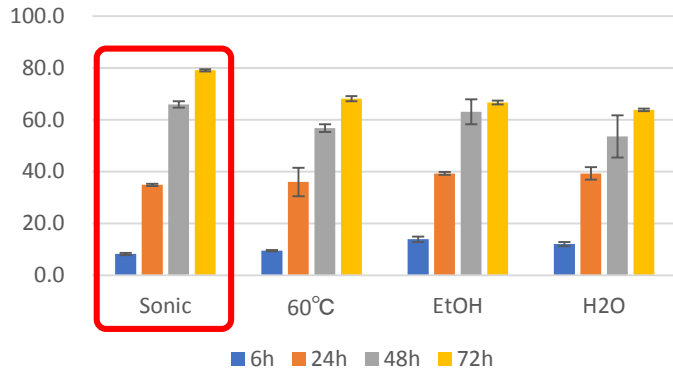
処理名	処理方法	⇒	⇒	⇒	⇒
Sonic	チューブにFilterを入れ、H2Oで満たし、超音波処理を5min行った				
60°C	チューブにFilterを入れ、60°Cに加熱したH2Oで満たし、60°Cで5min加熱した				
EtOH	EtOHに1min浸した				
H2O	H2Oに1min浸した				

フィルター前処置の違いによる通過性の違いについて



トラブルシューティング事例集 BSA通過度

フィルター前処置の違いによる
通過性の違いについて



全体として、前処理の違いで大きな違いはなさそうですが、超音波処理を加えた方が、72h後のBSAの移行度がやや良いという結果になりました。但し、現時点では、超音波によるフィルター孔への影響について確認しておらず、振動による孔の断裂の有無が確認できていませんので、推奨できないという判断になりました。今後、結果を確認できましたらご報告させていただきます。また60度の温水処理も室温の水より有効である可能性はありますが、それほど通過性の違いがないこと、手間暇を考慮すると、エタノール前処理で十分という判断になりました。何もしないより、エタノール処理で48時間後付近の通過度が良い可能性がある結果でしたので、推奨はエタノール処理です。但し、これまでに我々が行ってきた、何もせずメディアに浸してから使用する方法でも問題ないと思われました。BSAでも通過にある程度時間を要しています。一方の容器のみに細胞を入れた実験などは、細胞が産生する物質のフィルター通過に時間がかかるため、左右濃度差が生じることも念頭においてください。