

PuREC 株式会社
〒693-0021 島根県出雲市塩冶町89-1
TEL: 0853-25-3033
FAX: 0853-25-3032

The logo for PuREC, featuring the letters 'Pu' in a white, rounded font on a black background, followed by 'REC' in a white, bold, sans-serif font on a black rectangular background.

REC 細胞培養プロトコル

推奨培地

- DMEM (Low Glucose)
- 20% FBS (HyClone)
- Hepes 0.01mol/l
- Penicillin 100units/ml
- Streptomycin 100ug/ml
- bFGF 20ng/ml

※培地は bFGF 以外を混合して冷蔵保存しておきます。bFGF は使用毎に必要な量を添加し、室温で使用してください。

準備

凍結バイアルを解凍する前に 15ml チューブに培地 10ml（室温）を入れておきます。

1. 凍結チューブを液体窒素タンクから取り出します。
2. ピンセットで凍結チューブのフタを保持して 37°Cのウォーターバスにつけて解凍します。フタのパッキン部分まで浸らないように注意してください。
3. 解凍されたら凍結チューブの表面をエタノールでよく拭いてからフタを開けてください。
4. 1ml の培地を加え、ピペッティングで穏やかに攪拌して、培地を入れておいた 15ml チューブに全量を移してください。
5. 200 x g で 5 分間遠心し、上清を吸引除去後、細胞ペレットを新しい培地に再懸濁しセルカウントを行い、 5×10^3 cells/cm²を目安に播種し、37°C 5%

CO₂ インキュベータにて、インキュベートしてください。

6. 培地交換は播種 2~3 日後に 1 回、50%コンフルエントを超えたら毎日行ってください。

継代

1. 顕微鏡で観察し、70~80%コンフルエントになっていることを確認してください。
2. 培地を吸引除去し、10ml (100mm ディッシュの場合) の PBS(-)を加えて細胞表面を洗浄してください。
3. PBS(-)を吸引除去し、1ml (100mm ディッシュの場合) の 0.05%トリプシン EDTA を加えて、CO₂ インキュベータで 3~5 分間インキュベートしてください。
4. 顕微鏡で細胞を観察し、細胞が浮き上がってきているのを確認し、必要に応じて、培養容器の側面をそっと指でたたき、貼り付いている細胞を浮き上がらせてください。
5. 培地を加えて、トリプシンを不活性化し、全量を回収して 200 x g で 5 分間遠心してください。
6. 上清を吸引除去後、細胞ペレットを新しい培地に再懸濁しセルカウントを行い、新しい培養容器に播種してください。