

## 接着細胞培養法

### ■ 試薬 ■

- ・ 培養用培地……カタログまたはフラスコ添付ラベル参照のこと
- ・ PBS(-) ……カルシウム、マグネシウムを含まないリン酸緩衝液
- ・ 0.25%トリプシン溶液
- ・ 0.02%EDTA溶液

### ■ 器具 ■

- ・ 培養容器……シャーレ、フラスコなど
- ・ 遠心管……先端がV型のものを使用する
- ・ ピペット類……10～15mLおよび1-2mLのピペットと、パスツールピペットが必要

### ■ 方法 ■

- ① 古い培養液を捨てる。この時に細胞層を傷つけないように注意する。  
※細胞の付着していない側面から吸引すると良い。
- ② 吸い取った培養液よりやや多めのPBS(-)を静かに加え、細胞層を洗浄する。
- ③ PBS(-)を吸い取り、0.02%EDTA溶液を細胞層が浸る程度加え、細胞層を洗浄する。
- ④ 0.02%EDTA溶液を吸い取り、0.25%トリプシン溶液を細胞層が浸る程度加える。
- ⑤ 顕微鏡にて細胞の状態を観察し、細胞が円球化しつつあれば、血清の入った培地をトリプシン溶液と等量加え、トリプシンの作用を止める。  
※細胞の状態によって、トリプシンの処理時間が異なるので、良く顕微鏡で観察する。
- ⑥ 先の細いパスツールピペットにてピペッティングを行い、細胞を基質より剥がす。
- ⑦ 細胞浮遊液を遠心管に移し、培地を加えてパスツールピペットにて激しく20回程度ピペッティングを行い、100～110Gで1分間遠心する。
- ⑧ 細胞沈査を確認し、上清を捨てる。
- ⑨ 新しい培地を既知量加え、先の細いパスツールピペットにて優しくピペッティングを行い、細胞浮遊液を作製する。
- ⑩ 細胞浮遊液の一部を取り、そのままあるいは適当に希釈した後、血球計算板にて生細胞数を測定する。(位相差顕微鏡にて白く光って見えるのが生細胞であり、黒く見えるのが死細胞である。)
- ⑪ 各細胞株に最も適した細胞濃度で新しい培養容器へ播種する。

株式会社ケー・イー・シー  
試薬事業部

〒661-0978 兵庫県尼崎市久々知西町2丁目1-20

(お問い合わせ窓口)

TEL: 06-6435-9747 FAX: 06-6435-9748

URL: <http://www.kacnet.co.jp/>

E-mail: [cs-info@kacnet.co.jp](mailto:cs-info@kacnet.co.jp)