

生細胞トラッキング色素 BDTM DiIC12(3)による線維状コラーゲン表面で 増殖している細胞の染色

染色前の注意事項：

コラーゲン細胞キャリア（CCC）上、コラーゲン細胞キャリア「Ready-To-Use」（RTU）上、あるいはコラーゲンバイオチューブ（CBT）上／内で生細胞を観察するために、BDTM DiIC12(3)などの生細胞トラッキング蛍光色素を使用することができます。

色素濃度および培養時間については、メーカーの推奨に従って細胞株ごと、または細胞タイプごとに最適化する必要があります。また、適切なフィルターセットを装着した（倒立型）蛍光顕微鏡が必要になります。細胞の染色は、播種前または細胞の接着後に行うことができます。

SaOs-2 細胞の染色プロトコル例：

細胞懸濁液の染色：

1. 培地中の細胞濃度を $2 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 細胞/mL に調整します。
2. BDTM DiIC12(3)を最終濃度が $1.25 \mu\text{g/mL}$ になるように添加し、混合後、 37°C で 1 時間置きます。
3. 細胞懸濁液を室温、 $200 \times g$ で 5 分間遠心します。
4. 上清を吸引除去します。
5. 使用された染色液量の 2 倍量の PBS/2% FCS または培地で細胞ペレットを再懸濁し、過剰な蛍光色素を除去します。
6. 細胞懸濁液を室温、 $200 \times g$ で 5 分間遠心します。
7. 上清を吸引除去し、必要量の培地で細胞を再懸濁します。
8. この段階で線維状コラーゲン表面に細胞を播種することができます。

Viscofan BioEngineering

Naturin Viscofan GmbH の事業部門
Badeniastraße 13
69469 Weinheim
Germany

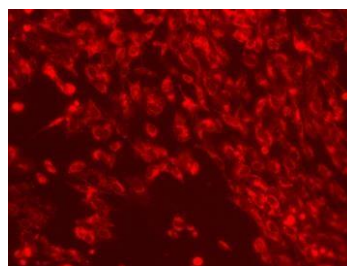
電話：+49 (0)6201 86-358
ファックス：+49 (0) 6201 86-226
Eメール：sales@bio.viscofan.com
www.viscofan-bioengineering.com

接着細胞層の染色：

1. ユーザープロトコルに記載のとおりコラーゲン製品を調製します。細胞がコラーゲン表面に接着した後、ステップ2に進みます。
2. 蛍光色素 BDTM DiIC12(3)を細胞培地で最終濃度が 1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ になるように希釈します。すべての細胞サンプルを覆うのに十分な量の染色液を調製し、37°C に加温します。
3. 浮遊している細胞を除去するために、あらかじめ室温以上の温度に加温した適量の PBS で洗浄します。
4. PBS を吸引除去し、調製済みの染色液を添加します。CO₂ 培養器中 37°C で 1 時間置きます。
5. 上清を吸引除去します。
6. あらかじめ室温以上の温度に加温した必要量の PBS で細胞を 2 回洗浄し、過剰な色素を除去します。
7. PBS を吸引除去し、必要量の培地を添加した後、通常の細胞培養を継続します。

細胞代謝活性の低下は観察されていないので、6 回以上の細胞分裂サイクルにわたって観察を継続できる可能性があります。

CCC に播種し、BDTM DiIC12(3)で染色した SaOs-2 細胞



播種後 4 日目

すべてのデータおよび推奨事項は、現時点での弊社の知識に基づくものであり、結果を保証するものではありません。技術開発に伴い、弊社は今後予告なく追加、変更を行う権利を留保します。弊社製品がお客様の技術的要件に適合するかどうかにつきましては、お客様ご自身で確認していただきますようお願いいたします。ご質問がございましたら、お気軽にお問い合わせください。

2016年7月7日版

工ム工入機器株式会社