

iPS細胞解凍法

Objective	ヒト ES/iPS 細胞を緩慢方法で解凍する方法.
Materials	ReproCryo RM(RCHEFM004) or ReproCryo DMSO Free(RCHEFM005) 15 mL チューブ 恒温槽 インキュベーター 5mL & 10mL ピペット 1000 μ L ピペッTMン& チップ スチロールBox 手袋、軍手 遠心機 アスピレーター 細胞培養ディッシュ*コート済み Y-27632
Methods	ヒト ES/iPS 細胞の解凍方法 注7：以下の試薬用量は、60 mm ディッシュの場合です。 試薬量比較 ϕ 10 (10 mL/9 cm ²) * 25cm ² = 27.8 mL (1 mL/9 cm ²) * 25cm ² = 2.777 mL (5 mL/9 cm ²) * 25cm ² = 13.9 mL (4 mL/9 cm ²) * 25cm ² = 11.1 mL <ol style="list-style-type: none">1. 恒温槽を 37°Cに設定2. 培養用の培地を 10 mL 分注して温める3. 液体窒素をスチロールBoxに用意し、凍結バイアルを移して、恒温槽近くまで運ぶ4. 恒温槽で凍結バイアルを左右にゆらしながら混合して、2分温める5. P-1000 ピペットで細胞懸濁液を 2 回ピペッティングし、15 mL チューブに移す6. 温めておいた培地を 1 mL 取り、15 mL チューブをゆらしながら10 秒かけてゆっくり加える7. 2分間静置8. 温めておいた培地を 5 mL 取り、15 mL チューブをゆらしながら30 秒かけてゆっくり

加える

9. 300×g、5 分間、室温で遠心
10. 上清を除去
11. 培地を 4 mL 加える
12. コーティング済のディッシュに11の細胞懸濁液をspread
13. 終濃度が 10 μ M になるように Y-27632 を添加
以降、移行後 24 時間まではY-27632 を添加した状態を維持
(*それ以降の培地交換時には不要)
14. 細胞が均一になるようにディッシュをゆらし、37°C、5% CO₂ インキュベーターで
培養
16. 翌日、培地交換 *Y-27632は不要