

## 取扱説明書

### Laminin-5 (Laminin-332)

Cat.# RCHETP004

#### 保存方法

本品は冷凍状態で発送されます。到着後すみやかに-80℃で保存して下さい。ご使用前に4℃または氷上で融解して下さい。融解後は使い切して下さい。

#### 特長

- ・ヒトES/iPS細胞のフィーダレス培養に最適です
- ・Human RecombinantのXeno-Freeコーティング剤です。
- ・Dissociation Solution for human ES/iPS Cellsをご使用いただくことで、簡単に細胞を回収できます。
- ・ヒトiPS細胞(201B7株)を用いた細胞培養検査を実施しております。
- ・1μg/vialの個別包装です。

#### 製品について

本品は研究用ですので、治療・診断目的には使用しないで下さい。また、本品を当社からの許可なしに第三者への販売や商業目的に使用することを禁じます。

#### 注意事項(ご使用前に必ずお読み下さい。)

当製品は、非常に吸着性の強いタンパク質です。温度が上昇すると容器などに吸着しロスの原因となりますので、融解から使用直前までは低温(4℃または氷上)で保冷し、速やかにご使用下さい。チューブ及びチップ内壁への吸着を防止するため、融解後液面が斜めにならないようにご注意下さい。また、ピペティングや、他の容器への分注等の操作はロスの原因となりますので行わないで下さい。

#### 使用方法

準備するもの (Laminin-5以外の試薬類はあらかじめ室温に戻してご使用下さい。)

- ・本品:Laminin-5
- ・Dissociation Solution for human ES/iPS Cells(RCHETP002)(以下、これを「剥離液」と総称する)。
- ・ReproFFに5ng/mL bFGF(RCHEOT002, 003)を添加したもの(以下、これらを「ReproFF」と総称する)。
- ・35mm細胞培養ディッシュ
- ・PBS(-):Ca<sup>++</sup>,Mg<sup>++</sup>-free PBS
- ・ピペットマンとチップ※低吸着チップのご使用をお勧めいたします。
- ・その他培養操作に通常必要なもの

#### A:ディッシュのコーティング方法

35mmディッシュあたり、1~2μgのLaminin-5でコートして下さい。均一にディッシュをコートするためにまずは2μgでのご使用をお勧めいたします。(ご使用の細胞株によって接着具合が異なりますので、様子を見ながら使用濃度を調節して下さい。)

A1、Laminin-5を4℃または氷上で融解しておきます。(手で溶かしたり、室温で溶かさなで下さい。)

A2、35mmディッシュに1mLのPBS(-)を入れておきます(Laminin-5の入ったvialに絶対にPBS(-)を加えないで下さい。)

A3、融解したLaminin-5を原液のまま直接ディッシュに加え、素早くディッシュを10回程ゆらし、全体に行きわたらせます。(非常に吸着性

が強く、チップへの吸着を避けるため、ピペティングは行わないで下さい。)

A4、4℃で一晩、または37℃で2時間インキュベートします。

A5、すぐに使用しない場合はパラフィルムでシールし、4℃で保存できます。(1週間を目安にご使用下さい。)

#### B:継代方法

B1、あらかじめ準備しておいたLaminin-5コート済みディッシュから余分な液体を取り除き、PBS(-)で2回洗浄した後、ReproFFを加えます。(ディッシュを乾燥させると活性が低下してしまうので、コーティング表面が乾かないようにして下さい。)

B2、フィーダレス培養中のディッシュからReproFFを除き、PBS(-)1mLで細胞を洗います。

B3、剥離液をディッシュに1mL加え、細胞表面全体に液が行き渡るようにした後、37℃、CO<sub>2</sub>インキュベーターで5分程度加温します。

B4、新しいReproFFで15mLチューブに細胞を回収し、約170×g(1,000rpm)、5分間、室温で遠心します。

B5、上清を除き、新しいReproFFを1mL加え、p-1000ピペットマンのチップの先端をチューブの底部に軽く押し当て、細胞の塊をゆくりとピペティングし、コロニーの大きさを200~300μm程度(オンフィーダー培養の継代より大きめに)に崩します。

B6、操作B1で準備したディッシュに細胞懸濁液を半量程度、継代します。オンフィーダー培養に比べ細胞の接着率が若干低いため、少し高めの濃度で継代して下さい。継代の希釈割合は、ご使用の細胞株の増殖速度、Laminin-5のコーティング濃度等によって異なります。

B7、細胞が均一になるようにディッシュをゆらし、37℃、5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで一晩培養します。

翌日から毎日1回、ReproFFで培地交換を行って下さい。

#### 関連製品

RCHEMD001	Primate ES Cell medium
RCHEMD003,004	Repro FF
RCHEMD005	Repro Stem
RCHETP002	Dissociation Solution for human ES/iPS Cells
RCHEFM001	Freezing Medium for human ES/iPS Cells
RCHEOT001	ReproCoat
RCHEOT002, 003	bFGF
RCHEFC001	Feeder Cells (SL10)
RCHEFC003	Feeder Cells (MEF)

株式会社リプロセル

<http://www.reprocell.com>

E-mail: info\_repro@reprocell.com