

人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社



Cepallet[®]
セパレット 

取扱い説明書

Color & Comfort

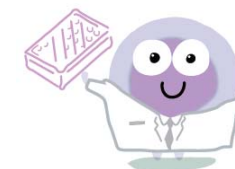
DIC株式会社





目次

| | |
|--------------------------------|------|
| Cepallet [®] 使用上の注意事項 | p3 |
| 酵素を使わずに細胞回収したい場合 | p4 |
| 確実にシングルセルで回収したい場合 | p5-6 |
| シート上で回収したい場合 | p7-8 |



Cepallet® 使用上の注意事項

【本製品の使用上のご注意】

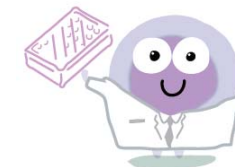
本製品は、理化学・実験研究用製品です。診断・治療または人体への直接使用の用途向けではありません。

【プレート、シャーレの保管方法】

直射日光を避け、常温で保管してください。

【細胞培養】

- ・通常お使いの培養方法と同じように播種してください。
- ・培地交換に使用する培地類はあらかじめ37℃で加温したものを使用してください。
- ・培地の温度が低下すると細胞が剥離しやすくなるので、長時間の顕微鏡観察は避けてください。
- ・接着性の低い細胞の場合は、細胞外マトリックスで基材をコーティングしてお使いください。
(基材の特性上、通常の培養基材のコーティングより長めのインキュベーションをお勧めしております。
また低温ではコーティング不良になることがあります。)



Cepallet® を使用した株化細胞の培養・回収例 酵素を使わず細胞回収したい場合

Cepallet®を用いれば、酵素を使わずに回収できます。
酵素処理による細胞や神経突起などへのダメージを抑えることができます。



【培養条件】

通常お使いの培養方法と同じように播種してください。

【温感剥離の場合】

1. 細胞を培養したCepallet®をインキュベーターから出す。
2. 培地をアスピレーターで除去する。
3. 培養表面に、低温(4℃～室温)の培地を添加する。添加量は6well plateで1mL
4. 室温で10～30分間静置する。(細胞種によって、剥離にかかる時間が異なります)
5. P1000のマイクロピペットで培地をプレート表面に数回流しかけ、チューブに回収する。
6. 必要に応じて5の操作を2～3回繰り返す。
7. 遠心分離で上清を除去する。 * 酵素を使用していないので遠心せずに、再播種も可能
8. 回収した細胞は再播種等に用いる。



Cepallet®を使用してシングルセルで回収したい場合（酵素必要） ヒトiPS細胞の培養・回収例

Cepallet®を用いれば、スクレーパー不要で回収できます。
酵素剥離後の基材への再接着を抑制できるので細胞回収率が上がります。



【培養条件】

本条件は京都大学iPS細胞研究所 プロトコル「フィーダーフリーでのヒトiPS細胞の樹立・維持培養」を参考に一部条件・操作を変更して行っております。

細胞： hiPS細胞 201B7株

培地： StemFit AK02N（味の素株式会社）

足場剤： iMatrix Laminin-511（株式会社ニッピ）

Cepallet®への足場剤のコーティングは、37°C、1.5hr実施してください。
24well.、96well.には、Laminin添加法¹⁾を推奨しております。

細胞死抑制試薬： Y-27632（富士フィルム和光純薬株式会社）*播種時の培地に添加する

播種密度： 1.3×10^3 cells/cm²

培養日数： 7日

剥離剤： 0.5×TrypLE Select（Thermo Fisher Scientific）

【参考文献】

1) Miyazaki M. et al. Efficient Adhesion Culture of Human Pluripotent Stem Cells Using Laminin Fragments in an Uncoated Manner Sci Rep. 2017



【0.5×TrypLE Selectを使った細胞回収方法】

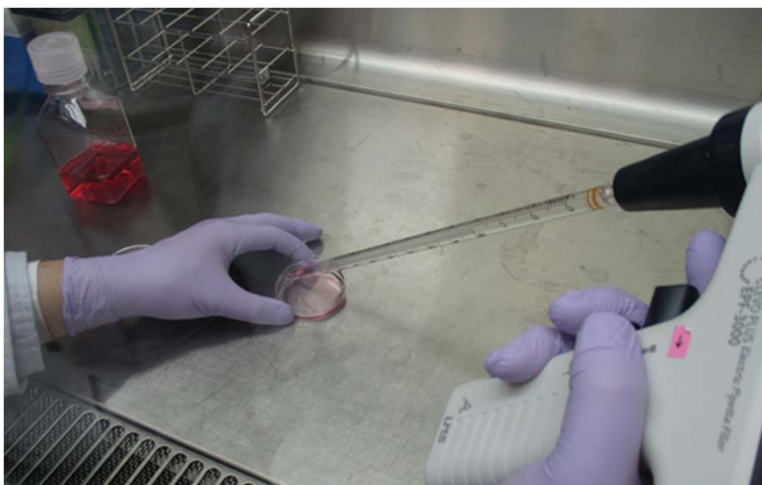
1. iPS細胞を培養したCepallet®をインキュベーターから出す。
2. 培地をアスピレーターで除去する。
3. D-PBS(-)で細胞表面をリンスし、除去する。
4. 0.5×TrypLE Selectを加える。添加量は6well plateで0.3～0.5mL/well
5. 細胞表面全体に0.5×TrypLE Selectを行き渡らせる。
6. 37°Cで4～10分間インキュベーションする。
7. 0.5×TrypLE Selectをアスピレーターで除去する。
8. D-PBS(-)で細胞表面をリンスし、除去する。このとき細胞が剥がれかけている場合は、8の操作はスキップする。
7. ウェルへ室温に戻した培地を加え、マイクロピペットでプレート表面を数回流しかけ、チューブに回収する。
8. 遠心分離で上清を除去する。
9. 回収した細胞は再播種等に用いる。



シート状で回収したい場合

【温感剥離の場合】

1. 細胞を培養したCepallet®をインキュベーターから出す。
2. 培地をアスピレーターで除去する。
3. 培養表面に、低温(4℃～室温)の培地を添加する。添加量は6well plateで1mL
4. 室温で10～30分間静置する。(細胞種によって、剥離にかかる時間が異なります)



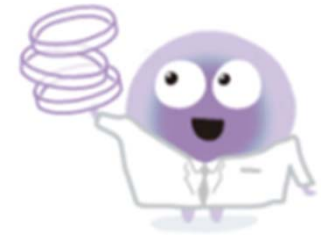
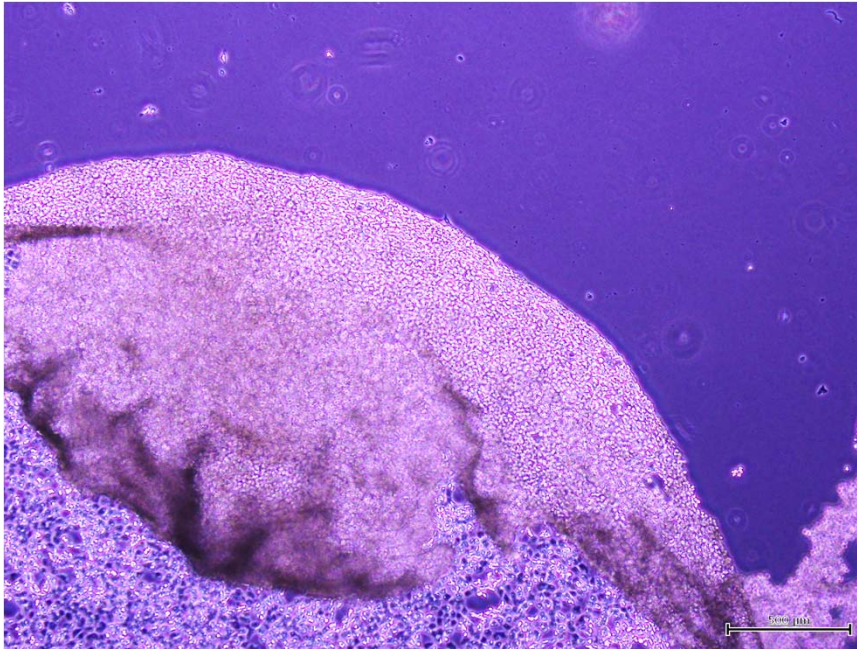
*インキュベーターから出して室温でしばらく静置することでも剥離できます。(細胞種や培養条件により異なる)

**細胞の種類によっては、容器の縁一周にチップや治具を用いて切込みを入れるときれいに剥がれます。

または、縁部分からピペットでごく緩やかな水流をかける方法も有効です。



シート状に回収





人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社



Color & Comfort

