

細胞回収

Dish (well plate) を培養室から持ち出す

↓

Medium をアスピレーターで除去

↓

PBS 2mL を dish に入れる。(wash 1 回)

(12 well plate の場合は 1mL, 24well plate の場合は 500 μ L~1mL)

↓

PBS をアスピレーターできれいに除去する。

↓

1 \times sample buffer を適量入れる。

※細胞の状態によって量が変わる

↓

スクレーパーで dish 中のものを回収し 1.5mL tube へ移す。

(12 well plate, 24well plate の場合、スクレーパーが使えないので Tip を使用する。)

※その日のうちに WB をしないのであればそのまま-30 $^{\circ}$ Cもしくは-80 $^{\circ}$ Cへ保存

PDL1 の sample は回収日と同日に WB をした方良い。

<スクレーパー使用>

PBS wash し、アスピレーターで PBS をきれいに 除去

↓

1×sample buffer を適量、dish に回し入れる。

↓

1×sample buffer をスクレーパーでまんべんなく広げる

↓

Dish を手前に傾け斜めの状態にする。

↓

Dish のへりに沿ってスクレーパーで 1×sample buffer を下の方に集める。

↓

Dish を 90 度～180 度回転させる。

↓

Dish のへりに沿ってスクレーパーで 1×sample buffer を下の方に集める。

↓

Dish のフタを実験台上に置き、その上に dish を置いて斜めの状態にする。

↓

Tip で dish の下方に集まった sample を tip で 1.5mL tube に移す。

<使用済みスクレーパーの洗浄>

- 1) ビーカー等に 70%エタノールを入れる。(パワーコールが良い)
- 2) 使用済みのスクレーパーをビーカーに入れ、中でガシャガシャとすすぐ。
- 3) エタノールを捨てて、ビーカーに蒸留水を入れスクレーパーをすすぎ、蒸留水を捨てる。
- 4) もう一度 2)、3) を繰り返す。
- 5) キムタオル等でスクレーパーを包んで保管する。