

細胞数を数えて dish にまく

- 1) PBS(TC)+EDTA とトリプシン、メディウムを用意する。
(PBS(TC)+EDTA は室温または 37°C に、メディウムは 37°C にしておく)
(50ml チューブを用意し、ラベルに細胞の名前を書く。)
- 2) アスピレーターで、細胞のメディウムをすべて吸う。
- 3) PBS+EDTA 10ml で細胞を洗う。
※PBS+EDTA をフラスコへ入れるとき、ピペットは中まで入れて、
取り出すときは触れないように。
- 4) PBS+EDTA をフラスコを横にして、まんべんなくいきわたらせてからアスピレーター
で吸う。
- 5) トリプシンを 2ml/中フラスコに入れ、まんべんなく広げる。
3ml/大フラスコ
- 6) 37°C の HOT PLATE に、3~5 分おく。(タイマーでカウントアップする)
(この間にトリプシンをしまう。)
- 7) フラスコを動かしてみても、細胞がはがれたかどうかチェックする。
(白いぐにやぐにやとしたものがあるかどうか)
- 8) 10ml ピペットでフラスコの中の細胞を懸濁して 50ml チューブに移す。
- 9) フラスコの中に 3ml のメディウムを加えて懸濁し、50ml チューブに移す。
※フラスコの壁側に細胞が残っていればそれをメディウムで洗い流す。
- 10) 遠心 (1500rpm 2分)
- 11) 上清をアスピレーターで吸う。
※全部吸わないで、1ml 程度残す。
- 12) タッピングで懸濁する。

- 13) PBS +EDTA 500 μ L をチューブに加える。
5~10 回、ピペッティング。
うねうねとしたものが無くなれば良い。
- 14) メディウム 500 μ L をチューブに加える。
5~10 回ピペッティング。
うねうねとしたものが無くなれば良い。
- 15) メディウムを入れて懸濁する。(中フラスコ 7ml、大フラスコ 14ml)
- 16) 細胞数をカウントする。
15 μ L をスライドへ。
- 17) メディウムと細胞の量を算出する。
- 18) 新しい 50ml チューブを用意する。
- 19) 50ml チューブに算出した量のメディウムを入れる。
- 20) 50ml チューブに算出した量の細胞液を加える。
- 21) ピペッティングする。
- 22) 細胞懸濁液を dish へ 2ml ずつ入れる。
- 23) dish をトレーに乗せて、トレーを回すように動かす。
- 24) 37°C インキュベーターへ。