

〈スキャポバ®〉 AS プロトコル

〈スキャポバ®〉 AS の特長

- 任意の細胞接着性タンパク質や細胞接着性コーティング剤を表面にコートでき、様々な細胞の接着と増殖に適しています。
- 弾性を有する PVA ハイドロゲルで作られているため、攪拌などの機械的な衝撃に対して破損しにくく、破片による異物混入リスクの低減が期待できます。
- 透明性が高く、接着細胞の様子を顕微鏡で容易に観察可能です。
- コーティング剤を選択することで、アニマルフリーでの細胞培養が可能です。

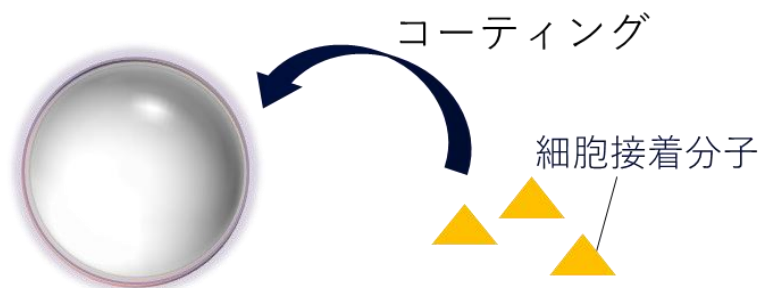


表 1. 〈スキャポバ®〉 AS の特長

粒径(D ₅₀)	約 160 μm *2
表面積	約 1900 cm ² /g dry weight *3
表面	活性化処理
膨潤度	約 5 g wet weight / g dry weight *4

表中の数値は代表値です。

ロットごとの粒径、表面積情報は製品に添付しております。

- *1. 粒径は PBS 中で膨潤させた 〈スキャポバ®〉 AS の値です。
- *2. 表面積は乾燥状態の 〈スキャポバ®〉 AS 1 g を PBS 中で膨潤させた際の値です。
- *3. 膨潤度は乾燥状態の 〈スキャポバ®〉 AS を PBS で膨潤させた際の重量の増加率です。

コーティング方法

〈スキャポバ®〉AS は様々な細胞外マトリックスタンパク質で表面をコートすることが可能な製品です。本章では 2 つのコーティング方法をご紹介します。コート液の種類や細胞種によって、手順 A と手順 B の適性が異なります。うまく接着しない場合は、もう一方もお試しく下さい。コートできているかどうかは蛍光タンパクを使うことで評価した実績がありますので、お試しいただくと検討がスムーズです。

手順 A：

ご希望の細胞接着分子のみでマイクロキャリアをコーティングしたい場合やコーティング量を把握したい場合に適しています。コート液の初期濃度とコート後の液濃度からコート量を見積もることができます。

手順 B：

培地にコート材を添加してそのまま培養する方法です。培養評価の際はこちらの方法が簡便です。

手順 A. 細胞接着分子の PBS 溶液でプレコートする場合

1. 電子天秤で 50 mL チューブの空重量を計測します。
2. 滅菌したスパチュラで〈スキャポバ®〉AS をすくい取り、50 mL チューブに必要量を測り取ります。

注: 〈スキャポバ®〉AS は気流や静電気により飛散することがありますので、取り扱いにご注意ください。必要に応じて、帯電防止チューブや除電機をご使用ください。

3. 乾燥状態の〈スキャポバ®〉AS の重量に対し、30 倍程度の重量のコーティング溶液を直接加えて懸濁します。

例) 乾燥状態の〈スキャポバ®〉AS 100 mg に、3 mL 程度の細胞接着分子溶液を添加

注: 膨潤させてからコーティング溶液を添加するとコート効率が落ちることがあります。また、コーティング溶液を添加した際に〈スキャポバ®〉AS が液面に浮くことがあります。その場合は軽く振り混ぜる、ピペッティングする、もしくはボルテックスミキサーで攪拌して液中に分散させてから次の工程に進んでください。コーティング溶液の液量は粒子が浸る以上の量とし、目的に合わせて調整ください。

4. チューブローテータ、あるいは振とう機を用いて 1 時間以上よく混和し、表面をコートします。

注: タンパクをコートする場合は、タンパク溶液が泡立たないように注意してください。

5. 混和をやめ、遠心分離、あるいは静置によって〈スキャポバ®〉AS を沈降させ、上清を取り除きます。
6. 新しいPBS を加え、ボルテックスミキサーなどを用いて〈スキャポバ®〉AS を洗浄します。
7. 4, 5 を3回繰り返します。
8. 表面コート後の〈スキャポバ®〉AS はPBS 中、4°Cで1週間程度保管可能です。

手順 B. 細胞接着分子を培地に直接添加する場合

1. 新しい50mL チューブに培地と適量の細胞接着分子を加え混和させます。
例) 表面積 208 cm² の〈スキャポバ®〉AS に 0.1 µg/cm² の濃度で iMatrix-511 をコートする場合、iMatrix-511 原液 (0.5 mg/mL) を 41.6 µL、30 mL の培地に加えます。
2. 細胞接着分子を添加した培地と測り取った〈スキャポバ®〉AS をバイオリアクター容器に加え、よくピペッティングします。
注: 〈スキャポバ®〉AS が液面に浮くことがあるので大きな塊をほぐすようによくピペッティングして培地となじませてください。
3. バイオリアクターを攪拌装置にセットして、培地と〈スキャポバ®〉AS を一時間以上(最大一晩)攪拌して混和させます。〈スキャポバ®〉AS 表面に細胞接着分子がコートされるので、そのままバイオリアクターに細胞を播種し、培養可能です。

蛍光タンパクを用いるとコートの様子を蛍光顕微鏡で観察できます。一般的な蛍光染色法でコート後にタンパクを蛍光させることも可能です。

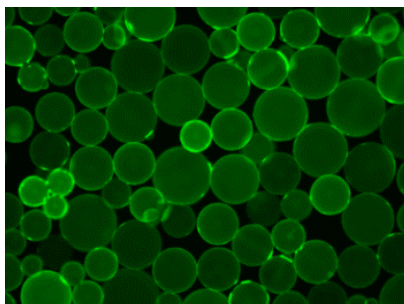


図 1. iMatrix-511 がコートされている様子を蛍光で観察した画像

細胞培養に必要な試薬と器材

〈スキャポバ®〉AS は様々なタイプの振とう・攪拌培養が適用可能です。



図 2. 〈スキャポバ®〉AS を用いた細胞培養のイメージ

表 2. 必要な試薬および器材

試薬および器材	例
振とう・攪拌培養の容器および装置	30 mL シングルユースバイオリアクター + 6 チャンネルマグネチックスターラー
	ベントキャップ付き三角フラスコ + 振とう装置
細胞	間葉系幹細胞、線維芽細胞など 様々な接着細胞
培地	細胞種や培養条件に応じて選択
細胞剥離液	0.025% ~ 0.25% Trypsin-EDTA
	Accutase®
セルストレーナー	φ70 μm セルストレーナー
	φ100 μm セルストレーナー

〈スキャポバ®〉AS は PBS や培地中に入れて数十秒で膨潤します。
具体的な培養事例を別途用意しておりますので、参照してお試ください。

製品情報お問い合わせ先

株式会社クラレ

機能材料カンパニー ライフイノベーション事業推進部

〒100-0004 東京都千代田区大手町 2-6-4 常盤橋タワー

E-mail Contact.LIPG@kuraray.com