プレート取扱説明書

2015/8/11

[保存条件]

商品到着次第、遮光状態で-20℃フリーザーへ保存をお願いします(-80℃の保存は、プレートの変形などの危険があるためお避け下さい)。パックされたまま-20℃へ保存いただきますと、最低12ヶ月安定してトランスフェクション条件を保つことが可能です。

プレートパック開封後はただちに実験にお使い下さい。 繰り返しの解凍・凍結は避けていただきますようお願いします。

[使用方法]

- プレート準備
 - 1. ご使用前にプレートパックを-20℃から取り出します。
 - 2. プレートパックを安全キャビネット内等で室温に戻します。
 - ※パックを開封せず、室温に戻るまでお待ちください。使用時の気温などの条件で室温に戻る 時間が異なりますので、その都度状態をご確認下さい。
 - 3. パックを開封し、プレートを取り出します。
 - ※長時間(2時間以上)にわたる室温放置は避けて下さい。
 - 4. プレートの準備が整いました。

● 細胞播種法

- 1. ディスペンサー、もしくはマルチチャンネルピペットをご準備下さい。
- 2. 細胞懸濁液を継代培養培地又は、アッセイ用培地組成にてご準備下さい。
- ※細胞によって、抗生物質、培地中血清や増殖因子等のタンパク成分により、トランスフェクションが阻害される場合がございます。その場合は、無血清培地などにて懸濁液調製を行ってください。
- 3. 各ウェルに 2.の懸濁液を全面に必要量添加します。
- ※添加後、ピペティング操作などは行わないでください。
- ※サンプルはウェル外周には配置しておりませんが、エッジ効果の影響を避けるため、<u>全面へ</u>の播種をお願いします。
- ※播種密度は細胞・目的の実験に使用するアッセイ法ごとに異なりますので、適宜、適切な播種密度をご使用ください。

(例: HeLa 細胞 1.0x10⁵cells/mL 20-40uL/384-well;

播種後 48-72 時間にて検鏡又は、ATP 測定)

※参考播種容量

播種密度(底面積当たりの細胞数)を一定にしていただくと、下記容量を添加することでウェルの異なるプレートの移行が可能です。

96 ウェル : 100-200uL/well 384 ウェル : 20-40uL/well

1536 ウェル : 2-5uL/well

※参考資料: http://www.cytopathfinder.com/ja/plate/cell.html

※無血清等の条件下で播種する場合などは、培養用量の 1/2 量を先に播種します。

4. 室温で 3.のプレートを遠心します。30xg、10 秒の設定でお使い下さい。

※攪拌や、他の用法で震動させる事は避けて下さい。

5.4のプレートをインキュベータへ移します。

- ※無血清等の条件下で播種した場合は、1-24 時間後に、2x 添加因子を含む培地を等量添加してください。
- ※無血清等の条件下でトランスフェクションを行う場合には、あらかじめその条件での細胞の形態・生育状態への影響を確認してください。

6. 細胞のアッセイを行います。

- ※各種生残率測定法(蛍光、発光、比色法、染色法など)を用いる事ができます。
- ※バックグラウンド補正が望ましい測定法(蛍光、比色法など)では、ブランクウェル(プレート短辺外周など)にてバックグラウンド値を測定できるようにすることをお勧めします。(測定条件、測定機器類はあらかじめご準備ください)
- 7. 得られた測定値を評価用ソフトにコピー&ペーストしご評価ください。
 - ※あらかじめ下記サイトからデータ評価用アプリケーション TF Condition Viewer 3.0 (エクセル VBA) をダウンロードしてご使用ください。

http://www.cytopathfinder.com/ja/plate/download.html

- ※バックグラウンド補正を行う場合には、補正後の値を評価ソフトへコピー&ペーストく ださい。
- ※各種トランスフェクション条件の陽性・陰性対照の配置は、ソフトにてご確認ください。

ソフト選択領域に関しての注意点【Layout 選択】 リストから下記を選択してご使用ください。

- ■1536well トランスフェクション最適化キット: 1536well ver.3
- ■384well トランスフェクション最適化キット:384well ver.3
- ■96well トランスフェクション最適化キット:96well ver.3