

HAP1細胞株 培養ガイドライン

HAP1細胞の培養には、10%FCSおよび1%ペニシリン／ストレプトマイシンを含むイスコフ改変ダルベッコ培地 (IMDM: Iscove Modified Dulbecco's Medium) が適しています。細胞を再懸濁する時は、機械的ストレスを避けるために常に優しく取り扱ってください。各ノックアウト細胞株は異なる倍加時間で増殖する可能性があり、そして細胞はわずかに異なる形態となる場合があります。

推奨商品

- イスコフ改変ダルベッコ培地 (IMDM) :
- GIBCO, Cat.No. 12440-053 (500 ml)
- Fetal Bovine Serum: Sigma Aldrich, Cat.No. F2442-500ML
- Trypsin-EDTA Solution (1X): GIBCO, Cat.No. 25300096 (100 ml)
- Penicillin / Streptomycin: GIBCO, Cat.No. 15140-122 (100 ml)

凍結用培地

Medium A: IMDM + 20 % FBS

Medium B: IMDM + 20 % FBS + 20 % DMSO

HAP1細胞の解凍

1. 凍結した細胞を入れたバイアルを素早く解凍します。これを行うには、バイアルを37°Cのウォーターバスに入れて静かに揺らしてください。
2. バイアルの内容物が解けたらすぐにウォーターバスから引き上げ、70%エタノールを吹き付けるなどしてバイアルを消毒します。(以後の操作は厳格な無菌状態の下、ラミナーフード内部にて行ってください)
3. バイアルの蓋を外し、細胞懸濁液を無菌の遠心チューブに移し、あらかじめ37°Cに温めた10 mLの細胞培養用培地で静かに希釈します。
4. オプション:細胞の入った遠心チューブを穏やかな条件(1,200rpm / 300 x g, 5分間)で遠心します。遠心後、細胞ペレットを乱すことなく培地上清を除去し、あらかじめ37°Cに温めた10 mLの新鮮な細胞培養用培地を加えます。
5. 細胞を10 cmディッシュに移します。
6. 2日間培養し、細胞を注意深く観察します。
7. 24時間後に培地を交換します。
8. 細胞が解凍後48時間でどのように見えるかについては、下の写真をご参照ください。



図1 解凍後48時間のHAP1クローン

HAP1細胞の継代/培養

1. 細胞を乱すことなく培地を吸引除去します。
2. PBSで洗浄して、微量の培地とFBSをすべて除去します。
3. トリプシン（0.05%）を添加し、細胞が剥離し始めるまで（通常3～5分）37°Cでインキュベートします。
4. トリプシン処理を停止するために培地を加えます。細胞を再懸濁し、新しいディッシュに必要な量の細胞を移します。

注：HAP1細胞は2～3日ごとに1:10～1:15に分割する必要があります。増殖速度は、HAP1細胞株ごとに異なる可能性があることに留意してください。HAP1細胞を高密度に保つことは絶対に避けてください（最大密度：75%コンフルエンス）。低密度および高密度HAP1の例については、下の写真を参照してください。

HAP1細胞を凍結する

1. 細胞をトリプシン処理し、1,200rpm / 300 x gで5分間遠心します。
2. 細胞を凍結するために、培地A:培地Bの1:1混合液を使用します。まず、細胞ペレットを培地Aに再懸濁します。
3. 培地Bをゆっくりと加えます。
4. 細胞懸濁液を適切な凍結保存用バイアルに移します。
5. DMSO含有培地を添加した後、必ず5分以内に凍結保存用バイアルを冷凍庫に移してください。ゆっくり冷却させるために、-80°Cの冷凍庫の中の適切な凍結コンテナにチューブを入れてください。
6. 翌日、細胞を液体窒素に移します。

注：培地AとBを使用すると、凍結用に多数のサンプルを準備するときの柔軟性が高まります。サンプルをほとんど準備していない場合は、IMDM + 20%FBS + 10%DMSOからなる完全凍結培地を使用してください。ステップ1の後、細胞を1 mLの完全凍結培地に再懸濁し、ステップ4に進みます。

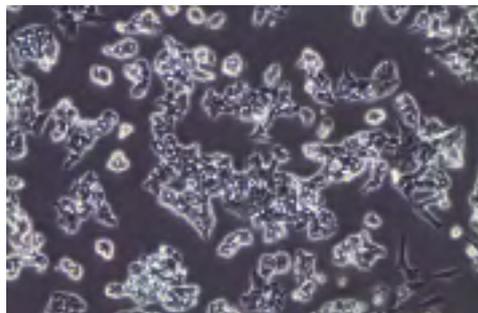
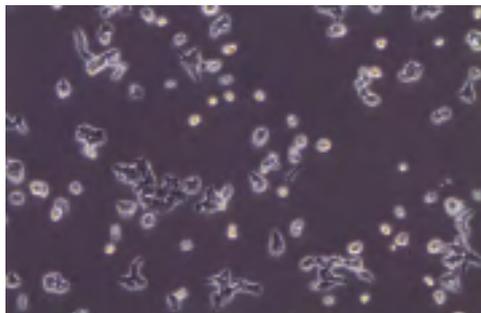


図2 低密度(左図)と高密度(右図)のHAP1細胞

For more information

ホライゾン・ディスカバリー株式会社

horizondiscovery.com/contact-us

©2023 Horizon Discovery Group Ltd and its affiliated companies. All rights reserved. Revvity is a trademark of Revvity, Inc., registered in the United States and other countries. Horizon Discovery is a trademark of Horizon Discovery Ltd. Dharmacon is a trademark of Dharmacon, Inc.. All Revvity, Inc., Horizon Discovery Ltd and Dharmacon, Inc. trademarks are used with permission. Other product names and brand names may be trademarks or registered trademarks of their respective owners.

B022-1908-v4

horizon