

3次元培養基質

# コラーゲンゲル薄膜 ビトリゲル

CODE# VIT-C001

## 【取扱い説明書】



人体への使用を目的とする用途には使用できません。  
Products are not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures.  
ご使用の前に製品・袋の破損等ないか、確認して下さい  
Before use, please check crack or breakage of products or bags.

構成成分 :	コラーゲンビトリゲル	6枚	保存温度 :	室温
	両面培養用Disk	6枚		
	取扱説明書	1部		
			使用期限 :	パッケージに表示されています。

規格 : ビトリゲル (Collagen Type-I)

外径33mm 内径24mm

本製品はロット毎に無菌試験と培養試験を行っております。

薄膜上にPBS由来の結晶やコラーゲンのムラがある場合がありますが、細胞培養に影響致しません。そのままご使用下さい。

準備するもの :

< 片面培養にご使用の場合 > 通常の細胞培養と同様の器具・試薬をご用意下さい。

< 両面培養を行う場合 > さらに以下のものがが必要です。

(器具・試薬は全て無菌のものを使用して下さい)

・ 歯科用ピンセット ・ 60mm Culture Dish

### 片面培養方法

< 細胞の播種 >

ビトリゲルは乾燥した状態で35mmDishの底面に密着しています。

ご使用の前に、2mLの細胞培養用培地を本品に加えて下さい。37℃で5-10分放置後、培地を除去して下さい。(ビトリゲルの再水和処理)

細胞懸濁液を調製し、再水和したビトリゲルが入っている35mmDishに加えて下さい。

以後、使用細胞の推奨する頻度で培地交換を行い、培養を継続して下さい。

< 細胞の観察 >

通常の35mm Dishと同様に位相差顕微鏡下で観察出来ます。

< 細胞の移動 >

歯科用ピンセットでビトリゲルの外径をなぞり、Dishから慎重にはがして下さい。

力を加えすぎると破れることがありますので、ご注意下さい。

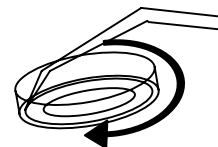


図.1 細胞の移動

## 両面培養法

両面培養は、上記片面培養法にしたがって片面に細胞を培養後、以下の操作を行ってください。

### < 細胞の播種 >

60mmDishに両面培養用Diskを挿入し、3mLの培地を加えて下さい。

上記、片面培養法にしたがって片面に細胞を培養後、Dishから培地を除去し、PBSもしくは培地で細胞表面を洗浄して下さい。ピンセットでビトリゲルの外径をなぞりDishからビトリゲルを慎重にはがして下さい。

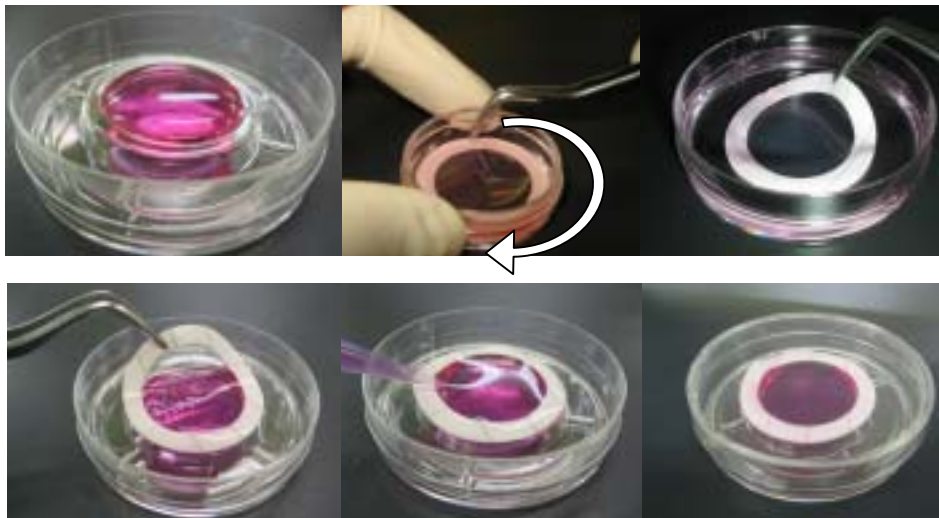
PBSを入れた60mm Dish中に浸し、ビトリゲルを再度洗浄して下さい。

細胞培養面を下に向け、下部培地とビトリゲルの間に空気が入らないように ④ で用意した両面培養用Diskの上に静置して下さい。

目的細胞数の細胞懸濁液350～400 μLを上面にまんべんなく加えて下さい。

60mm Dish のふたをして、播種した細胞が接着するまで、そのままの状態ですべてインキュベーターで培養して下さい。(接着にかかる時間は細胞ごとに異なります)

細胞が接着したら、両面に細胞が接着しているコーラゲンゲル薄膜を培地を入れた35mmDish (non-treated)に入れ、両面培養を行います。



### < 細胞の観察 >

通常の35mm Dishと同様の方法で顕微鏡観察出来ます。顕微鏡の焦点をずらすことで、表裏どちらの細胞も観察することが出来ます。

その他、ホルマリンなどによる細胞固定、細胞染色、もしくは切片を作製し両面培養細胞の断面観察なども可能です。

技術的なお問い合わせは下記へ

旭テクノグラス(株)バイオ工房 TEL:047-421-2196 / FAX:047-421-2074

E-mail: bio\_kobo@atgc.co.jp

**ATG** 旭テクノグラス株式会社

サイテック事業部

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3-7-2

TEL: 03(5645)2751

FAX: 03(5643)8286

<http://www.atgc.co.jp/div/rika/>

大阪支店

TEL 06(6362)6291

名古屋支店

TEL 052(211)3855

福岡支店

TEL 092(451)5606

札幌支店

TEL 011(221)3477

理化テレホンセンター

TEL 047(421)2181

A novel 3 dimensional cell culture substrate

# Thin collagen gel membrane / 35mm Disk

CODE# VIT-C001

## 【Content】

Thin Collagen Gel Membrane attached to 35mm dish bottom	6
Cell-seeding plastic device for double-side cell culture	6



Products are not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures.  
Before use, please check crack or breakage of products or bags.

## 【Instructions for use】

Storage Temperature : At Room Temperature  
Expiration Date : indicated on the package  
Specifications : Collagen Type-I  
Thin collagen gel membrane is supported with nylon membrane ring  
outer diameter 33mm internal diameter 24mm

Each lot is qualified by sterility and cell culture tests.

Materials to be prepared before starting experiments :

< Cell cultures on single side >

Prepare materials used for usual cell culture manipulation.

< Cell cultures on both sides >

Prepare following materials for both sides cell cultures.

· dentist forceps      · 60mm Culture Dish

### Methods for single side cell cultures

Perform the following steps in a sterile field.

<Cell seeding>

Thin collagen gel membrane is adhering firmly on the bottom of 35 mm dish in a dry form.

(Rehydration of Thin collagen gel membrane) Before use, add 2 mL of cell culture medium in Thin collagen gel membrane-containing 35 mm dish. After 5 –10 min at 37 °C, discard the medium. Add cell suspension in 35 mm dish containing rehydrated Thin collagen gel membrane.

<Maintenance>

Change the culture medium at appropriate intervals.

<Observation>

Observe cells on Thin collagen gel membrane under a phase contrast microscope as is the case with cells on 35 mm dish.

< Cell transfer >

follow the outline of nylon support with dentist forceps.

gently remove Thin collagen gel membrane from the bottom of 35 mm dish with the dentist forceps.

**Please avoid excess stress, or Thin collagen gel membrane will be broken.**

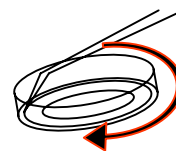


Fig.1 Cell transfer

## Methods for both sides cell cultures

### <Cell seeding on the opposite side>

Place a cell-seeding plastic device in 60 mm dish and add 3 mL of culture medium in the center well of the device .

Remove culture medium from 35 mm dish containing Thin collagen gel membrane on which cells are maintained following single side cell culture methods. Wash Thin collagen gel membrane surface with culture medium and follow the outline of nylon support with dentist forceps. Gently remove the Thin collagen gel membrane from the bottom of 35 mm dish with the dentist forceps.

Wash Thin collagen gel membrane again with culture medium in 60 mm dish.

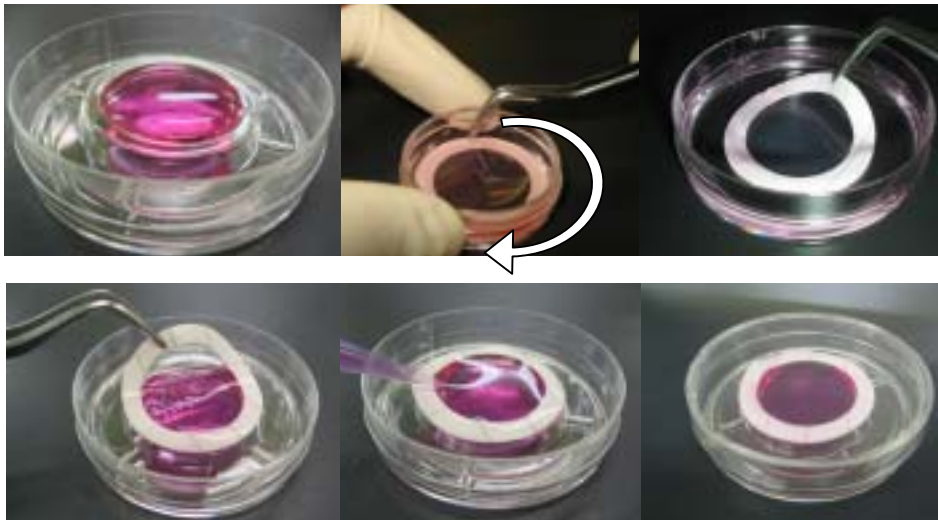
Place Thin collagen gel membrane on cell-seeding plastic device with cell-attaching surface down.

Please be care that there is no bubble between culture medium and Thin collagen gel membrane.

Add appropriate number of cells suspended in a volume of 350 – 400  $\mu$  L culture medium on Thin collagen gel membrane.

Cover 60 mm dish with the lid and place it in a CO<sub>2</sub> incubator until the completion of cell attachment.

After cells are attached, place Thin collagen gel membrane in 35 mm dish (non-treated) and maintain the both sides cell culture with appropriate medium changes.



### <Observation>

Observe cells on Thin collagen gel membrane under a phase contrast microscope as is the case with cells on 35 mm dish.

Cells on each side can be observed easily by focusing a microscope on each side.

Cells are also observed by cell fixation, cell staining and sectioning methods.

**Asahi Techno Glass Corporation**

**Scitech Division**

7-2 Nihonbashi-Honcho3-Chome, Chuo-ku, Tokyo 103-0023, Japan

TEL: 03(5645)2751 FAX: 03(5643)8286

<http://www.atgc.co.jp/div/rika/>