

CELLSOLUT

細胞培養関連製品シリーズ

WELLBAG

スフェロイド形成用の閉鎖系培養バッグ
ウェルバッグ

操作方法説明書

準備するもの

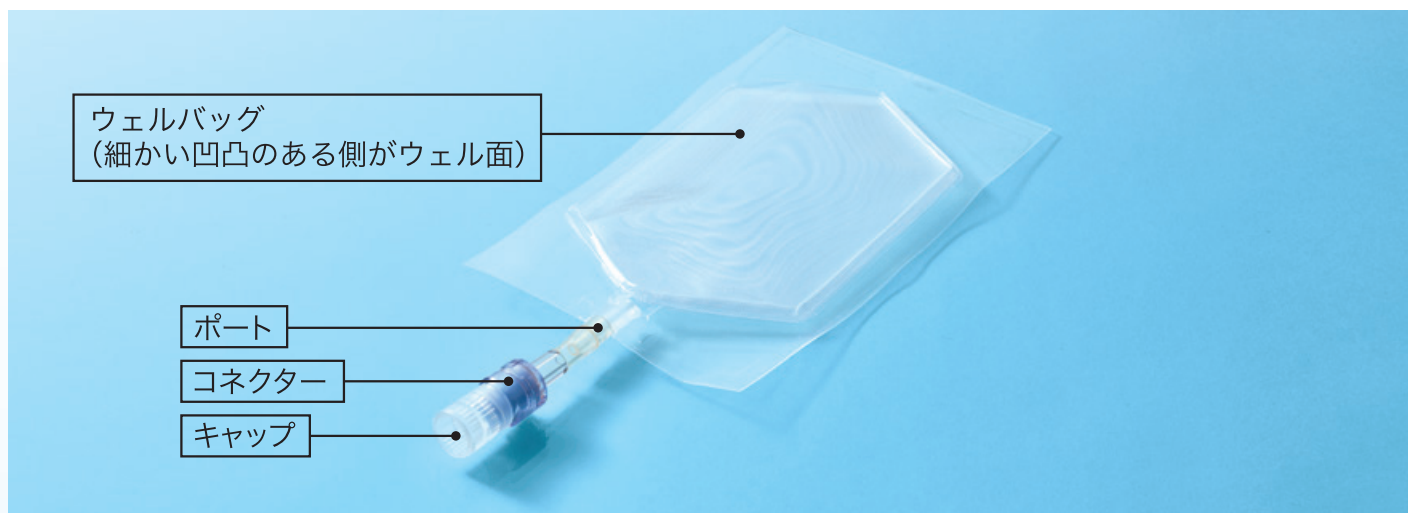


Fig.1 ウェルバッグと各部名称

- ウェルバッグ (以下、“バッグ”も同じ。Fig.1)
- ウェルバッグ専用ホルダー (以下、“ホルダー”も同じ)
- シリンジ (ネジロック式、20mLを推奨。Fig.2) 1本
- ピペッター (電動ピペッターと10mLチップを推奨) 1本
- 遠沈管 (汎用の15mL又は50mL) 1個
- スフェロイド回収容器 (任意のもの) 必要数
- 細胞懸濁液及び培地

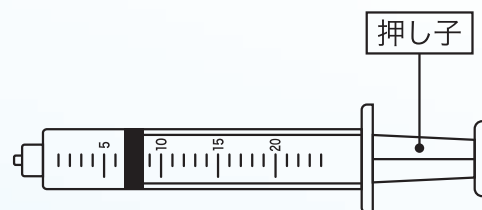


Fig.2

シリンジ (ネジロック式、押し子付き)

本リーフレットに記載しております内容は予告なく変更することがあります。予めご了承下さい。

製造販売元：  東洋製罐グループホールディングス株式会社お問い合わせ先： 新規事業推進室事業化推進グループ
東京都品川区東五反田 2-18-1 大崎フォレストビルディング
(TEL) 03-4514-2305 (FAX) 03-3280-8121
(MAIL) bis_innov_wellbag@tskg-hd.com
(URL) www.tskg-hd.com

販売店：

はじめに

コネクターの導通確認

- ① コネクター先端のキャップを外し、5mL程度押し子を引いた状態のシリンジを接続する。
- ② 押し子をシリンジの奥まで押し込む。
※バッグ内へ空気が入らない場合は一旦シリンジを外し、再度シリンジを押しながらねじ込んで下さい。
- ③ バッグ内の空気をできるだけ残さないように押し子を5mL程度引き、シリンジを取り外す。

ウェルバッグ使用手順

01 ウェルバッグに培地を入れる

- ① 押し子を抜き取った状態のシリンジを、ウェルバッグのコネクターに接続する。 Fig.3
- ② ピペッターで培地を10mL採取し、前項で接続したシリンジからバッグ内へ注入する。 Fig.4
※この時、バッグ内に入り込む気泡を最小限とするよう連続的に培地を送り込む。
- ③ シリンジをコネクターに接続したままバッグ内の空気をポート方向へ寄せ、コネクターから空気を排出する。 Fig.5
- ④ バッグからシリンジを取り外し、コネクターにキャップを装着する。 Fig.6
※外したシリンジは、培地が周囲に飛散しないよう先端を遠沈管に挿入した状態で押し子を押し込んでおく。



Fig.3

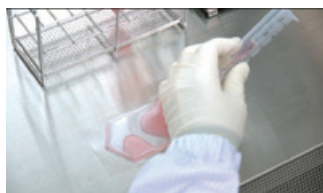


Fig.4



Fig.5



Fig.6

02 ウェル内に残った気泡を抜く

以下の方法2つからどちらかを選択して、ウェル内に残った気泡を排出する。

方法1 マニュアル方式(短時間で気泡除去できる)

- ① コネクターにキャップを装着したままバッグを手で持ち、ウェル面を下にしてクリーンベンチ作業台へバッグを水平にして叩きつける。 Fig.7～Fig.8
- ② ウェル面を下にしてバッグをクリーンベンチ内底面に置き、バッグ上面を手で叩く。 Fig.9
- ③ バッグを持ってウェル面を目視観察し、気泡が残っていたらその部分を指で弾く。 Fig.10

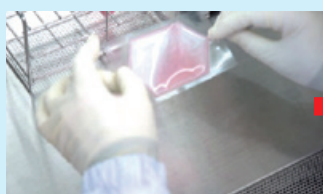


Fig.7



Fig.8



Fig.9

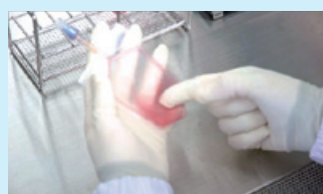


Fig.10

- ④ コネクターのキャップを外し、押し子を奥まで挿し込んだ状態のシリンジを接続する。
- ⑤ バッグ内上面に浮いた気泡をコネクター側に移動させる。
- ⑥ バッグの中央から尻の部分を手で押さえながら、ポートを立てるようにして気泡をポート側へ誘導する。 Fig.11～Fig.12
- ⑦ 気泡をポート部へ充分寄せてからシリンジの押し子を少しずつ引いて気泡を排出する。
- ⑧ シリンジをバッグから取り外し、コネクターにキャップを装着する。



↓ Fig.11

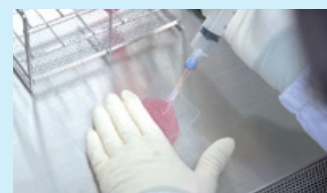


Fig.12

方法2 インキュベーション方式（気泡除去までに半日程度かかる）

P.3 04「ウェルバッグを専用ホルダーにセットする」に従って、ホルダーに装着したウェルバッグを培養温度(37℃)に設定したインキュベーター内で一晩放置(静置)することで、ウェル内の気泡は自然にバッグ外へ放出される。

03 ウェルバッグに細胞懸濁液を入れる

- ① コネクターのキャップを外し、押し子を抜き取った状態のシリンジをコネクターに接続する。
- ② P.1 01「ウェルバッグに培地を入れる」と同じ要領で、ピペッターにより細胞懸濁液をウェルバッグに注入する。
※ポートのバッグ側直下まで細胞懸濁液を入れる。
※ウェルバッグ内の培地と細胞懸濁液の合計量は20mL以内とする。
- ③ バッグ内に入った気泡を、P.1 01③や、02 方法1の要領で排出する。
- ④ コネクターにキャップを装着し、ウェル面を上にしてバッグを平置きする。
- ⑤ 細胞懸濁液が泡立たないように注意しながら液を攪拌する。

<攪拌方法例>

- ① 両手でバッグを上から左右交互に押す。 Fig.13
- ② バッグを持ち上げ、ウェル面を上にして掌の上で左右に振る。 Fig.14

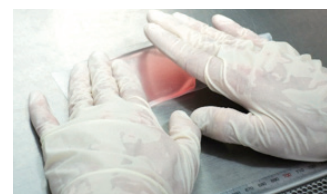


Fig.13



Fig.14

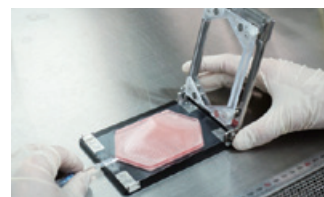
※攪拌後は、速やかに次項「ウェルバッグを専用ホルダーにセットする」以下へ進む。

04 ウェルバッグを専用ホルダーにセットする

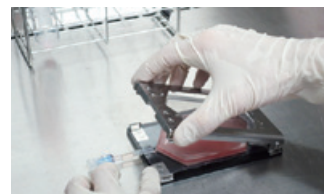
- ① 専用ホルダーの上蓋(可動部分)を上方へ開く。
- ② バッグのウェル面を下にして、ホルダーのベース板に嵌め込んであるガラスの周縁と合わせるようにバッグをベース板中央に配置し、ゆっくりと上蓋を閉じる。Fig.15 ~ Fig.17
※バッグの上面にしわが無いことを確認する。しわが有る場合は上蓋を開いてバッグ上面を平らにならしてから再び上蓋を閉じる。
- ③ そのまま室温で5~10分静置する。(細胞がウェル底まで沈降する)

※ウェルバッグを装着したホルダーを持ち運ぶ際の留意事項

- ・ホルダー上蓋のロック機構が確実に効いていることを確認する。
- ・細胞(スフェロイド)がウェル間で移動しないよう動作はゆっくり行い、また急な方向転換を行わない。
- ・運搬中は、ホルダーの平行(水平状態)をできる限り保つようにする。



↓ Fig.15



↓ Fig.16

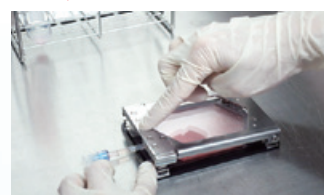


Fig.17

05 細胞(スフェロイド)の培養

専用ホルダーに装着した細胞懸濁液入りのウェルバッグを、インキュベーター内へ定置して細胞(スフェロイド)を培養する。

※培養温度・培養時間等の諸条件は、ご使用者様の目的に合った条件に設定して下さい。

06 細胞(スフェロイド)の回収

- ① インキュベーターからホルダーごとバッグを取り出す。
- ② ウェルバッグをホルダーから解放し、クリーンベンチ内の作業台にウェル面を上にして置く。
- ③ ウェル面を上から手で軽く叩く。(スフェロイドがウェルから離脱する)
- ④ ウェルバッグのコネクターからキャップを外す。
- ⑤ シリンジを、15mL程度押し子を引いた状態でコネクターに接続する。
- ⑥ 押し子を完全に押し込み、バッグ内に空気を注入する。Fig.18
※入れた空気が一つの大きな気泡となるようにゆっくりと操作する。
- ⑦ ポート側を下にしてバッグを持ち、シリンジで細胞(スフェロイド)を回収する。Fig.19
※バッグ内両面のフィルムを接触させないように留意しながら液を吸引する。
※バッグを手で揺動させて、ウェル内面を内容液ですすぐようにしながら細胞(スフェロイド)を回収する。
- ⑧ 回収した細胞(スフェロイド)を回収容器に移す。Fig.20



Fig.18



Fig.19



Fig.20

注) 本マニュアルは当社が推奨するウェルバッグ及びホルダー(以下、本製品)の使用手順の一例を示すものであり、ご使用者様の責任下で行う独自の使用方法・手順を禁止するものではありません。また、本マニュアルに従って本製品を使用することが、本製品の有効性を保証するものではありません。