

# PPI膜インサート取扱説明書

## 主な仕様

	6ウェル	24ウェル
膜の孔径	上面：10～30 $\mu\text{m}$ 下面：30～60 $\mu\text{m}$	上面：10～30 $\mu\text{m}$ 下面：30～60 $\mu\text{m}$
培養面積	4.5 $\text{cm}^2$	0.4 $\text{cm}^2$
インサート内容積	6.8 $\text{cm}^3$	0.6 $\text{cm}^3$
滅菌	EOG滅菌	EOG滅菌

## 保管条件

室温

## 準備

- PPI膜インサート
- プレート インサートが底面に接触しないよう、深さが17mm以上のプレートをご使用ください。
- ピンセット
- マイクロピペット、チップ
- 電動ピペッター、ピペット
- アスピレーター
- 培地
- 細胞懸濁液
- クリーンベンチ もしくは 安全キャビネット
- 恒温恒湿インキュベーター

## ご使用の前に

- 膜は破れやすいため、ピンセットやピペットの先端等尖ったものが触れないようご注意ください。
- インサートをプレートに設置する際は、持ち手が重ならないようにしてください。
- 振とう培養をする場合、インサートがウェル内で動くことがあります。

## 手順

### 1. 膜の湿潤（クリーンベンチ等の無菌環境下で実施）

目的：細胞の播種前に予め膜を培地に浸漬することで、膜を湿潤させ播種時の細胞接着を促進させる。



#### ① ウェルへ培地を入れる。(注1)

6ウェル：3mL、24ウェル：0.5mL（目安）



#### ② インサートをウェルに設置する。(注1、2)

インサートを設置する際には、気泡が入らないように液面に対してやや角度をつけて培地へ浸ける。



#### ③ インサートへ培地を入れる。(注1、2)

6ウェル：1.5mL、24ウェル：0.5mL

#### ④ インキュベーターで60分以上静置する。(注2)

PPI膜は多孔質のため、膜に含まれる空気が気泡となることがある。気泡が消えない場合、インサートを液面から上げて培地へ浸け直す。

注1：培地は必ずインサートとウェルの両方へ入れる。インサートもしくはウェルのどちらか一方にのみ培地を入れた場合、膜の湿潤が不十分になる。

注2：インサート側面とウェル内壁の接触に注意する。毛細管現象により培地がウェル上部まで上がることもある。

## 2. 播種



### ① 新しいプレートに新しい培地を入れる。

6 ウェル : 3mL、24 ウェル : 0.5mL (目安)



### ② 【手順 1. 膜の湿潤】で使用したインサート内の培地を除去する。

培地を除去する際は、アスピレーター等の先で膜を破らないように注意する。



### ③ ①で準備したプレートへインサートを移す。

インサートを設置する際は、膜の下に気泡が入らないように液面に対してやや角度をつけて培地に浸ける。



### ④ 細胞懸濁液を準備し、インサートへ入れる。(注 2、3)

6 ウェル : 1.5mL、24 ウェル : 0.5mL  
最適な播種細胞数は、細胞の種類によって異なる。

### ⑤ インキュベーターで培養する。(注 2、3)

注 2 : インサート側面とウェル内壁の接触に注意する。毛細管現象により培地がウェル上部まで上がることもある。

注 3 : インサートに細胞を播種しても、接着する前の細胞が膜の孔径より小さいため細胞が膜を通過し、ウェル底面で増殖する場合がある。

接着性の高い細胞の場合、培地交換の手順で新しいプレートに入れ替えた後は、細胞がインサート外部に出ることは少ない。浮遊性の細胞はこの限りではない。

### 3. 培地交換



#### ① 新しいプレートに新しい培地を入れる。

6ウェル：3mL、24ウェル：0.5mL（目安）



#### ② インサートの培地を除去する。

培地を除去する際は、アスピレーター等の先で膜を破らないように注意する。



#### ③ ①で準備したプレートへインサートを移し、インサートへ新しい培地を入れる。(注2)

6ウェル：1.5mL、24ウェル：0.5mL

インサートとウェルに入れる培地量のバランスを適宜調整する。

インサートを設置する際は、膜の下に気泡が入らないように液面に対してやや角度をつけて培地へ浸ける。



#### ④ インキュベーターで培養する。

注2：インサート側面とウェル内壁の接触に注意する。毛細管現象により培地がウェル上部まで上がることがある。

## トラブルシューティング

トラブル	考えられる原因	対策
膜の裏側に気泡が残った	ウェルに培地を入れる際、 空気を巻き込んだ  インサートの浸け方により、 空気が膜裏に残った  多孔質であるPPI膜内の 空気が気泡となった	ウェルの培地に気泡を含む場合、 ピンセット等で事前に泡を潰す  インサートを液面から上げ、 液面に対してやや角度をつけて インサートを培地へ浸け直す
播種の際にPPI膜が破れた	ピペットの先端が膜に接触した	ピペットの先端が膜に 触れないように注意する
熱したピンセットの先端で インサートの持ち手が溶けた	バーナーで加熱滅菌した ピンセットで、すぐに インサートを掴んだ	ピンセットをバーナーで 加熱滅菌する場合は、 ピンセットが冷えてから インサートを掴む
インサートから培地があふれた	細胞増殖により培地が 抜け難くなった	インサートとウェルに入れる 培地量のバランスを調整する

## お問合せ

### UBE株式会社

#### 医薬事業部 ライフサイエンス市場開発グループ

〒105-8449 東京都港区芝浦1-2-1 シーバンスN館

TEL **03-5419-6161**

URL **<https://www.ube.co.jp>**

E-mail **[Info-life@ube.com](mailto:Info-life@ube.com)**