



プロトコル

6well-Multi からマルチウェルプレートへの
スフェロイドの分配と接着

創薬研究用ヒト腎細胞
3D-RPTEC[®]

日機装株式会社

実施方法

3D-RPTEC を細胞接着プレートに分配し、スフェロイドをウェル底面に接着させた状態での実験が可能です。スフェロイドにおける薬物取込実験・活性評価（洗浄作業含む）やバイオマーカー測定、その他の細胞数を多く必要な実験にご利用頂けます。

以下に作業手順の一例を示します。実験目的に応じて適宜改変してください。

1. 分配に使用する細胞培養用マルチウェルプレートを準備し、次頁の表を参考に必要ウェルに事前に培地を添加してください。
2. スフェロイドを培養している低接着 6 ウェルプレート（6well-Multi）をインキュベーターから取り出してください。
3. 6 ウェルプレートを斜めにしてしばらく待つと 3D-RPTEC（スフェロイド、約 500 塊/ウェル）が手前側のウェル底に沈みます。



4. ウェル内の培地について上層 1mL をマイクロピペットでゆっくりと吸引除去します。底に沈んでいるスフェロイドを吸わないように注意してください。
※以降の作業で 1.5mL チューブに移すために培地量を減らします。
5. ウェル数分の滅菌された 1.5mL チューブを用意してください。広口チップまたは P1000 チップでスフェロイドを培地ごと吸引し、1.5mL チューブに全量を移してください。
広口チップの例：FastGene セルサーバーチップ 200 μ L, 型番 FG-FB205R
6. 約 3 分間静置し、自然沈降によりスフェロイドが 1.5mL チューブ底に沈んだことを確認します。

7. スフェロイドを吸わないように上層の培地を吸引除去します。
8. 1.5mL チューブに新しい専用培地を 0.5 mL 添加します。
9. 下表*を参考にスフェロイドを細胞培養用マルチプレートに分配してください。分配時はスフェロイドを傷つけないように広口チップまたは P1000 チップを使用して下さい。事前に培地を添加したマルチウェルプレートにスフェロイド入りの培地をゆっくりと重層して下さい。

*：下表はあくまで目安です。実験の目的に応じて適宜調整ください。

マルチウェルプレート	プレートに事前添加する培地量	スフェロイドの分配量	1ウェルあたりのスフェロイド数	最終培地量
6well plate	2.0 mL/well	0.5 mL/well	約500塊/well	2.5 mL/well
12well plate	750 μ L/well	250 μ L/well	約250 塊/well	1.0 mL/well
24well plate	375 μ L/well	125 μ L/well	約125 塊/well	0.5 mL/well
48well plate	200 μ L/well	50 μ L/well	約50 塊/well	250 μ L/well

10. スフェロイドを分配後、1 日以上インキュベーター内で静置培養すると、底面にスフェロイドが接着します。ただし、ウェル内の吸引吐出を勢いよくピペッティングすると、スフェロイドが底面から剥がれるのでご注意ください。
注意：スフェロイドを底面に接着させてから日数が経過すると接着面から細胞が増殖します。徐々に品質が低下しますので、スフェロイドを分配および接着後はお早めにご使用ください。

問い合わせ先

日機装株式会社
 創薬研究用ヒト腎細胞お問い合わせアドレス
 Mail: 3D-RPTEC@nikkiso.co.jp
 HP: <https://www.nikkiso.co.jp/products/industrial/3drptec/>

