

令和2年5月28日

## BT 細胞系の培養について

### 【準備するもの】

・DMEM (Sigma)/Nutrient Mixture F12 Ham (F12, Sigma) medium that contained 10% FBS, 100 mg/ml streptomycin, and 100 U/ml penicillin (Sigma)

(凍結細胞を再培養する際には 20% FBS で使用)

・collagen-coated flask or dish: 通常、こちらでは Cellmatrix Type I-C (Nitta Gelatin, Osaka, Japan) を用いて T25 フラスコにコートしています。

・トランスファーピペット:こちらでは下記の製品を使っています。

<https://www.bmbio.com/product/tabid73.html?pdid1=232-1S>

### 【操作】

基本的には、T25 (25 cm<sup>2</sup>) フラスコから継代する場合は下記の通りです。

1. コラーゲンコートしたフラスコやディッシュを準備する。(こちらのルーチンの維持では T25 (25 cm<sup>2</sup>) フラスコを使用)
2. 培養から1週間から 10 日程度経過し、これ以上の増殖が認められない T25 フラスコ上の BT 細胞をフラスコからピペッティングで剥がす。
3. 15 mL チューブに移し、200 x g, 5 分遠心して細胞を集める。
4. 培養上清を捨て、8 mL の新しい培養液を加え、ピペッティングして細胞を分散させる。(今回お送りする BT-C 細胞は比較的増殖速度がよいようなので 1/4 量のパッセージで大丈夫です。8 mL のうちの 2 mL を以降の手順で播種します)
5. 通常の培養ピペットだと先端が少々太くて細胞をあまり分散させることができない。トランスファーピペットを使用して、ピペッティングして細胞をさらに分散させる。

(トランスファーピペットがあればよいですが、無い場合は培養ピペットで代用可？  
かどうか。)

6. 細胞懸濁液 2 mL を T25 フラスコに加え、37°C で培養です。

7. 2日後くらいには、コロニー状で細胞が点在して接着しているのが確認できるはず。  
状況をみながら(培養液の色等をチェック)、最低でも 1 日おきには培養液交換が  
必要です。

#### 【注意点】

- BT 細胞系ですが、かなり扱い難いです。通常のがん細胞や線維芽細胞と同じ感覚  
で培養しているとおそらく駄目になります。実際に細胞を見ていただければとわかる  
かと思いますが、コロニー状で増えますし、vesiculation もしてきます。
- 今回お送りした凍結細胞は、チューブ 1 本を T25 フラスコに播種でよいと思います。
- 細胞を完全に分散(バラバラ)してしまうと、接着せずに死滅してしまうようです。
- BT-A から L、1S は、細胞によって増殖速度が異なるようです。