



A チップ(PDMS/Glass)

(Cat# JKSK_S0002A)

取扱説明書 ver.1.1

目次

1. はじめに	2
2. A チップの特徴	2
3. オプションについて	3
3-1. プレートホルダー	3
3-2. ダミーチップ	3
3-3. 『プレートホルダー』が無い場合の培養について	4
4. Nerve organoid 作製のプロトコル	5
4-1. コーティングの前処理	5
4-2. 細胞接着因子のコーティング	6
4-3. チップへのスフェア移行	8
5. 培養液の交換について	10

1. はじめに

本製品は試験研究用です。ヒトや動物を対象にした医療や臨床診断の目的では使用しないでください。

2. Aチップの特徴

本製品は、“Nerve organoid”と呼ぶヒトiPS細胞由来の神経細胞を用いた3次元神経組織を作製するためのチップです(図1)。



図1. Aチップのイメージ図

神経細胞のスフィアを片側のウェルに置き培養することで、細胞体から軸索が流路内へ伸長していきます。軸索は伸長しながら流路内で自己組織的に束を形成し、数週間後には軸索末端側のウェルの近くまで軸索束が形成されていきます。なお、Aチップの材質、サイズなどは表1をご参照下さい。

表1. Aチップの素材・外形・ウェル間流路長

チップ素材	PDMS(船)、Glass(底面)
チップサイズ(外形)	38 mm(W) x 10 mm(D) x 9 mm(H)
ウェル間流路長	18.5 mm

3. オプションについて

培養の管理を簡単に行うための製品です。

3-1. プレートホルダー

『プレートホルダー』とは本製品を収め、チップ培養を行うための製品です(図2)。



図2. (左)空のプレートホルダー、(右)プレートホルダーにAチップを埋めた状態

【CAUTION】

・『プレートホルダー』はオートクレーブ滅菌に対応しておりません。消毒用エタノールを吹きかけ、UV滅菌をしてご利用ください。プレートホルダーは繰り返し利用できます。

3-2. ダミーチップ

『ダミーチップ』とは『プレートホルダー』の空きのウェルを埋めるための製品です(図3)。

『ダミーチップ』の素材は医療用途シリコンゴム(米国USPクラスVI基準)を採用しています。

【CAUTION】

・『プレートホルダー』でチップ培養を行う場合、空きのウェルが生じると培養液の蒸散が早まることが弊社の試験によって確認されております。その防止策の一つとして『ダミーチップ』で空きのウェルを埋めることを推奨しています。

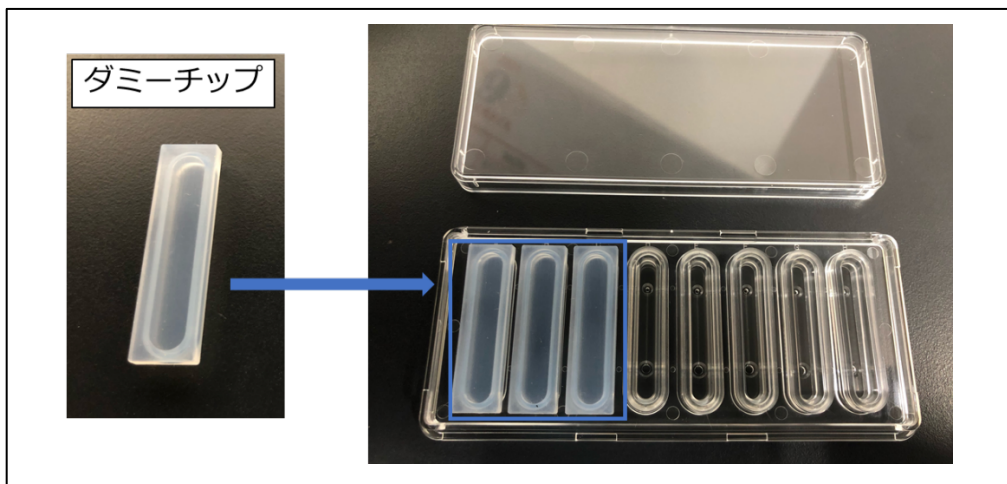


図3.(左)ダミーチップ、(右)プレートホルダーの空きウェルにダミーチップを埋めた状態
(青枠、ダミーチップ)

【Point】

- ・『ダミーチップ』はオートクレーブ滅菌に対応しており、繰り返し利用できます。

3-3. 『プレートホルダー』が無い場合の培養について

湿潤環境下を保つため、滅菌水で湿らせたペーパーなどを10 cmディッシュに入れ、その中でチップ培養を行うようにして下さい。

【CAUTION】

- ・ディッシュ内ではチップを倒さないようにご注意ください。

4. Nerve organoid 作製のプロトコル

4-1. コーティングの前処理

本作業はチップとコーティング剤の吸着を促進するために実施します。

- ①本製品を使用する前は必ずオートクレーブ滅菌を行ってください。
オプションの『プレートホルダー』は消毒用エタノールを吹きかけ、UV滅菌して下さい。『ダミーチップ』はオートクレーブ滅菌を行ってください。
- ②オートクレーブ滅菌が終わったら、本製品を安全キャビネット内で30分以上乾すようにして下さい。乾き切らなかった水はアスピレーターで除いて下さい。
う
- ③『細胞体側のウェル』に50 μ Lの滅菌水を入れて下さい(図4)。
- ④『軸索末端側のウェル』の流路側から滅菌水をアスピレーターで除いて下さい。そのあと、各ウェルに滅菌水が残っていないか確認してください。残っていれば、アスピレーターで除いて下さい(図4)。

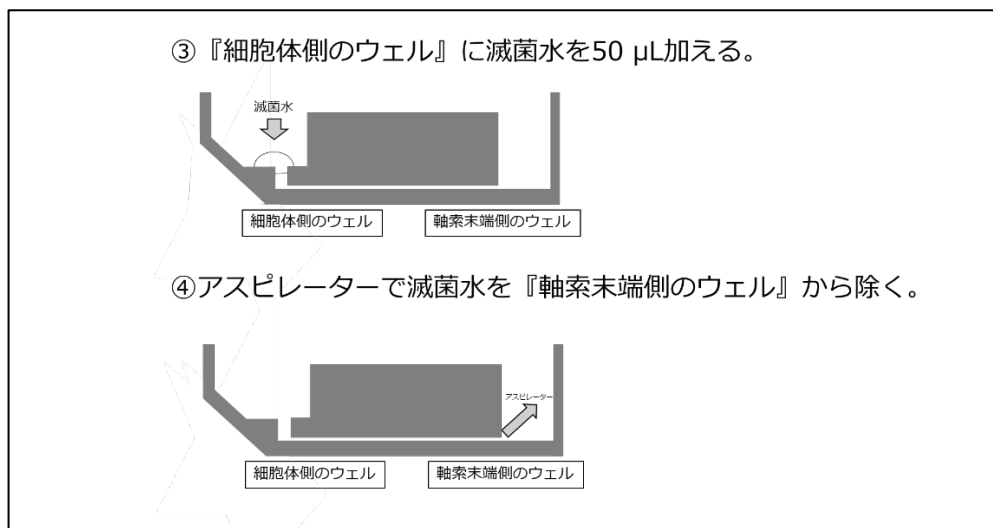


図4. Aチップの断面図のイメージ、滅菌水の加え方、除き方

4-2. 細胞接着因子のコーティング

① マイクロピペットでコーティング溶液を採取し、チップの先を『細胞体側のウェル』に密着するように差し込み、コーティング溶液をゆっくり加えて下さい(50 μ Lを推奨)。『流路』にコーティング溶液が流れていき、軸索末端側のウェルのコーティング溶液が流れてくることを確認して下さい。図5)。

② 『軸索末端側のウェル』の全体を覆うように、コーティング溶液を加えて下さい (50 μ Lを推奨)(図5)。

【Point】

・チップとコーティングの吸着を促すために、一晚静置することを推奨しています。その際は、コーティング溶液が乾燥しないように工夫して下さい。

【CAUTION】

・チップの先はウェルの底面に当たらないようにご注意ください。ウェルの底面に傷がついたり、チップが破損する恐れがあります。

・『細胞体側のウェル』 『軸索末端側のウェル』 『流路』 に気泡が無いようにご注意ください。

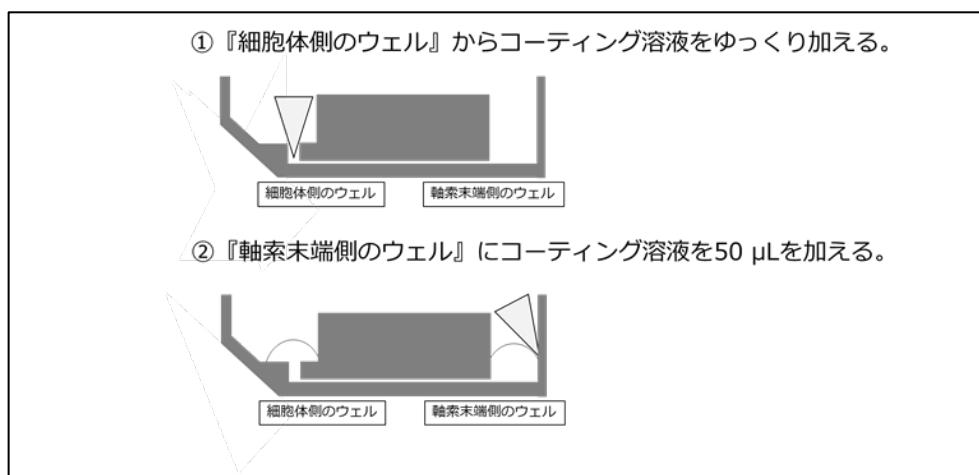


図5. Aチップの断面図のイメージ、コーティング溶液の入れ方(▽: チップの位置)

③ウェル内に余分に入っているコーティング溶液をアスピレーターで除いて下さい(図6)。

【CAUTION】

・ウェル底からアスピレーターでコーティング溶液を除かないように、注意してください。ウェル底のコーティングが剥がれると、Sphereがウェル底面に貼りつかず、軸索が伸びなくなる恐れがあります。アスピレーターで壁を伝って上の方から除き、少しウェル内に残るようにして下さい。

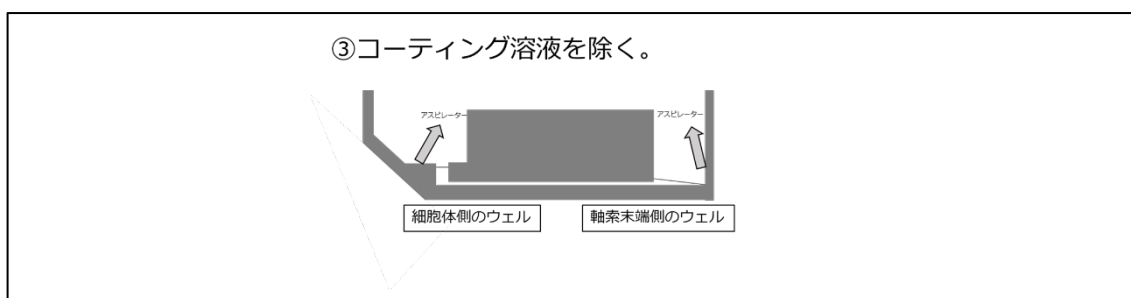


図6. Aチップの断面図のイメージ、余分なコーティング溶液の除き方

4-3. チップへのスフェア移行

【Point】

・チップへ神経細胞のスフェアを移行する前に、『細胞体側のウェル』『軸索末端側のウェル』『流路』を培養液で共洗いします。

- ①『細胞体側のウェル』からゆっくと50 μL の培養液を加えて下さい(図7)。
- ②『細胞体側のウェル』から流路へ培養液が流れ、『軸索末端側のウェル』へ培養液が漏れ出していきます(図7)。
- ③チップ中央付近からやさしく370 μL の培養液を加えて下さい(計420 μL の培養液)(図7)。
- ④『細胞体側のウェル』に神経細胞のスフェアをやさしく入れて下さい(図7)。
- ⑤培養インキュベーターに静置して下さい。
(なお、チップを収めるプレートホルダーやディッシュは重ねずに培養することを推奨いたします。)

【CAUTION】

- ・コーティングが剥がれないようにやさしく操作を行って下さい。
- ・『細胞体側のウェル』『軸索末端側のウェル』『流路』に気泡が無いようにご注意ください。

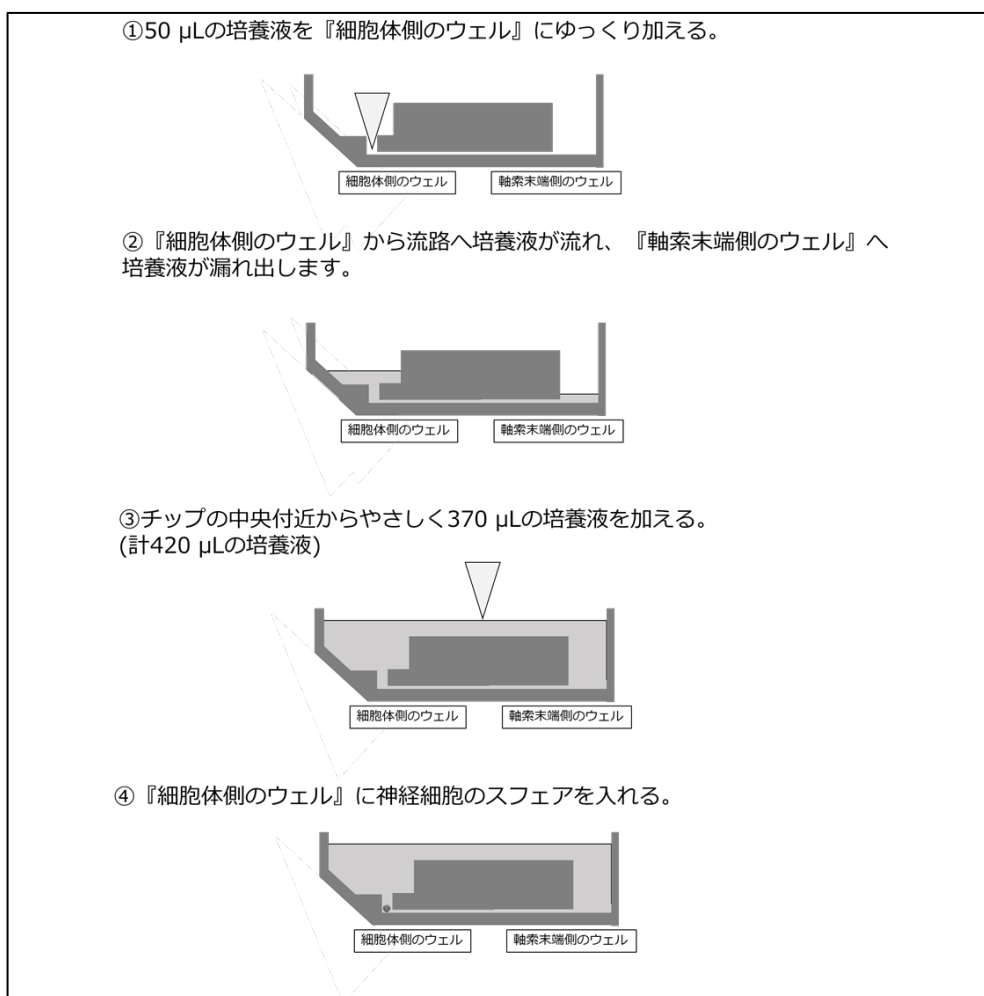


図7. Aチップの断面図、スフェア移行の手順(▽: チップの位置)

5. 培養液の交換について

培養液の交換は週2回、全量交換することを推奨しています。

【CAUTION】

細胞体や軸索にダメージを与えないために、チップの中央付近から培養液をやさしく交換して下さい。

ご質問・ご要望は下記までお問い合わせください。

〒212-0032

神奈川県川崎市幸区新川崎 7-7

AIRBIC A24

株式会社 Jiksak Bioengineering

HP: <https://www.jiksak.co.jp>

Email: info@jiksak.co.jp

