

IV. コラーゲンスポンジハニカムの使用方法

1. 脱泡

方法 1.

- (1) 製品は滅菌済み (100mg / 瓶) である。容器に担体を入れた状態で 10mL の培地または PBS⁽⁻⁾ を加える。
- (2) 担体は内部に含んでいる空気により大部分が浮くが、そのまま担体を 90mL の培地または PBS⁽⁻⁾ の入った 100mL 容量のスピナーフラスコへ移す。
- (3) 40r.p.m. ぐらいの回転速度で低温室で 1 日攪拌することで脱泡する。

方法 2.

- (1) コラーゲンスポンジハニカムを密栓のできる無菌遠沈管に入れる
- (2) 遠心分離器に 1000rpm で 10 分間かけると脱泡できる

方法 3.

- (1) 容器に担体を入れた状態で 15mL の培地または PBS⁽⁻⁾ を加える。
- (2) ガラス棒で担体を押し付けて気泡を抜く

2. 細胞の播き込み

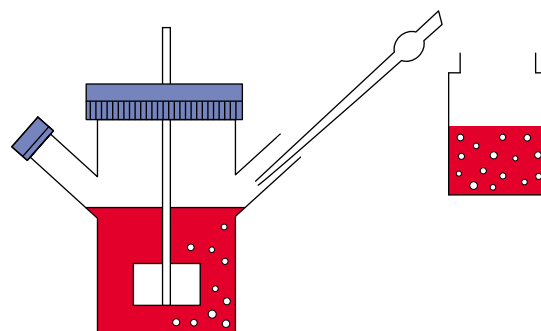
- (1) 脱泡終了後、方法 1, 3 の場合スピナーフラスコ内の培地または PBS⁽⁻⁾ を新しく使用する培地に交換する。培地 100mL に対し担体は、100 ~ 200mg 用いる。膨潤した状態でコラーゲンスポンジハニカムの体積は 15 ~ 30mL 位となる。
- (2) 細胞の播き込み数は、 10^6 細胞 / 100mL 培地程度。
- (3) 10 ~ 15r.p.m. で 1 分間攪拌、その後静置する。30 分毎に 30 秒攪拌する (15 ~ 30rpm) この操作を 2 時間程度行うことにより細胞が担体に接着する。

3. 細胞培養

細胞接着確認後、コラーゲンスポンジハニカムが穏かに動く程度に攪拌し、培養する。

実際の増殖曲線を次頁に示す。いずれの細胞でも約 2 週間の培養により $7 \times 10^6 \sim 10^8$ 個 / mL の細胞密度まで増殖可能である。

脱気方法 1 (低温攪拌)



細胞の接着方法

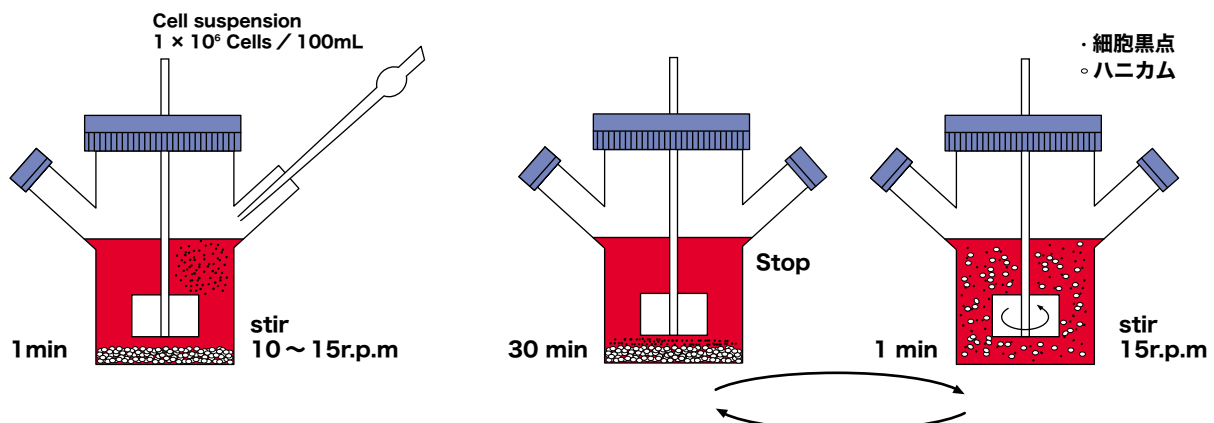


図 コラーゲンスポンジ上での F-7000 細胞の増殖曲線

実際の増殖曲線を次に示す。いずれの細胞でも約 2 週間の培養により $7 \times 10^6 \sim 10^8$ 個/mL の細胞密度まで増殖可能である。

