

細胞培養ガイド

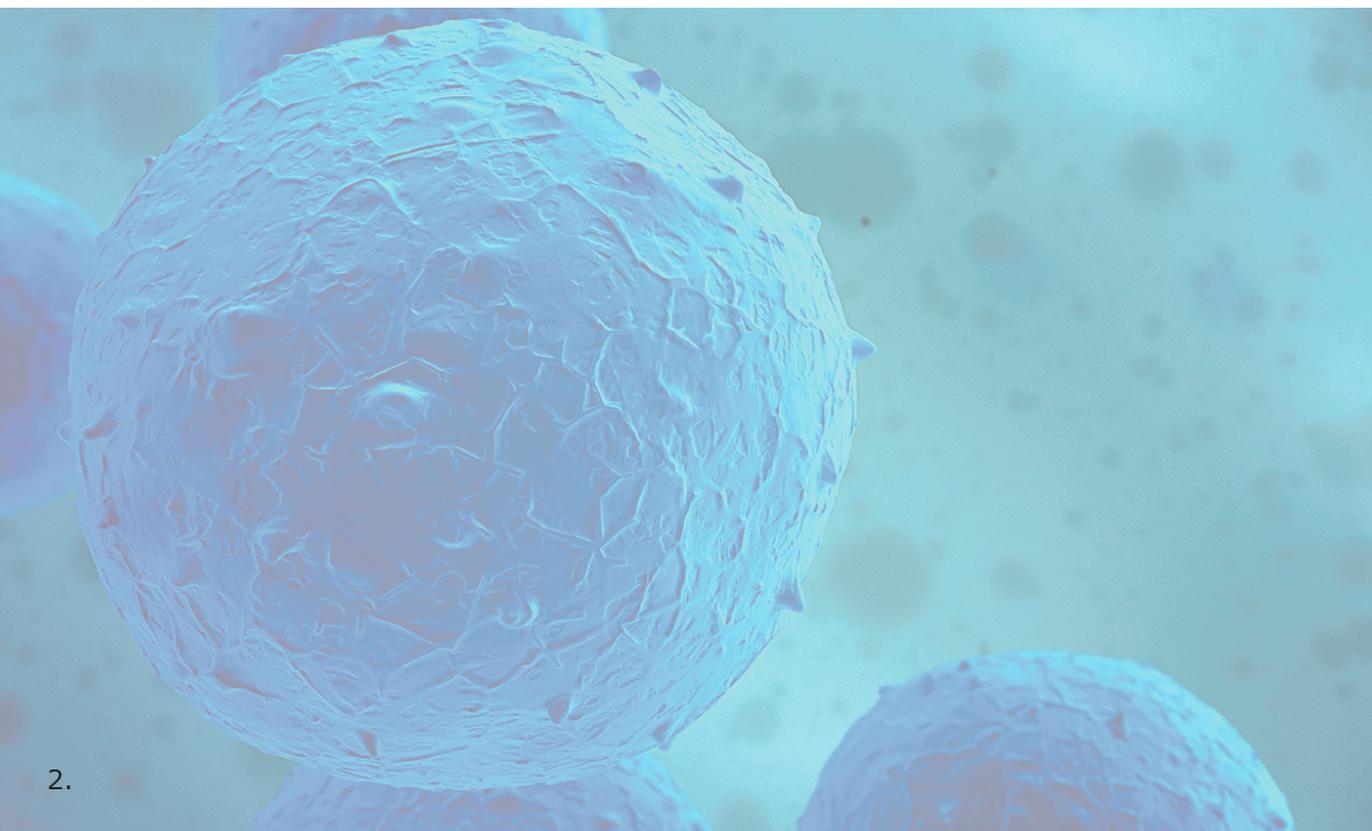
ver.1



もくじ

1. はじめに（細胞培養の目的）	3
2. 細胞及び培養方法の選択	4
2.1 細胞の入手方法	4
2.2 基本的な培養方法	4
2.2.1 静置培養（単層培養）	5
2.2.2 浮遊培養	5
2.2.3 回転培養	5
2.2.4 旋回培養（振とう培養）	6
2.2.5 担体を用いた培養	6
2.2.6 三次元培養	6
3. 培養設備、機器／器具	7
3.1 実験室（実験区域）	7
3.2 実験機器	7
3.2.1 無菌環境区域	7
3.2.2 培養関連機器	7
3.2.3 細胞保存容器	8
3.2.4 細胞観察機器	8
3.2.5 器具滅菌機器	8
3.2.6 その他培養器具	8
3.3 機器選択ガイド	9
【コラム 1】CO ₂ インキュベーターの選択	11
4. 培養の準備	12
4.1 培養機器の準備（使用前の検査）	12
4.2 培養容器の準備	12
4.3 培地、試薬の準備	12
4.4 血清の準備 「プロトコル」	13
4.5 作業の時の注意	13
5. 基本的な細胞培養技術	14
5.1 細胞の増殖（増殖曲線） 「プロトコル」	14
5.2 細胞融解（解凍） 「プロトコル」	15
5.3 細胞数のカウント 「プロトコル」	16
5.3.1 細胞計数盤でのカウント	16
5.3.2 生細胞率の算出	17
5.4 細胞の継代（接着細胞） 「プロトコル」	18
5.5 細胞の継代（浮遊細胞） 「プロトコル」	19
5.5.1 培地の交換	19
5.6 細胞保存・凍結：接着細胞「プロトコル」	20

【コラム 2】 意外な狙い目？細胞融解の最終兵器！	21
6. 細胞の搬送	22
6.1 細胞の搬送	22
6.2 再生医療に用いる細胞の搬送	23
7. 細胞の評価（品質管理）	24
7.1 コンタミネーション	24
7.2 マイコプラズマ汚染の対策	24
【コラム 3】 その細胞は目的の細胞？（STR/BAC Array/Proteome）	25
8. 細胞培養（技術）と知的財産権	26
8.1 MTA（Material Transfer Agreement）	26
8.2 特許出願戦略	26
8.3 特許出願と学会発表	27
9. おわりに	28



1. はじめに(細胞培養の目的)

細胞培養は、生体内での生命現象を生体外で再現させることができ、研究者は比較的容易な操作で生体内での反応を模倣した実験系を組むことが可能となりました。

生命現象のメカニズムの解明及び、薬剤や外的刺激が細胞に及ぼす効果の評価などに利用することができ、様々な実験系、評価系が確立しています。

また、医薬品となる有用なタンパク質を生産させるために遺伝子操作を行った細胞を大量培養するなど、工業的利用としての細胞培養技術はすでに大きな産業として成り立っています。

ただし、細胞培養は他の化学や物理学の実験とは異なり「生きた素材」を扱うという点を十分に認識して取り掛かる必要があります。細胞を用いる実験においては、目的とする機能や効果などが明確に判断できるような培養条件を策定、管理を実施して、バラツキを可能な限り最小限に抑えることによって、条件と結果との因果関係がより正確に把握することができます。

事前に使用する細胞や培養方法などの項目をしっかりと調べてから培養実験に取り掛かるようにしてください。

なお、細胞培養技術も常に新しい手法が生み出されています。新たな培養方法を採用した場合、以前の培養結果と直接比較ができないデメリットもありますが、より効率の良い実験が可能となることもあります。常に新しい情報を取得して、最適な実験系を選択できるように心がける必要があります。

