



A. 準備

- gentleMACS Dissociator
- gentleMACS C tube (130-093-237)
- プレセパレーションフィルター (130-041-407) などポアサイズ30 μ mのナイロンメッシュ
- バッファー: 0.5% BSA / 2mM EDTA / PBS, pH7.2
 - *MACS BSA Stock Solution (130-091-376) をMACS Rinsing Solution (130-091-222) で1:20に希釈すると簡単に作れます。
 - *EDTAをACD-A や CPD に替えることができます。
 - *BSA のかわりにゼラチン、マウス血清、FBS なども使用できます。
- オプション: ART 1000 REACH ピペットチップ(Molecular BioProducts, Inc.) またはそれと同等のサイズのチップ なら、C Tube のキャップ上部にあるシリコン部分にピペットを挿しこむことができ、危険なサンプルでも閉鎖された状態で中身を回収できます。

B. マウス脾臓からの単細胞懸濁液調製

- 組織分散後にカルチャーを行う場合は無菌的に操作をしてください。
- 脾臓重さの目安: BALB/c メス 6~7週齢の場合...約80~120mg / spleen

脾臓とバッファーをC Tube に入れる。(C Tube 最大で組織4g、総容量10mLまで処理可能)

脾臓数	バッファー量
1~2個	3mL
3~4個	6mL
5~6個	9mL

しっかりキャップを閉めてgentleMACS dissociator にセットする。組織がrotor/statorの上に乗っていることを確認。

電源を入れ、プログラムを選択して start ボタンを押す。

脾臓数	プログラム
1~2個	m_spleen_01.
3~6個	m_spleen_04.

プログラム終了後、C Tube をはずす。

* オプション: 軽く遠心しチューブの底にサンプルを集めることができます。

チューブから分散した組織を取り出す。

* NOTE: ART 1000 REACH ピペットチップまたはそれと同等のものなら、C Tube のキャップ上部にあるシリコン部分にピペットを挿しこむことができ、閉鎖された状態で中身を回収できます。

プレセパレーションフィルターなどのナイロンメッシュに通し、脾臓の膜など組織構造物、細胞凝集塊を取り除く。

プレセパレーションフィルターを5mLバッファーで洗う。

室温で300xg 10 min で遠心し、上清を捨てる。

適切なバッファーに細胞を再懸濁し、次のアプリケーションを行う。