

A. 準備

- gentleMACS Dissociator
- gentleMACS C Tube (130-093-237)
- MACSmix™ Tube Rotator (130-090-753)
- ポアサイズ70 μ mのナイロンメッシュ
- HEPESバッファー: 10mM HEPES-NaOH pH 7.4, 150mM NaCl, 5mM KCl, 1mM MgCl₂, 1.8mM CaCl₂
- コラゲナーゼD 溶液: 100 mg / mL in HEPES (コラゲナーゼD >0.15 U / mg, Roche Diagnostics)
- DNase I 溶液: 20,000 U / mL (AppliChem)
- PEBバッファー: PBS pH 7.2, 0.5% BSA, 2mM EDTA

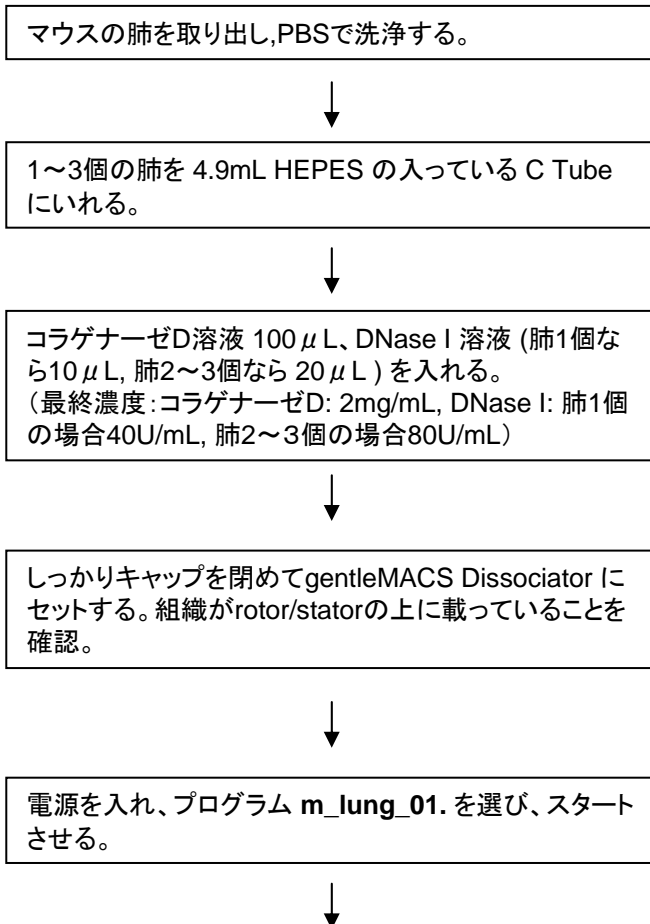
*MACS BSA Stock Solution (130-091-376) をMACS Rinsing Solution (130-091-222) で 1:20 に希釈すると簡単に作れます。

*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 など也可以使用できます。

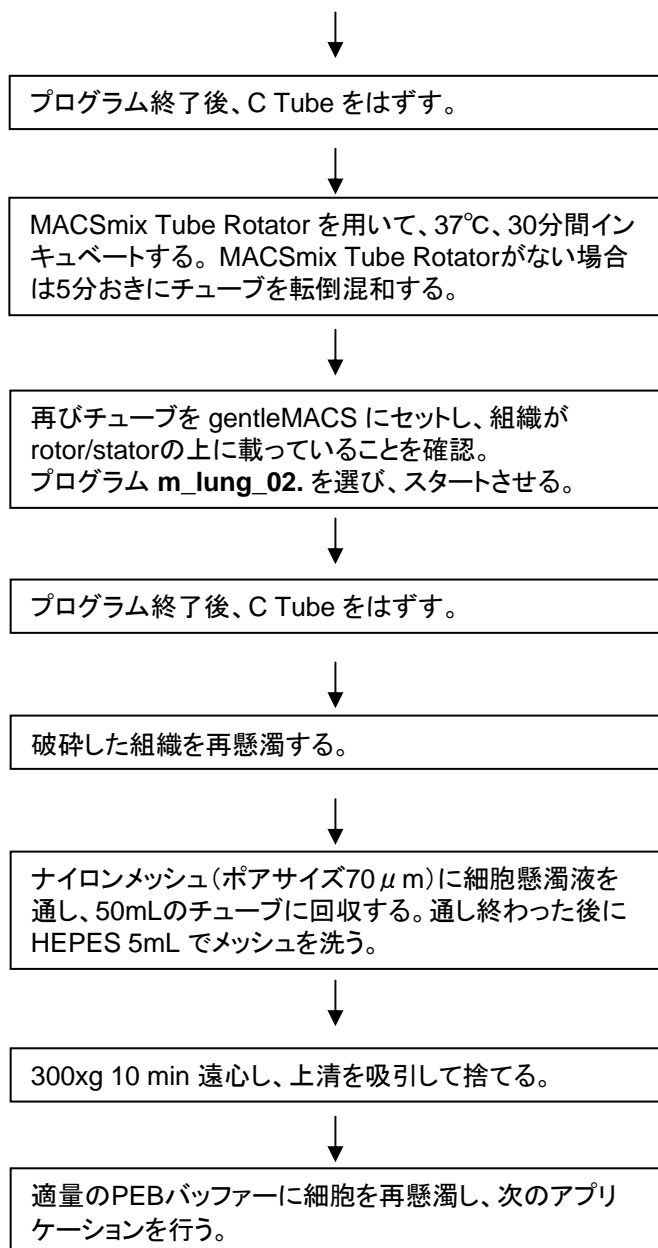
•オプション: ART 1000 REACH ピペットチップ(Molecular BioProducts, Inc.) またはそれと同等のサイズのチップなら、C Tube のキャップ中央にあるシリコン部分にピペットを挿しこむことができ、危険なサンプルでも閉鎖された状態で中身を回収できます。

B. マウス肺からの単細胞懸濁液調製

- このプロトコールはマウスの肺から白血球及び内皮細胞を得るのに適しています。
- 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。
- 肺の重さの目安: BALB/c メス 6~7週齢の場合・・・約110~150mg / 匹



NOTE: 肺から胸腺、心臓、血管、気管、結合組織が取り除かれていることを確認してください。



* MACSmix Tube Rotatorは に C Tube を斜めに取り付け、12rpm で連続的に混和してください。

* オプション: スピンダウンしてチューブの底にサンプルを集める

* NOTE: 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 のキャップ中央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。