

DEF-CS Q&A

Q1 제품의 구성품은 ?

A1 본 제품은 인간 iPS 세포를 배양하기 위한 Basal medium 배지와 3 종의 배지 첨가제 및 플레이트 코팅용액이 포함되어 있습니다. 세포 계대 시약은 포함되어 있지 않기 때문에 TrypLE Select Enzymes (Life Technologies, Cat. No. 12563029)의 사용을 권장합니다.

Q2 Basal medium 에는 항생제가 포함되어 있는지?

A2 네, penicillin 과 streptomycin 이 포함되어 있습니다.

Q3 배지 첨가제의 사용 방법은 ?

A3 배지 첨가제 DEF-CS GF-1, DEF-CS GF-2, DEF-CS GF-3 은 냉동 제품으로 제공하고 있습니다. 사용시에 해동 후 1 주일정도 사용하는 양을 기준으로 분주하여 주십시오 (해동시 vortex 는 하지 마십시오). 분주 후 첨가제는 -15 °C 이하에서 보관 가능합니다. 용해된 배지 첨가제는 4 °C 에서 저장하고 일주일 이내에 다 사용하십시오. 분주 후 다시 해동한 배지 첨가제는 다시 냉동하지 마십시오.

Q4 3 종류의 배지 첨가제의 사용법은 ?

A4 배지 교환하는 날에 DEF-CS GF-1 과 DEF-CS GF-2 를 Basal medium 에 첨가하고 37 °C로 보온한 후 사용합니다. 세포 계대시 DEF-CS GF-1, DEF-CS GF-2, DEF-CS GF-3 를 Basal medium 에 첨가하여 사용합니다. 사용 직전 첨가하고, 남은 배지는 폐기합니다.

Q5 배양 플레이트의 코팅 방법은?

A5 DEF-CS COAT-1 를 D-PBS (+/+)* 로 20 배 희석하여 혼합합니다. 플레이트나 플라스크에 0.1 ml/cm² 로 첨가하여 37 °C에서 20 분간 또는 실온에서 30 분 ~ 3 시간, 코팅합니다. 사용 직전에 코팅용액을 제거하고 즉시 사용합니다.

*미리 실온 또는 37 °C로 따뜻하게 한 D-PBS(+/+)를 사용하여 코팅할 것을 권장합니다.

Q6 DEF-CS 배지 제품 하나(1kit)로 어느 정도의 세포를 배양 할 수 있습니까?

A6 1 kit 의 DEF-CS 500 (Code Y30010)으로 약 600 cm² (세포밀도 : 1.5~3.0×10⁵ cells/cm²)의 세포를 배양 할 수 있습니다. 이것은 T25 플라스크 24 개, T75 플라스크 8 개, T150 플라스크 4 개에 상당합니다.

Q7 배지 교환의 빈도는 ?

A7 매일 배지 교환을 권장하고 있습니다. 세포 밀도가 낮은 경우는 2 일마다 배지 교환도 가능하지만, 세포 계대 전후의 배지 교환은 반드시 해 주시기 바랍니다.

Q8 세포 계대를하는 타이밍은 ?

A8 인간 iPS 세포 계대는 3~4 일마다 실시합니다. 세포 밀도는 $1.5 \sim 3 \times 10^5 \text{ cells/cm}^2$ 입니다. 세포의 추천 계대 일정으로 월요일과 목요일에 세포 계대를 실시해, 월요일은 약간 높은 세포 밀도에서 계대를 추천합니다. 계대 세포 밀도는 $4 \sim 5 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ 로 파종합니다 (배지량은 $0.15 \sim 0.2 \text{ ml/cm}^2$). 배지 교환은 화요일, 수요일, 금요일, 일요일에 실시합니다. 배지 교환시의 배지량은 $0.2 \sim 0.4 \text{ ml/cm}^2$ 를 권장합니다.

Q9 인간 iPS 세포 콜로니 형성하지 않지만, DEF-CS 사용시 그렇지 않습니다. 문제가 있는 것이 아닐까요? 그리고 어떻게 계대를 해야 하나요?

A9 DEF-CS 500 에서 배양된 인간 iPS 세포는 콜로니를 형성하지 않고 단층 상태로 균일하게 배양됩니다. 세포는 TrypLE Select Enzymes (Life Technologies, Cat. No. 12563029)를 사용하여 박리합니다. Single cell 로 만든 후 세포 수를 세어 $4 \sim 5 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ 로 파종합니다.

Q10 인간 iPS 세포는 DEF-CS 매체에서 얼마나, 계대 가능한가?

A10 25 passages 후에도 인간 iPS 세포가 미분화능을 유지하고 정상 핵형임을 확인하였습니다.

Q11 Xeno-Free 배지입니까?

A11 동물 · 인간 유래 성분을 포함하지 않는 (Xeno-Free) chemical defined media 로 Cellartis DEF-CS 500 Xeno-Free Culture Medium (Code Y30040)이 있습니다. 기존의 Cellartis DEF-CS 500 과 마찬가지로 feeder free 조건에서 single cell 계대가 가능하며, 장기간 미분화 유지 배양이 가능합니다.