

PROTINET™1 Protocol

다음과 같이 Cell을 counting하여 Cell Pellet을 만들어 둔다.

Protinet™1 size (Diameter, Thickness)	Seeding Cells Number	Cell Pellet Volume	Multiwell Plate (for Seeding)
Protinet™1-10 : 10 mm, 1 mm	$5 \times 10^5/m\ell$	50 $\mu\ell$	48 well

※ Cell을 counting하여 Cell Pellet을 만들 때 Volume이 적으므로 1.5 ml tube 사용 권장하며, Cell Pellet Volume이 많을 경우 동봉된 Cell Pellet Flood 방지용 Multiwell Plate를 사용하여 seeding 한다.

1. Cell Culture plate에 Protinet™1을 조심스럽게 부어 담고 보존액(D.W)을 최대한 제거한다.
2. Protinet™1이 충분히 잠기도록 1x PBS를 넣고 부드럽게 흔들어 행귀낸 후, 1x PBS를 최대한 제거한다. 같은 방법으로 한 번 더 반복하여 보존액이 완전히 제거 되도록 한다.
3. 세포 배양액을 Protinet™1이 충분히 잠기도록 넣고 한번 더 부드럽게 흔들어 행군다. Cell Culture plate를 여러 번 기울여 가며 세포 배양액을 최대한 제거하도록 한다. 이때 세포 배양액을 최대한 제거해야 seeding할 때 Protinet™1에 cell이 더 많이 들어 갈 수 있다.
4. 세포 배양액을 충분히 제거한 Protinet™1에 미리 준비해둔 Cell Pellet을 풀어 Protinet™1이 머금을 수 있도록 gel위에 살짝 뿌린다. Cell Pellet이 Protinet™1에서 넘칠경우, 넘친 Cell Pellet을 모아 gel위에 4 ~ 5회 반복하여 뿌려준다.
5. 37°C, CO₂ 5% Incubator에서 2 ~ 3시간 동안 cell이 Protinet™1에 부착되도록 한 후, Protinet™1에 닿지 않도록 하여 조심스럽게 세포배양액을 넣고 37°C, CO₂ 5% Incubator에서 세포를 배양한다.
6. 세포 배양 24h 후, Protinet™1에 안정적으로 부착되어진 세포만을 배양하기 위해 새로운 Cell Culture plate에 Protinet™1을 옮긴다. 이때, 반드시 새로운 Cell Culture plate에 세포배양액을 먼저 넣고 Protinet™1을 꺼내어 새로운 Cell Culture plate로 옮기도록 한다.
7. 세포가 중력 방향으로 자라므로 2 ~ 3일에 한번씩 Protinet™1을 뒤집어준다.



[Removing the medium]



[Cell seeding]

주의사항

- ➔ Protinet™1은 4°C 냉장 보관한다.
- ➔ Cell seeding을 제외한 모든 경우에 용액은 Protinet™1 위에 직접 뿌리지 않고 culture dish의 벽면에 흘러 들어가도록 한다.
- ➔ Protinet™1을 2 ~ 3일에 한 번씩 뒤집어 주면 배양속도가 빨라진다.
- ➔ 특정 세포에 따라 반부유세포, 신경세포, spheroid 형태로 자라는 세포등의 경우, 배양 기간 동안 cell dissociation을 위해 enzyme 처리없이 Protocol 1. ~ 7. 의 과정으로 long term culture가 가능하다.

<http://www.danagreenbio.com/Product/Protinet™1> 제품사용 동영상 참고
사용하시기 전에 아래 연락처로 연락 부탁드립니다.



T 070 - 4195 - 0110
E tech-support@danagreenbio.com



T (02) 465 - 6217 F (02) 499 - 3084
E support@cosmogenetech.com

TPnet Protocol

다음과 같이 Cell을 counting하여 Cell Pellet을 만들어 둔다.

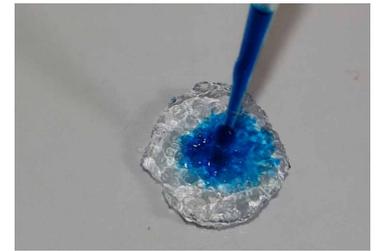
TPnet size (Diameter, Thickness)	Seeding Cells Number	Cell Pellet Volume	Multiwell Plate (for Seeding)
TPnet : 10 mm, 1 mm	$5 \times 10^5/m\ell$	50 $\mu\ell$	48 well

※ Cell을 counting하여 Cell Pellet을 만들 때 Volume이 적으므로 1.5 ml tube 사용 권장하며, Cell Pellet Volume이 많을 경우 동봉된 Cell Pellet Flood 방지용 Multiwell Plate를 사용하여 seeding 한다.

1. Cell Culture plate에 TPnet을 조심스럽게 부어 담고 보존액을 최대한 제거한다. 이때, TPnet의 매끄러운 면이 밑면이 되도록 TPnet을 위치시킨다.
2. TPnet이 충분히 잠기도록 1x PBS를 넣고 부드럽게 흔들어 행귀낸 후, 1x PBS를 최대한 제거한다. 같은 방법으로 한 번 더 반복하여 보존액이 완전히 제거 되도록 한다.
3. 세포 배양액을 TPnet이 충분히 잠기도록 넣고 한번 더 부드럽게 흔들어 행군다. Cell Culture plate를 여러 번 기울여 가며 멸균된 면봉 등을 사용하여 세포 배양액을 최대한 제거하고, 기울인 상태로 10분간 둔 후에 남은 배양액을 최대한 제거한다. 이때 세포 배양액을 최대한 제거해야 seeding할 때 TPnet에 cell이 넘치지 않는다.
4. 세포 배양액을 충분히 제거한 TPnet에 미리 준비해둔 Cell Pellet을 풀어 TPnet이 머금을 수 있도록 gel위에 살짝 뿌린다. Cell Pellet이 TPnet에서 넘칠 경우, 넘친 Cell Pellet을 모아 TPnet위에 4~5회 반복하여 뿌려준다.
5. 37°C, CO₂ 5% Incubator에서 2 ~ 3시간 동안 cell이 TPnet에 부착되도록 한 후, TPnet에 닿지 않도록 하여 조심스럽게 세포배양액을 넣고 37°C, CO₂ 5% Incubator에서 세포를 배양한다.
6. 세포 배양 24h 후, Pnet에 안정적으로 부착되어진 세포만을 배양하기 위해 새로운 Cell Culture plate에 TPnet을 옮긴다. 이때, 반드시 새로운 Cell Culture plate에 세포배양액을 먼저 넣고 TPnet을 꺼내어 새로운 Cell Culture plate로 옮기도록 한다.



[Removing the medium]



[Cell seeding]

주의사항

- ➔ 기본적으로 Protinet™1과 TPnet은 Protocol이 동일하다.
- ➔ TPnet은 4°C 냉장 보관한다.
- ➔ Cell seeding을 제외한 모든 경우에 용액은 TPnet 위에 직접 뿌리지 않고 culture dish의 벽면에 흘러 들어가도록 한다.
- ➔ TPnet은 윗면과 아랫면을 잘 구분하여 배치해야하고, 매끄러운 면이 아랫면으로 하여 pore가 형성되어있는 윗면에 seeding 하여야한다.

<http://www.danagreenbio.com/Product/Protinet™1> 제품사용 동영상 참고
사용하시기 전에 아래 연락처로 연락 부탁드립니다.

 DaNAgreen

T 070 - 4195 - 0110
E tech-support@danagreenbio.com

 COSMO GENETECH

T (02) 465 - 6217 F (02) 499 - 3084
E support@cosmogentech.com