

## Laminin のコーティング方法

注：この説明書は、英文添付文書の簡易訳です。英文マニュアル  
(<http://www.veritastk.co.jp/attached/5198/instructions-bl001-coating.pdf>) もご確認下さい。

### 内容:

コード No.	品名
BLA-LN○○○-○○	Human recombinant laminin ○○○
BLA-KT202	LAMscreen

### 操作方法:

#### コーティング手順

1. ラミニンを 2-8°C でゆっくりと溶かします。この「ラミニンストック溶液」(100 ug/mL) は 2-8°C、無菌状態で 3 ヶ月保存可能です (-20°C では 2 年保存可能です)。ただし凍結融解の繰り返しは避けてください。
2. ラミニンストック溶液を 1 x DPBS (Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>) で 5-10 ug/mL に希釈し「ラミニン希釈溶液」とします。ラミニン希釈溶液を細胞培養用容器に 0.5-2 ug/cm<sup>2</sup> で添加します (Table. 1, Table. 2 参照)。
  - Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>を含む DPBS をご使用下さい。二価イオンはタンパク構造と機能に重要です。
  - プラスチック製容器のうち Falcon, Sarstedt, Corning での結果が比較的良好なことが分かっています。
  - ガラス製容器もコーティング可能です。
3. ラミニン希釈溶液が容器表面全体に均一に広がったことを確認します。
4. 2-8°C、一晚 (または 37°C、2 時間) インキュベートして容器をコーティングします。
  - 2-8°C、一晚のインキュベートを強くお勧めします (信頼性が高い)。
  - コーティング後の容器とラミニン希釈溶液は 2-8°C、無菌状態で 4 週間保存可能です。蒸発とコンタミネーション防止のため、パラフィルムなどでシールして下さい。また、液が少なくなったら 1 x DPBS (Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>) を追加して下さい。ラミニンは乾燥すると不活化してしまいます。
5. 細胞培養に使用する際には、容器からラミニン希釈溶液をピペットで除去し、任意の培地を加えます。
  - ラミニンコートした容器を洗浄する必要はありません。

**Table.1 初回および馴化時に推奨されるラミニンコーティング密度と使用量**

培養容器	ラミニンコーティング密度 (ug/cm <sup>2</sup> )	ラミニン希釈溶液の濃度 (ug/mL)	ラミニン希釈溶液の使用量 =①+②	ラミニンストック溶液 (100 ug/mL ※) の使用量 =①	1 x DPBS (Ca <sup>2+</sup> /Mg <sup>2+</sup> ) の使用量 =②
6 ウェルプレート	0.9	10	1000 uL/ウェル	100 uL/ウェル	900 uL/ウェル
12 ウェルプレート	1.02	10	500 uL/ウェル	50 uL/ウェル	450 uL/ウェル
24 ウェルプレート	1.09	10	300 uL/ウェル	30 uL/ウェル	270 uL/ウェル
48 ウェルプレート	0.98	10	150 uL/ウェル	15 uL/ウェル	135 uL/ウェル
96 ウェルプレート	0.93	10	70 uL/ウェル	7 uL/ウェル	63 uL/ウェル
T-25cm <sup>2</sup> フラスコ	1.09	10	3000 uL/フラスコ	300 uL/フラスコ	2700 uL/フラスコ
T-75cm <sup>2</sup> フラスコ	1.02	10	8000 uL/フラスコ	800 uL/フラスコ	7200 uL/フラスコ

※ Laminin-332 のみ、ストック溶液の濃度が 60 ug/mL ですので希釈溶液が同濃度になるよう使用量を調整ください。

**Table.2 ルーチン使用時に推奨されるラミニンコーティング密度と使用量 (最適条件は細胞株によって異なります)**

培養容器	ラミニンコーティング密度 (ug/cm <sup>2</sup> )	ラミニン希釈溶液の濃度 (ug/mL)	ラミニン希釈溶液の必要量 =①+②	ラミニンストック溶液 (100 ug/mL ※) の使用量 =①	1 x DPBS (Ca <sup>2+</sup> /Mg <sup>2+</sup> ) の使用量 =②
6 ウェルプレート	0.45	5	1000 uL/ウェル	50 uL/ウェル	950 uL/ウェル
12 ウェルプレート	0.51	5	500 uL/ウェル	25 uL/ウェル	475 uL/ウェル
24 ウェルプレート	0.55	5	300 uL/ウェル	15 uL/ウェル	285 uL/ウェル
48 ウェルプレート	0.49	5	150 uL/ウェル	7.5 uL/ウェル	142.5 uL/ウェル
96 ウェルプレート	0.46	5	70 uL/ウェル	3.5 uL/ウェル	66.5 uL/ウェル
T-25cm <sup>2</sup> フラスコ	0.55	5	3000 uL/フラスコ	150 uL/フラスコ	2850 uL/フラスコ
T-75cm <sup>2</sup> フラスコ	0.51	5	8000 uL/フラスコ	400 uL/フラスコ	7600 uL/フラスコ

※ Laminin-332 のみ、ストック溶液の濃度が 60 ug/mL ですので希釈溶液が同濃度になるよう使用量を調整ください。

### 注意事項

- ◆ 本プロトコールはあくまで一般的なものですので、場合により最適化が必要となります。
- ◆ ラミニンストック溶液 (100 ug/mL) の凍結融解繰り返しは避けてください。解凍した後に一回分ずつ分注して、-20℃保存すると良いでしょう (2年保存可能)。
- ◆ コーティングした容器とラミニン希釈溶液は2-8℃で4週間保存可能です。
- ◆ ラミニンのマトリックスは乾くと不活化してしまうため、ウェルが常に乾かないようご注意ください。
- ◆ **Laminin-332は他のアイソフォームと比べて接着性が高く不安定な性質を持つため、取扱いには十分ご注意ください。**具体的には、ピペッティングや分注を出来るだけ避け、タンパク低接着チューブを使用し、作業中はon iceに保つことをお勧めいたします。

株式会社ベリタス 〒105-0013 東京都港区浜松町1丁目10-14 住友東新橋ビル3号館5階

TEL 03-5776-0078 FAX 03-5776-0076

技術的なお問い合わせは：TEL 03-5776-0040 E-mail [techservice@veritastk.co.jp](mailto:techservice@veritastk.co.jp)