

取扱説明書番号: BMMN-832-03-22016-01

Smoothcell

正常ヒト血管平滑筋細胞培養関連製品

製品情報

お願い: 総合取扱説明書と合わせて、使用前に必ずお読みください。

1. 細胞製品

クラボウ		LIFELINE		仕 様		
製品番号	製品名	製品番号	製品名			
KS-4009	凍結 HASMC	FC-0015	HAoSMC	正常ヒト大動脈血管 平滑筋細胞	凍結 バイアル	細胞数: 50 万個以上 容 量 : 1ml
KS-4109	凍結 HPASMC	FC-0056	HPASMC	正常ヒト肺動脈血管 平滑筋細胞		
KS-4209	凍結 HCASMC	FC-0031	HCASMC	正常ヒト冠状動脈血管 平滑筋細胞		
KS-4309	凍結 HBSMC	FC-0043	HBSMC	正常ヒト膀胱 平滑筋細胞		
KS-4409	凍結 HLSMC	FC-0046	HLSMC	正常ヒト肺 平滑筋細胞		
KS-4509	凍結 HUtSMC	FC-0075	HUtSMC	正常ヒト子宮 平滑筋細胞		

- 凍結細胞の製品名と製品番号は、製造元と異なります。
- 凍結細胞は、ロットにより細胞数が異なりますので、ロットの性能データをご確認ください。
- 細胞の形状は、弊社カタログまたはウェブサイトをご参照下さい。
- 性能と品質管理基準は、本資料の「6. 細胞の性能と品質管理基準」をご覧ください。

2. クラボウ製特注培地

製品番号	製品名	仕 様
KS-2170S	HuMedia-SG2 特注 GA 別添	正常ヒト血管平滑筋細胞増殖用低血清液体培地 (KS-2370S と KS-6150 のセット) グルコース、アルギニン、フェノールレッド [®] 添加剤 500 ml 用 1 本ずつ 3 種類 (表 2)
KS-2370S	HuMedia-SB2 特注 GA 別添	血管平滑筋細胞基礎培地 500 ml グルコース、アルギニン、フェノールレッド [®] 添加剤 1 本ずつ 3 種類 (表 2)
KS-6150	HuMedia-SG 増殖添加剤セット	正常ヒト血管平滑筋細胞用増殖用添加剤 500ml 用 1 本ずつ 5 種類 (表 1)

- KS-2370S HuMedia-SB2 特注 GA 別添は従来の基礎培地 (HuMedia-SB2) から、グルコース・アルギニン・フェノールレ

ッドをフリーにした培地です。グルコース・アルギニン・フェノールレッドの濃縮溶液を 1 種類ずつ別々の容器に分注し添付しておりますので、必要に応じて添加量を調節することが可能です。表 2 の容量を添加すると従来の HuMedia-SB2 の組成になります。

2. 保存安定性は、本資料の「5.培地・添加剤の保存安定性と品質管理」をご覧ください。

表1 増殖添加剤：HuMedia-SG 増殖添加剤セットの構成

	溶液濃度	分注量	最終濃度
①ウシ胎児血清(FBS)	—	25 mL	5% V/V
②ヒト組換え型上皮成長因子(hEGF)	0.5 μ g/mL	0.5 mL	0.5 ng/mL
③ヒト組換え型塩基性繊維芽細胞増殖因子(hFGF-B)	2 μ g/mL	0.5 mL	2 ng/mL
④インスリン	5 mg/mL	0.5 mL	5 μ g/mL
⑤抗菌剤	ゲンタマイシン	0.5 mL	50 μ g/mL
	アンフォテリシン B		50 ng/mL

表2 クラボウ製特注培地用添加剤組成

成 分	溶液濃度(M)	添加量(mL)	最終濃度(M)
①グルコース	3.000	0.770	4.62×10^{-3}
②アルギニン	0.360	1.000	7.20×10^{-4}
③フェノールレッド*	0.0165	0.618	2.04×10^{-5}

3. LIFELINE 製培地

クラボウ		LIFELINE		仕 様
製品番号	製品名	製品番号	製品名	
LSC-LL0014	VascuLife SMC Comp kit	LL-0014	VascuLife SMC Medium Complete kit	正常ヒト血管平滑筋細胞増殖用低血清液体培地 下記、LEB-LM0002 と LSK-LS1040 のセット
LEB-LM0002	VascuLife BM	LM-0002	VascuLife Basal Medium	正常ヒト血管細胞基礎培地 容量：475mL、pH7.8±0.3
LSK-LS1040	VascuLife SMC LifeFactors	LS-1040	VascuLife SMC LifeFactors kit	正常ヒト血管平滑筋細胞増殖用添加剤セット 500mL用 1 本ずつ 6 種類（表 5）

1. VascuLife BM は、HuMedia-SB2 とは異なる培地です。LIFELINE 製基礎培地の容量は、各細胞によって異なります。
2. VascuLife BM は、L-グルタミン、フェノールレッド(表3)が含まれておりません。VascuLife BM を単独でご購入の方は、L-グルタミンを別途ご購入し添加する必要があります。増殖培地 VascuLife SMC Comp kit をご購入の方は、L-グルタミンの追加購入は不要です。
3. 基礎培地の組成は非公開ですが、一部の成分濃度については弊社までお問い合わせください。
4. 各増殖添加剤は十分量が入っています。培地に添加する際には必要添加量を量って基礎培地に添加してください。
5. 保存安定性は、本資料の「5.培地・添加剤の保存安定性と品質管理」をご覧ください。

表3 LIFELINE 製培地用製品

クラボウ		LIFELINE		仕 様
製品番号	製品名	製品番号	製品名	
LER-LS1013	L-Glutamine LifeFactor E	LS-1013	L-Glutamine LifeFactor	L-グルタミン
LQR-LS1009	Phenol Red LifeFactor	LS-1009	Phenol Red LifeFactor	フェノールレッド*

表4 増殖添加剤:VascuLife SMC LifeFactors の構成

	溶液濃度	添加量	最終濃度
①FBS	—	25mℓ	5% V/V
②hEGF	5 μ g/mℓ	0.5mℓ	5ng/mℓ
③hFGF-b	5 μ g/mℓ	0.5mℓ	5ng/mℓ
④インスリン	5mg/mℓ	0.5mℓ	5 μ g/mℓ
⑤アスコルビン酸	50mg/mℓ	0.5mℓ	50 μ g/mℓ
⑥L-グルタミン	200 mM	25mℓ	10mM
⑦GA (ゲンタマイシン、アンフォテリシン)	G: 30mg/mℓ	0.5mℓ	30 μ g/mℓ
	A: 15 μ g/mℓ		15ng/mℓ

表5 血管平滑筋細胞用添加剤の組成比較

製品名	VascuLife SMC LifeFactors	Humedia-SG 増殖添加剤セット
製品番号	LSC-LL0014	KS-6150
hEGF	5ng/mℓ	0.5ng/mℓ
hFGF-b	5ng/mℓ	2ng/mℓ
インスリン	5 μ g/mℓ	5 μ g/mℓ
アスコルビン酸	50 μ g/mℓ	—
ヘパリン	—	—
L-グルタミン	10mM	— (※)
抗菌剤	ゲンタマイシン 30 μ g/mℓ	ゲンタマイシン 50 μ g/mℓ
	アンフォテリシン 15ng/mℓ	アンフォテリシン B 50ng/mℓ
FBS	5% V/V	5% V/V

※基礎培地に含有

(表示は培地中の最終濃度です)

4. 細胞培養

※総合取扱説明書「6. 培養操作」を必ずご参照ください。

クラボウ製培地(HuMedia-SG2 特注 GA 別添)を用いた培養系

- 細胞植え込み : バイアル中の細胞浮遊液を増殖培地で 5ml に希釈し、2,500 個/cm² (生細胞数/培養器の底面積) の密度となるように、培養容器へ播種します。
- 細胞継代 : T-25 フラスコ培養の場合 培地を吸引除去後、2ml の HEPES 緩衝液で細胞層を緩やかに約 30 秒間洗浄します。HEPES 緩衝液を除去後、2ml のトリプシン/EDTA 溶液で細胞層を約 30 秒間覆います。その後、トリプシン/EDTA 溶液を 0.5ml 残して吸引除去します。約 2-3 分間後、フラスコを軽くたたくと、培養面からほぼすべての細胞が剥がれます。フラスコを傾けて、少し残したトリプシン/EDTA 溶液で細胞層を流すようにするとうまく剥がれます。
トリプシンの活性は室温に左右されますので処理時間、温度にご注意ください。

LIFELINE 製培地 (VascuLife SMC Comp Kit) を用いた培養系

- 細胞植え込み : バイアル中の細胞浮遊液は希釈せずに、2,500 個/cm² (生細胞数/培養器の底面積) の密度となるように、培養容器へ播種します。
- 細胞継代 : 上記“クラボウ製培地 (HuMedia-SG2 特注 GA 別添) を用いた培養系”に準じて行ってください。

< 参考 >

平滑筋細胞は各細胞の推奨密度で凍結細胞を植え込むと 7~8 日で 80% コンフルエントになります。大部分の細胞は、双極性の形態をもち、互いにコロニー状に集まります。最高の細胞密度を得るためには、コンフルエントに近づくにつれて培地を毎日交換してください。継代培養を成功させるために、細胞は 80% コンフルエント以上になる前に継代してください。細胞の増殖を停止したままにすると解凍後の培養可能継代次数が減少します。到達可能な継代次数 (パッセージ数) は開始細胞密度、個々の研究者の用いる方法により変化します。

5. 培地・添加剤の保存安定性と品質管理

表6 培地・添加剤の保存安定性

	0℃未満	4℃冷蔵	37℃以上
HuMedia-SB2 特注 GA 別添	凍結不可	ラベルに記載の期日まで	不可
HuMedia-SG 増殖添加剤セット	-20℃:ラベルに記載の期日まで※	解凍後一週間	不可
HuMedia-SG2 特注 GA 別添 (添加剤混合後)	凍結不可	増殖添加剤または、分化添加剤を 添加後 2 週間	不可
グルコース、アルギニン、 フェノールレッド添加剤	凍結不可	8 週間	不可
VascuLife BM	凍結不可	ラベルに記載の期日まで	不可
VascuLife SMC LifeFactors	-20℃:ラベルに記載の期日まで※	不可	不可
VascuLife SMC Comp kit (添加剤混合後)	凍結不可	2 週間	不可

※ 再凍結は1回まで可能です。

品質管理

基礎培地と増殖添加剤のロット毎の組み合わせにおいて、細胞増殖性試験と無菌試験を行い、基準に適したものを出荷しています。細胞増殖性試験は、弊社“正常ヒト大動脈血管平滑筋細胞(製品番号:KS-4009)”を細胞密度 2,500 個/cm² の培養条件で、細胞の付着性、伸展性、有糸分裂、細胞形態の確認を行います。

6. 細胞の性能と品質管理基準

表7 正常ヒト血管平滑筋細胞の性能

解凍・継代培養時の推奨播種密度	2,500 個/cm ²
1 ハイアルからの播種総面積	約 200cm ² (T-25 フラスコ換算で約 8 個)
保証継代回数	4 次培養まで (HASMC、HPASMC、HLSMC、HUtSMC)
	5 次培養まで (HCASMC)

表8 品質管理基準

	凍結細胞の培養				継代培養			
	培養 回数	推奨播種密度 (個/cm ²)	培養日数 (日)	QC 基準値 (個/cm ²)	培養 回数	推奨播種密度 (個/cm ²)	培養日数 (日)	QC 基準値 (個/cm ²)
凍結 HASMC 凍結 HPASMC 凍結 HBSMC 凍結 HLSMC 凍結 HUtSMC	3	2,500	7-8	24,000	4	2,500	7-9	24,000
凍結 HCASMC	4	2,500	7-8	24,000	5	2,500	7-9	24,000

- 細胞の品質管理は「HuMedia-SG2 特注 GA 別添」培地にて行っています。
- 本製品は凍結細胞で解凍直後の培養細胞 (HASMC、HPASMC、HBSMC、HLSMC および HUtSMC では 3 次培養細胞、HCASMC では 4 次培養細胞) および、凍結細胞解凍直後の培養細胞を 1 回継代後の細胞 (HASMC、HPASMC、HBSMC、HLSMC および HUtSMC では 4 次培養細胞、HCASMC では 5 次培養細胞) において品質を保証しています。品質管理基準(表8)を超えての培養回数(HASMC、HPASMC、HBSMC、HLSMC および HUtSMC では 4 次培養を超えて、HCASMC では 5 次培養を超えて)の継代培養では、細胞のコロニー形成率、増殖速度、生物学的反応(酵素反応も含む)等の漸次低下にともない、実験結果の再現性に影響が出る可能性があります。

7. 毒劇物・危険物について

該当物はありません

8. 免責事項

- (1) 使用期限を経過した製品の使用、弊社指定外の培地等を用いた製品の使用、日本国外での製品の使用、製品を改変・改造しての使用、その他本取扱説明書または各製品情報の記載に従わない製品を使用された場合、および本取扱説明書または各製品情報に記載の取扱い方法以外の方法で製品を取り扱われた場合に起因するいかなる損害につきましても、弊社は一切の責任を負いません。
- (2) 洪水、豪雪、豪雨、地すべり、地震、津波、突風、竜巻等の天災地変、火災、停電、労働紛争、原材料の入手手段の停止その他の不可抗力によって生じた製品に関連するいかなる損害につきましても、弊社は一切の責任を負いません。
- (3) 製品に関連して生じた逸失利益を含む結果的損害、派生的損害、間接損害、特別損害および第三者からの請求に基づくいかなる損害につきましても、弊社は一切の責任を負いません。
- (4) 購入された製品に関して弊社が責任を負う場合においても、弊社の責任はその製品の販売金額を超えないものとします。
- (5) 購入された製品に関して、弊社への返品はお受けできません。

製造・輸入・販売元



倉敷紡績株式会社 環境メカトロニクス事業部 バイオメディカル部

・大阪

〒572-0823 大阪府寝屋川市下木田町 14-30 クラボウ先端技術センター2F

TEL.072-820-3079 FAX.072-820-3095

・東京

〒105-0004 東京都港区新橋 6 丁目 19-15 東京美術倶楽部ビルディング 6F

TEL.03-6371-1390 FAX.03-6371-1396

URL; <https://www.kurabo.co.jp/bio/>

‘22.12 ©