

取扱説明書番号: BMMN-832-03-22010-03

Human Mesenchymal Stem Cell

ヒト間葉系幹細胞培養関連製品

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			
KW-4009	凍結 HMSC (NB)	FC-0020	HMSC-WJ	ヒト間葉系幹細胞 (さい帯由来)	凍結 バイアル	細胞数: 50 万個以上 容 量 : およそ 1ml
KW-4109	凍結 HMSC (AD)	FC-0034	HMSC-Ad	ヒト間葉系幹細胞 (成人脂肪由来)		細胞数: 100 万個以上 容 量 : およそ 1ml
KW-4209	凍結 HMSC (PA)	FC-0062	HMSC-Pre-Adipocyte	ヒト間葉系脂肪前駆細胞 (白色脂肪組織由来)		
KW-4309	凍結 HMSC (BM)	FC-0057	HMSC-BM	ヒト間葉系幹細胞 (骨髄由来)		

1. 凍結細胞の製品名と製品番号は、製造元と異なります。
2. 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。
3. 細胞の形状は、弊社カタログ又はウェブサイトをご参照ください。
4. 性能と品質管理基準は、本資料の「5. 細胞の性能と品質管理基準」をご覧ください。

2. 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		
LWC-LL0034	StemLife MSC Comp kit	LL-0034	StemLife MSC Medium Complete Kit	ヒト間葉系幹細胞 (KW-4009, KW-4109) 用増殖培地(液体) 下記、LWB-LM0011 と LWK-LS1060 のセット	
LWB-LM0011	StemLife BM	LM-0011	StemLife Basal Medium	ヒト間葉系幹細胞基礎培地 容量: 485ml、pH7.8±0.3	
LWK-LS1060	StemLife MSC LifeFactors	LS-1060	StemLife MSC LifeFactors kit	ヒト間葉系幹細胞 (KW-4009, KW-4109) 増殖用添加剤セット 500ml用 1本ずつ 3種類 (表 2)	
LFC-LL0011	FibroLife S2 Comp kit	LL-0011	FibroLife S2 Medium Complete Kit	ヒト間葉系脂肪前駆細胞 (KW-4209 またはヒト皮膚繊維芽細胞) 用増殖培地(液体) 下記、LFB-LM0001 と LFK-LS1038	
LFB-LM0001	FibroLife BM	LM-0001	FibroLife Basal Medium	ヒト間葉系脂肪前駆細胞 (またはヒト皮膚繊維芽細胞) 基礎培地 容量: 480ml、pH7.4±0.2	
LFK-LS1038	FibroLife S2 LifeFactors	LS-1038	FibroLife S2 LifeFactors kit	ヒト間葉系脂肪前駆細胞 (KW-4209 またはヒト皮膚繊維芽細胞) 増殖用添加剤セット 500ml用 1本ずつ 7種類 (表 3)	

クラボウ		LIFELINE		仕 様
製品番号	製品名	製品番号	製品名	
LWC-LL0062	StemLife MSC-BM Comp kit	LL-0062	StemLife MSC-BM Medium Complete Kit	ヒト間葉系幹細胞(KW-4309)用増殖培地(液体) 下記、LWB-LM0011 と LWK-LS1090 のセット
LWB-LM0011	StemLife BM	LM-0011	StemLife Basal Medium	
LWK-LS1090	StemLife MSC-BM LifeFactors	LS-1090	StemLife MSC-BM LifeFactors kit	ヒト間葉系幹細胞(KW-4309)増殖用添加剤セット 容量: 485mL、pH7.8±0.3 500mL用 1本ずつ5種類 (表4)

- LIFELINE 製の基礎培地の容量は、各細胞によって異なります。
- StemLife BM、FibroLife BM は、グルタミン、フェノールレッド(表1)が含まれておりません。
StemLife BM を単独でご購入の方は、L-アラニル-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 StemLife MSC Comp kit または StemLife MSC-BM Comp kit をご購入の方は、L-アラニル-L-グルタミンの追加購入は不要です。
- FibroLife 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 FibroLife S2 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。
- 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。
- 各増殖添加剤は十分量が入っています。必要量を培地に添加してください。
- 保存安定性は、本資料の「4. 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 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	
LHR-LS1053	L-Alanyl-L-Glutamine LifeFactor	LS-1053	L-Alanyl-L-Glutamine LifeFactor	L-アラニル-L-グルタミン
LFR-LS1006	L-Glutamine LifeFactor F	LS-1006	L-Glutamine LifeFactor-18.75mL	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2 増殖添加剤: StemLife MSC LifeFactors の構成

	溶液濃度	添加量	最終濃度
①L-アラニル-L-グルタミン	200mM	6mL	2.4 mM
②MSC LifeFactor (FBS および増殖因子を含む)	-	10mL	2% V/V
③GA(ゲンタマイシン、アンフォテリシン)	G: 30mg/mL	0.5mL	30 μg/mL
	A: 15 μg/mL		15ng/mL

表3 増殖添加剤: FibroLife S2 LifeFactors の構成

	溶液濃度	添加量	最終濃度
①L-グルタミン	200mM	18.75mL	7.5 mM
②h FGF-b	5 μg/mL	0.5mL	5ng/mL
③インスリン	5 mg/mL	0.5mL	5 μg/mL
④アスコルビン酸	50mg/mL	0.5mL	50 μg/mL
⑤ハイドロコチゾン(溶媒: 水溶性)	1mg/mL	0.5mL	1 μg/mL
⑥FBS	-	10mL	2% V/V
⑦GA(ゲンタマイシン、アンフォテリシン)	G: 30mg/mL	0.5mL	30 μg/mL
	A: 15 μg/mL		15ng/mL

表 4 増殖添加剤: StemLife MSC-BM LifeFactors の構成

	溶液濃度	添加量	最終濃度
① rh IGF-1	15 μ g/ml	0.5ml	15ng/ml
② FBS	-	35ml	7% V/V
③ L-アラニール-L-グルタミン	200mM	6ml	2.4 mM
④ rh FGF-b	125 μ g/ml	0.5ml	125pg/ml
⑤ GA(ケンタマイシン、アソフォテリシン)	G: 30mg/ml	0.5ml	30 μ g/ml
	A: 15 μ g/ml		15ng/ml

3. 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。

推奨方法 LIFELINE 製培地 (StemLife MSC Comp Kit、StemLife MSC-BM Comp kit、FibroLife S2 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、5,000 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。
- 培地交換 : ヒト間葉系幹細胞、ヒト間葉系脂肪前駆細胞は 5,000 個/cm² で凍結細胞を植え込むと 4-6 日で 70-80 %コンフルエントになります。3 次培養または、4 次培養では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。到達可能な継代回数(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。
- 細胞継代 : 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、T-25 フラスコ培養の場合 2mlのトリプシン/EDTA 溶液で細胞層を覆い直ちにトリプシン/EDTA 溶液を 0.5ml残して吸引除去します。**約 1-3 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。
本細胞は、他のヒト細胞種と異なり、**遠心分離は、他の細胞よりも強い 250xg で 5 分間実施してください。**(注: 250xg は、回転半径 16cm のスイングロータの場合 1300rpm に相当します。
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。一度、細胞が完全にコンフルエントになると有糸分裂がなくなります。また、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回数が減少します。

4. 培地・添加剤の保存安定性と品質管理

表 5 培地・添加剤添加剤の保存安定性

	0°C未満	4°C冷蔵	37°C以上
StemLife BM	凍結不可	最低 2 ヶ月間 ラベルに記載の期日まで	不可
FibroLife BM			
StemLife MSC LifeFactors	-20°C:最低 2 ヶ月間 ラベルに記載の期日まで※	解凍後 1 週間	不可
FibroLife S2 LifeFactors			
StemLife MSC-BM LifeFactors			
StemLife MSC Comp kit(添加剤混合後)	凍結不可	2 週間	不可
FibroLife S2 Comp kit(添加剤混合後)			
StemLife MSC-BM Comp kit(添加剤混合後)			

※ 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。細胞増殖性試験では、弊社“ヒト間葉系幹細胞（製品番号:KW-4009、KW-4109、KW-4309）”“ヒト間葉系脂肪前駆細胞（製品番号:KW-4209）”を細胞密度 5,000 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。

5. 細胞の性能と品質管理基準

表 5 ヒト間葉系幹細胞とヒト間葉系脂肪前駆細胞の性能

解凍・継代培養時の推奨播種密度	5,000 個/cm ²
1 バ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)
保証継代次数	4 次培養まで

表 6 品質管理基準

	凍結細胞の培養				継代培養			
	培養 次数	推奨播種密度 (個/cm ²)	培養日数 (日)	QC 基準値 (個/cm ²)	培養 次数	推奨播種密度 (個/cm ²)	培養日数 (日)	QC 基準値 (個/cm ²)
凍結 HMSC(NB)	3	5,000	4-6	20,000	4	5,000	5-7	20,000
凍結 HMSC(AD)	3	5,000	4-6	20,000	4	5,000	5-7	20,000
凍結 HMSC(PA)	3	5,000	4-6	20,000	4	5,000	5-7	20,000
凍結 HMSC(BM)	3	5,000	5-6	20,000	4	5,000	8-9	20,000

- 細胞の品質管理は「StemLife MSC Comp kit」、「StemLife MSC-BM Comp kit」または、「FibroLife S2 Comp kit」にて行っています。
- 凍結 HMSC(NB)、凍結 HMSC(AD)、凍結 HMSC(PA)、凍結 HMSC(BM)は 2 次凍結細胞で、3 次培養細胞(解凍直後の培養細胞)及び、4 次培養細胞(3 次培養細胞を 1 回継代した後の培養細胞)において品質を保証しています。品質管理基準(表 6)を超える継代培養では、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。

6. 毒劇物・危険物

該当物はありません。

7. 免責事項

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。

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 クラボウ先進技術センター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/>

‘24.02 (P)