

取扱説明書番号:BMMN-832-03-22001-10

# 正常ヒト細胞培養関連製品

ライフライン製細胞・培地、クラボウ製培地用

# 総合取扱説明書

## お願い

使用前に各細胞の"製品情報"と合わせて必ずお読みください。



## 研究専用試薬

本製品は、研究用に限定して販売しています。 医薬品の製造、品質管理、各種診断、治療及び研究など、その使用目的にかかわらず、人体には使用しないでください。

CELL TECHNOLOGY



### はじめに

このたびは、"正常ヒト細胞培養関連製品"をお買い上げいただきありがとうございます。本製品の細胞は Lifeline Cell Technology 社(以下、LIFELINE)からの輸入品です。培地は、クラボウ独自開発製品と LIFELINE 開発製品から選択してご使用いただけます。細胞および培地は厳しい品質管理を行って日本の研究者の皆様にお届けしています。

Lifeline Cell Technology 社

## 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・試薬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事項に従わないで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、ご使用者様の故意または過失により故障が生じ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、疫病、伝染病、テロ、 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、それらの予見または予見可能性の有無にかかわらず、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) 前記(1)から(3)に定める事項につきましては、弊社に故意または重過失がある場合は、適用されません。 また、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。

## 警告事項



(1) ヒト由来の細胞(生体材料)の取り扱いにはバイオハザードの危険性があります。バイオセーフティレベル2 (BSL-2)でのご使用をお願いします。HIV、B 型および C 型肝炎ウイルスについては、既知の方法で陰性であることを確認していますが、その他のウイルス検査は行っていません。安全のために保護眼鏡、白衣、手袋等を着用し、未知ウイルス等の感染防止に努めてください。加えて、クラス II バイオハザード安全キャビネット内での操作をお願いします。また、ピペットを用いて試薬、培地などを口で吸引などしないでください。

# 研究専用試薬



- (2) 凍結細胞を扱う際には必ず保護眼鏡もしくはフェイスシールドを着用してください。また凍結バイアルの破裂事故を防ぐため、液体窒素の「気相中」での保存を推奨します。
- (3) もし、液相で保管された場合、液体窒素が内部に侵入している可能性があります。温度が急に上がると バイアル内に残っている液体窒素が気化することにより内圧が上がり、バイアルが破裂する恐れがあり ます。液体窒素や容器の破片が目に入ると失明の危険性があります。解凍操作時は、液体窒素保存容 器から取り出したらすぐにドライアイスまたは-80℃のフリーザーに入れて 1-2 時間放置し、内部の液体 窒素を完全に蒸発させてから解凍操作を行ってください。
- (4) 凍結細胞製品および一部試薬の溶液中には皮膚吸収性有害物質であるジメチルスルホキシド(DMSO) が含まれています。皮膚が露出しないように、保護眼鏡、白衣、手袋(不浸透性のもの)を着用してください。
- (5) 製品、使用した器具などはオートクレーブ滅菌後、所属施設の廃棄物質取扱い基準に従って廃棄してください。



## 目 次

	免責爭	垻	2
	警告事	項	2
1.	正常	: ビレト凍結細胞	6
	1.1.	製品内容	6
	1.2.	製品の受け入れ	6
	1.3.	保存と安定性	6
	1.4.	品質管理	6
2.	クラ	ボウ製培地	7
	2.1.	製品内容	7
	2.2.	製品の受け入れ	7
	2.3.	保存と安定性	7
	2.4.	品質管理	8
	2.5.	増殖用培地の調製方法	8
3.	クラ	ボウ製特注培地	9
	3.1.	製品内容	9
	3.2.	製品の受け入れ	9
	3.3.	保存と安定性	9
	3.4.	品質管理	9
	3.5.	添加剤の添加方法	9
4.	LIFE	:LINE 製培地	10
	4.1.	製品内容	10
	4.2.	製品の受け入れ	
	4.3.	保存と安定性	11
	4.4.	品質管理	12
	4.5.	増殖用培地の調製方法	12
5.	継代	試薬	13
	5.1.	製品内容	13
	5.2.	製品の受け入れ	13
	5.3.	保存と安定性	13
	5.4.	品質管理	14
	5.5.	使用方法	14
6.	培養	操作	15
	6.1.	クラボウ製培地を用いた培養系	15

# 研究専用試薬

# **MKURABO**

	6.1.1	. 凍結細胞の解凍と植え込み	15
	6.1.2	2. 継代培養	17
	6.1.3	8.	19
	6.2.	LIFELINE 製培地を用いた培養系	20
	6.2.1	. 凍結細胞の解凍と植え込み	20
	6.2.2	2. 継代培養	21
	6.2.3	3. 培地交換	21
	6.2.4	. 分化培地の培養	21
	6.3.	参考	22
7.	性能	と品質管理基準	22
	7.1.	性能	22
	7.2.	品質管理基準	22
8.	廃棄	方法	23
9.	その	他	23
	9.1.	各培地の対応細胞	23
	9.2.	ロット情報	24
	9.3.	インフォームドコンセント・ドナー情報	24
	9.4.	SDS	24
	9.5.	法規制について	24
	9.6.	参考文献	25
	9.7.	問い合わせ先	25



## 1. 正常比上凍結細胞

#### 1.1. 製品内容

本製品は、正常なヒト組織由来の凍結細胞です。細胞は、組織から分離、培養した後、凍結保存液にて凍結し、液体窒素中に保存しています。一部製品を除き、単一ドナーから採取し、ストレイン番号が定められた遺伝的に均一な製品です(※)。細胞の製造は、LIFELINEの細胞培養施設で行っています。

凍結細胞は、ロットにより細胞数が異なりますので、各ロットの増殖性能参考データをご確認ください。凍結前の培養継代数は、細胞ごとに異なります。また、凍結細胞の製品名と製品番号は、製造元と異なります。 詳しくは各細胞の製品情報をご覧ください。

※ 複数ドナー製品は、正常ヒトさい帯静脈血管内皮細胞 (KE-4109P10 凍結 HUVECp(複数ドナー))および正常ヒト新生児表皮角化細胞(KK-4009P10 凍結 NHEK(NB)p(複数ドナー)です。

#### 1.2. 製品の受け入れ

凍結細胞は、出荷直前に液体窒素中から凍結保存したバイアルを取り出し、ドライアイスを詰めて梱包し、 凍結輸送します。



凍結バイアルをフォームから取り出す時は、必ず手袋をしてください。

素手で取り出そうとすると、凍傷になる危険性があります。

- (1) 製品到着後すぐに開梱し、ドライアイスが残っているか、バイアルの破損や液漏れがないかご確認ください。
- (2) 上記確認後、速やかに液体窒素保存容器に移して保存してください。
- (3) 液体窒素保存は気相保管を推奨します(6.培養操作 参照)。
- (4) 到着後すぐに使用される場合は、本説明書の培養操作の項をご覧ください。
- (5) バイアルに表示しているストレイン(Lot#)番号は、細胞のドナー(ロット)識別に必要です。番号を記録するか、大切にラベルを保管してください(ラベル例参照)。



#### 1.3. 保存と安定性

到着後すぐに使用しない場合は、凍結細胞を液体窒素保存容器で保存してください。ディープフリーザー(-80°C)での保存は、数時間であっても細胞生存率、接着率および増殖性の低下を招く恐れがありますので、おやめください。液体窒素保存容器以外で保存された場合は、製品保証対象外となります。

#### 1.4. 品質管理

マイコプラズマ、B 型および C 型肝炎ウイルス、HIV-II ウイルスについて汚染のないことを LIFELINE で確認しています。細胞は、ストレイン番号ごとに解凍し、培養細胞の増殖性能と微生物汚染のないことを確認しています。



## 2. クラボウ製培地

#### 2.1. 製品内容

各種増殖用培地は、各細胞の培養に最適な濾過滅菌済みの基礎培地と増殖添加剤セットで構成している、 無血清あるいは低血清培地です。基礎培地に増殖添加剤を添加することにより増殖用培地となります。基礎 培地は、種々のアミノ酸・ビタミン・無機塩・グルコースなどで構成されており、各細胞用培地に最適なpHに調 整されています(「9.1 各培地の対応細胞」の「表9 各培地の対応細胞一覧」参照)。

増殖添加剤セットは、細胞増殖因子と抗菌剤の最適な組み合わせで、1種類ずつ別々の容器に分注しています。全量を基礎培地に添加していただくことで最適濃度になるように容量を調節していますが、必要に応じて添加量を調節することが可能です。

弊社正常ヒト細胞を弊社培地で培養する場合、一部の細胞培養系を除き、組織培養用容器をご使用になれば、フィーダー細胞や培養基質の塗布を必要としません。

培地の全組成は非公開ですが、一部の成分濃度についてはお問い合わせください。

#### 2.2. 製品の受け入れ

基礎培地は、凍結した保冷材と発泡断熱材で冷蔵輸送します。

増殖添加剤セットは、ドライアイス、凍結した保冷材、発泡断熱材で冷凍輸送します。製品到着後はすぐに 開梱し、各容器に破損や液漏れがないか、また、製品内容に不足がないかご確認ください。冷蔵輸送品は到 着時に保冷材が解凍していても、保冷状態であれば性能に問題はありません。

#### 2.3. 保存と安定性

培地は、冷蔵( $4^{\circ}$ C)保存してください。基礎培地は冷蔵保存すれば 2 か月以上使用可能なものを出荷しています。増殖添加剤は、 $-20^{\circ}$ C保存では保存保証期間がラベルに記載されています(6 か月以上保存可能なものを出荷しています)。一度解凍した増殖添加剤は、冷蔵保存して 1 週間以内にご使用ください。再凍結は 1 回まで可能です。

表1 クラボウ製培地の保存安定性

	0℃未満	4℃冷蔵	37℃以上
基礎培地	凍結不可	最低 2 か月間、 ラベルに記載の期日まで	不可
増殖添加剤	-20℃:6 か月または ラベル記載の期日まで	解凍後1週間	不可
増殖用培地	凍結不可	調製後 2 週間	不可

#### <注意>

培地中の各成分は光に不安定ですので、長時間光に当てないでください。

温める時は必要量だけ分注し温めてください。必要量以上の培地を37℃以上にはしないでください。



#### 2.4. 品質管理

基礎培地と増殖添加剤セット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、各細胞規定の細胞密度で培養し、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。規定の細胞密度と基準は、各細胞の製品情報をご覧ください。

#### 2.5. 増殖用培地の調製方法

- (1) 凍結状態の増殖添加剤を37℃のウォーターバスで温めて解凍します。(約3分間)
- (2) 基礎培地と解凍した増殖添加剤の容器を 70% エタノールで消毒した後、クリーンベンチ内で、基礎培地に増殖添加剤の全量を添加します。増殖添加剤の少量のロスは増殖性に影響しませんが、必要ならば培地で増殖添加剤の容器内をとも洗いしてください。添加は、各細胞の製品情報に記載された各増殖用培地の添加剤構成表の番号の順に入れてください。全量を添加することで、最適濃度の増殖因子と抗菌剤を含む増殖用培地となります。
- (3) 培地ボトルのキャップをした後、穏やかに培地を攪拌します。
- (4) 有効期間を把握するために、添加した増殖添加剤名、その添加量、ロット、日付を同梱のラベルに記録し、基礎培地のラベルの上から貼付してください。増殖用培地は冷蔵保存してください。冷蔵保存で2週間安定です。



## 3. クラボウ製特注培地

#### 3.1. 製品内容

各種特注基礎培地は、基礎培地から、その成分の一部を無添加にした培地です。規定の特注基礎培地では、無添加にする成分を予め設定しており、その成分は各基礎培地により異なります。無添加にした成分は、その濃縮溶液を 1 種類ずつ個別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。従来の基礎培地組成にするための添加量は"製品情報"をご確認ください。特注基礎培地に増殖添加剤を添加することにより特注増殖用培地となります。

#### 3.2. 製品の受け入れ

特注基礎培地と濃縮溶液のセットは、凍結した保冷材と発泡断熱材で冷蔵輸送します。製品到着後はすぐに開梱し、各容器に破損や液漏れがないか、また、製品内容に不足がないかご確認ください。到着時に保冷材が解凍していても、保冷状態であれば性能に問題はありません。

#### 3.3. 保存と安定性

培地、および濃縮溶液のセットは、冷蔵(4℃)保存してください。

#### 3.4. 品質管理

基礎培地と濃縮溶液のセット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、各細胞規定の細胞密度で培養し、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。規定の細胞密度と基準は、各細胞の製品情報をご覧ください。

#### 3.5. 添加剤の添加方法

- (1) 特注基礎培地と濃縮溶液のセットを70% エタノールで消毒した後、無菌下(クリーンベンチ内)で、特注 基礎培地に濃縮溶液の適量を添加します。最適量を添加すると従来の組成の基礎培地ができます。
- (2) 培地ボトルのキャップをした後、穏やかに攪拌します。
- (3) 有効期間を把握するために、添加した添加剤名、添加量、ロット、日付を特注基礎培地のラベルに記録してください。
- (4) 完成した基礎培地は、冷蔵保存してください。冷蔵保存で8週間安定です。

#### <注意>

温める時は必要量だけ分注し温めてください。必要量以上の培地を37℃以上にはしないでください。



## 4. LIFELINE 製培地

#### 4.1. 製品内容

LIFELINE 製培地は、各細胞の培養に最適な成分を含む濾過滅菌済みの基礎培地と増殖添加剤からなり、基礎培地に増殖添加剤を添加することにより増殖用培地となります。

#### く特長>

- (1) 基礎培地は、実験により細胞増殖や測定系に影響を及ぼすと考えられえているフェノールレッド、抗菌剤が不含です。
- (2) 基礎培地は、L-グルタミン(冷凍)を別添とすることにより、高い保存安定性が得られます。
- (3) 培地ボトルを遮光性フィルムでカバーし性能劣化を防止しております。

#### <注意>

ボトル丸ごとの加温をお勧めしておりません。温める時は必要量だけ分注し温めてください。必要量以上の培地を 37°C以上にはしないでください。

#### 以下の点にご注意ください。

<LIFELINE 製培地の注意点>

- (1) 基礎培地は、L-グルタミン、フェノールレッド、抗菌剤が含まれていません。
- (2) 基礎培地を単独で購入し、独自に増殖培地を調製される方は、L-グルタミンまたは L-アラニル-L-グルタミンを別途ご購入の必要があります(表2 LIFELINE 製培地用製品 参照)。
- (3) 増殖用培地セットをご購入の方は、Lーグルタミンまたは L-アラニル-L-グルタミン、および抗菌剤が増殖添加剤セットに含まれておりますので、追加購入は不要です。
- (4) フェノールレッドをご使用の方は、別途ご購入ください(表2)。
- (5) 抗菌剤は増殖添加剤セットに含まれていますが、クラボウ製抗菌剤は別途購入可能です(表3)。
- (6) 基礎培地の容量は、各基礎培地によって異なります。

基礎培地は必須アミノ酸、非必須アミノ酸、ビタミン、微量ミネラル、有機化合物、無機塩を含み、一定のpHに調整されています(「9.1 各培地の対応細胞」の「表10 各培地の対応細胞一覧」参照)。組織培養用容器をご使用の場合は、フィーダー細胞や培養基質の塗布を必要としません。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。各増殖添加剤には、十分量が入っていますので、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。 クラボウ製培地の増殖添加剤との組成比較表は各細胞の製品情報をご覧ください。



#### 表2 LIFELINE 製培地用製品

製品番号	製 品 名	仕 様		
LER-LS1013	L-Glutamine	L-グルタミン	25ml	1本
LLIN-LOTOTO	LifeFactor E	(VascuLife 用)		
	L-Glutamine	Lーク゛ルタミン	15ml	1本
LKR-LS1031	LifeFactor K	(DermaLife, OcuLife, BronchiaLife, I	ProstaLife, Mamma	aryLife ,
		UroLife,ReproLife用)		
LFR-LS1006	L-Glutamine	Lーク゛ルタミン	18. 75ml	1本
LFK-L31000	LifeFactor F	(FibroLife 用)		
1110 1 01050		L-アラニル-L-ク゛ルタミン	6m2	1本
LHR-LS1053	L-Alanyl-L-Glutamine	(RenaLife, StemLife用)		·
LQR-LS1009	Phenol Red LifeFactor	フェノールレット゛(33mM)	1mQ	1本

#### 〈注意〉

フェノールレッドは 500 mlの培地に対して 0.5 ml添加してご使用ください(最終濃度:33 μ M)。

#### 表3 クラボウ製抗菌剤

製品番号	製品名	仕 様
HK-3510	ゲンタマイシン/アンフォテリシン B 10本入り	500 ml 培地 10 本に使用可能

#### 4.2. 製品の受け入れ

基礎培地は、凍結した保冷材と発泡断熱材で冷蔵輸送します。

増殖添加剤セットは、ドライアイス、凍結した保冷材、発泡断熱材で冷凍輸送します。製品到着後はすぐに 開梱し、各容器に破損や液漏れがないか、また、製品内容に不足がないかご確認ください。冷蔵輸送品は到 着時に保冷材が解凍していても、保冷状態であれば性能に問題はありません。冷凍輸送品は到着時にドライ アイスがなくなっていても、凍結状態であれば性能に問題はありません。

## 4.3. 保存と安定性

基礎培地は、冷蔵(4°C)保存してください。増殖添加剤は、凍結(-20°C以下)で保存してください。再凍結は 1回まで可能です。増殖用培地は、調製後2週間以内にご使用ください。

表4 培地の保存安定性

	0℃未満	4℃冷蔵	37℃以上
基礎培地	凍結不可	最低 2 か月間、 ラベルに記載の期日まで	不可
増殖添加剤	-20℃: 最低 2 か月間、 ラベルに記載の期日まで	解凍後1週間	不可
増殖用培地	凍結不可	調製後 2 週間	不可

#### <注意>

- ・ 培地中の各成分は光に不安定ですので、長時間光に当てないでください。
- ・温める時は必要量だけ分注し温めてください。必要量以上の培地を 37°C以上にはしないでください。



#### 4.4. 品質管理

基礎培地と増殖添加剤セット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、各細胞規定の細胞密度で培養し、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。規定の細胞密度と基準は、各細胞の製品情報をご覧ください。

#### 4.5. 増殖用培地の調製方法

- (1) 増殖添加剤を37℃のウォーターバスで温めて解凍します。(約3分間)
- (2) 基礎培地と増殖添加剤の容器を 70% エタノールで消毒した後、無菌下(クリーンベンチ内)で、基礎培地 に適量の増殖添加剤を添加します。添加量および、添加順序は、各細胞専用の製品情報の表をご参照 ください。
- (3) キャップをした後、穏やかに攪拌します。
- (4) 有効期間の目安にするために、添加した添加剤名、その添加量、ロット、日付をラベルに記録し、基礎培 地のラベルの上から貼付してください。
- (5) 完成した増殖用培地は冷蔵保存してください。冷蔵保存で2週間安定です。



## 5. 継代試薬

#### 5.1. 製品内容

#### 表5 継代試薬

製品番号	製品名	仕 様	
HK-3120	トリプ <sup>°</sup> シン/EDTA 溶液	トリプシン/EDTA 溶液 100ml 2 本 トリプシン濃度 0.025%(W/V) EDTA 濃度 0.01%(W/V)	
HK-3220	トリプシン中和液	トリプシン中和液 100ml 2本 血清濃度 10%	
HK-3320 HEPES 緩衝液		HEPES 緩衝液 100ml 2本 HEPES 濃度 30mM、pH7.4	
HK-3404	継代用試薬セット	上記 3 点セット、100ml 各 1 本	

本製品は正常ヒト細胞の継代培養において最適化され、正常ヒト細胞との適合性を慎重にスクリーニングした原料を用い、厳しい品質管理のもとで製造しています。

<u><重要> 継代操作において、上記以外の継代試薬、または自家調製された継代試薬を使用された場合、</u>
製品保証の対象外となります。

トリプシン/EDTA 溶液は、トリプシンを 0.025%(W/V)、EDTA を 0.01%(W/V)で含む HEPES 緩衝液です。弊 社のトリプシン濃度は株化細胞等に使われているものに比べて低濃度(10分の1程度)となっていますので、 トリプシンの処理時間等にご注意ください。

トリプシン中和液は、血清を 10%(V/V) 含む HEPES 緩衝液です。 HEPES 緩衝液は、HEPES を 30mM の濃度を含む緩衝液です。

#### 5.2. 製品の受け入れ

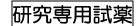
ドライアイス、凍結した保冷材と発泡断熱材で梱包して冷凍輸送します。製品到着後はすぐに開梱し、各容器に破損や液漏れがないかご確認ください。ドライアイスが到着時になくなっていても、冷凍状態であれば性能に問題はありません。

### 5.3. 保存と安定性

凍結(-20°C)、または冷蔵(4°C)保存してください(表6 継代試薬の保存安定性 参照)。トリプシン/EDTA 溶液は繰り返し温めることは避け、必要量だけ温めてください。pH の変動により多少黄色に変色することが ありますが、緩衝作用がありますので性能に問題はありません。

表6 継代試薬の保存安定性

保存温度	-20℃凍結	4℃冷蔵	25 <b>~</b> 37℃	37℃以上
安定性	ラベルに記載の期日まで 最低 6 か月間	3~7日	5~24 時間	不可





## 5.4. 品質管理

無菌性、細胞増殖性、その他の基準に適合した製品を出荷しています。

## 5.5. 使用方法

「6.1.2 継代培養」をご覧ください。



## 6. 培養操作

凍結細胞を培養器に入れる方法として、凍結細胞を培養液に入れて希釈し、細胞浮遊液を調製し、その細胞浮遊液を培養器に添加する方法と、融解した凍結細胞を直接培養器に入れる方法があります。「6.1 クラボウ製培地を用いた培養系」は前者、「6.2 LIFELINE 製培地を用いた培養系」は後者です。

細胞培養操作は、クラボウ製増殖用培地のご使用の際は 6.1 をご覧ください。 LIFELINE 製増殖用培地をご使用の際は、6.2 をご覧ください。

#### 重要: 製品保証について

凍結細胞は液体窒素保存容器で保存してください。ディープフリーザー(-80°C)での保存は、数時間であっても細胞生存率、接着率および増殖性の低下を招く恐れがありますので、おやめください。液体窒素保存容器以外で保存された場合は、製品保証対象外となります。

- 6.1. クラボウ製培地を用いた培養系
- 6.1.1. 凍結細胞の解凍と植え込み

以下は、T-25 フラスコ(底面積 25cm²)で培養、継代する場合を例にして説明します。

- (1) 無菌下(クリーンベンチ内)で15ml遠沈チューブに増殖用培地を4ml分注し、冷蔵保存しておきます。 ※T-25 フラスコ以外の培養容器をご使用の場合、培養面積5 cm<sup>2</sup> 当たり1mlの増殖用培地を入れます。 ※一部の細胞培養系を除き組織培養用容器の場合は、フィーダー細胞や培養基質の塗布を必要としません。
- (2) 培地を入れた容器をインキュベーター(37℃、5% CO2、加湿)に入れ、少なくとも 30 分間インキュベートします。使用容器がフラスコの場合はキャップを緩めてください。

凍結細胞は使用方法を誤ると大変危険です。以下の注意事項を必ず守り、最小限の操作でできるだけ 速やかに細胞を解凍し、培養系に植え込んでください。



凍結細胞を扱う際には必ず保護眼鏡もしくはフェイスシールドを着用してください。 また凍結バイアルの破裂事故を防ぐため、液体窒素の「気相中」での保存を推奨しま す。



もし液相中に保管された場合、液体窒素が内部に侵入している可能性がありますので、解凍操作時は、液体窒素保存容器から凍結バイアルを取り出したらすぐにドライアイスまたは-80°Cのフリーザーに入れて 1-2 時間放置し、内部の液体窒素を完全に蒸発させてから解凍操作を行ってください。 温度が急に上がるとバイアル内に残っている液体窒素が気化することにより内圧が上がり、バイアルが破裂する恐れがあります。液体窒素や容器の破片が目に入ると失明の危険性があります。

- (3) バイアルを保存容器から取り出し、キャップを少し緩めて内圧を開放し、再度締めます。
- (4) バイアルの下部を 37℃の 50% アルコール中に浸し、左右にゆっくりと振ります。約 2 分後、細胞凍結片が 1cm 角位になったら、バイアルを取り出し表面を拭いてクリーンベンチ内に入れます。70% エタノールでバイアルの周りを消毒します。キャップを注意深く取り外し、1mlのピペットで緩やかに混ぜながら溶解



します。

- (5) バイアルから細胞浮遊液 20 μ Qを取り、トリパンブルー20 μ Qで希釈します。
- (6) (1)にて分注しておいた増殖用培地に、バイアル中の細胞浮遊液の全量(約 1ml)を添加します。カウント前にすばやく(1 分程度)行ってください。

<注意>

<u>凍結融解後の細胞浮遊液を遠心処理しないでください。凍結融解直後の正常ヒト細胞は遠心操作によってダメージを受けることがあります。</u>

- (7) 細胞浮遊液の 1m2あたりの生細胞数((4)でサンプリングしたもの)を血球計算盤かセルカウンターでカウントします。
- (8) 各細胞推奨細胞密度に従って計算した(6)の細胞浮遊液を(2)の容器へ播種します。細胞浮遊液は、(5) で 5 倍希釈していますので、細胞播種時の細胞数にご注意ください。
  - 例: 凍結細胞 細胞浮遊液添加量の計算

播種密度は細胞種によって異なりますので、必ず各製品の製品情報をご確認ください。

以下は、NHEK ヒト表皮角化細胞を播種する場合を例にして説明します。

推奨細胞密度 : 2,500 個/cm<sup>2</sup>

T-25 フラスコ培養(底面積): 25 cm<sup>2</sup>

総生細胞数((7)でカウントした結果): 500,000 個の場合

- ・ T-25 フラスコ 1 つの植え込みに必要な生細胞数: 2,500 個 x25cm²=62,500 個
- ・(1)の分注培地量 4ml+バイアルの細胞浮遊液量約 1ml=浮遊液量全体約 5ml これを 5mlとみなして、
- ・ 細胞浮遊液の細胞密度 500,000 個÷5ml=100,000 個/ml
- 1 フラスコ当たりの添加量:62.500 個÷100.000 個/ml=0.625ml (625 µl)
- (9) フラスコはキャップを締めて、細胞を分散させるために穏やかに振ります。
- (10)細胞を播種した容器をインキュベーターに入れ、フラスコはキャップを緩めて、24 時間培養します。
- (11) 24 時間後、顕微鏡で観察し、培地を交換します。

細胞が付着し、培養面に均等に広がっています。細胞は単一細胞か小さな群集を形成しています。

- (12) 播種 48 時間後、細胞が活発な増殖状態に回復していることを示す多数の有糸分裂が観察されます。明確なコロニー形成はこの段階では見られません。細胞の付着と有糸分裂が確認できれば、細胞の解凍と植え込みの作業は良好と考えられます。
- (13) 培地は、細胞密度が低い時は1日おきに交換します。細胞被覆率が40%を超えたら毎日交換することをお勧めします。
- (14) 各種細胞の「製品情報 細胞培養」に記載されたコンフルエンシー(細胞被覆率%)で継代培養を行ってください。

#### <u> <注意></u>

細胞解凍後、凍結保存液を取り除くために、遠心分離操作を行うことがありますが、凍結融解直後の正常ヒト細胞にとって遠心分離は悪影響になると考えられます。そのため弊社では、細胞の遠心分離をしない方法を推奨します。なお播種から 24 時間後に培地交換を行えば、凍結溶液中の DMSO の影響を受けることはありません。



#### 6.1.2. 継代培養

継代培養に用いる試薬は、「表7 継代試薬」を参照し、あらかじめご用意ください。これらの試薬は、クラボウ製培地および LIFELINE 製培地を用いた両培養系で使用できます。

表7 継代試薬

製品番号	製品名	仕 様	
HK-3120	トリプ <sup>°</sup> シン/EDTA 溶液	トリプ・シン/EDTA 溶液 100ml 2 本 トリプ・シン濃度 0.025%(W/V) EDTA 濃度 0.01%(W/V)	
HK-3220	トリプシン中和液	トリプ <sup>°</sup> シン中和液 100ml 2本 血清濃度 10%(V/V)	
HK-3320 HEPES 緩衝液		HEPES 緩衝液 100ml 2本 HEPES 濃度 30mM、pH7.4	
HK-3404	継代用試薬セット	上記 3 点セット、100ml 各 1 本	

#### 重要: 製品保証について

継代操作において、上記以外の継代試薬、または自家調製された継代試薬を使用された場合、製品保証の対象外となります。

トリプシン/EDTA 溶液は、トリプシンを 0.025%(W/V)、EDTA を 0.01%(W/V)で含む HEPES 緩衝液です。弊社 のトリプシン濃度は株化細胞等に使われているものに比べて低濃度(10 分の 1 程度)となっていますので、トリプシンの処理時間等にご注意ください。

以下は、NHEK ヒト表皮角化細胞を T-25 フラスコ(底面積 25cm²)で培養、継代する場合を例にして説明します。本説明書と各細胞の製品情報をご一読の上、諸条件をご確認ください。操作に慣れるまでは 1 フラスコずつ操作を行ってください。

(1) 培養細胞を顕微鏡観察します。

細胞が多数の有糸分裂を含み、各種細胞の「製品情報 細胞培養」に記載されたコンフルエンシー(細胞被覆率%)であることをご確認ください。継代に適切な培養状態は、該当するストレイン番号(Lot#)の 増殖性能参考データの写真をご参照ください。

- (2) 培養容器を準備し、T-25 フラスコに新しい増殖培地 5mlを入れます(※)。 ※T-25 フラスコ以外の培養容器をご使用の場合、培養面積 5cm<sup>2</sup> 当たりに 1mlの増殖培地を入れます。 ※組織培養用容器の場合は、通常、フィーダー細胞や培養基質の塗布を必要としません。
- (3) 培地を入れた容器をインキュベーターに入れ、少なくとも 30 分間インキュベートします。使用容器がフラスコの場合はキャップを緩めてください。
- (4) HEPES 緩衝液とトリプシン/EDTA 溶液を解凍し、それぞれ 7ml、2mlを遠沈チューブに分注する。 HEPES 緩衝液は 37℃に温めます。トリプシン/EDTA 溶液は室温状態にし、残りは小分けにして冷凍保存してください。
- (5) トリプシン中和液は解凍した後、5mℓを遠沈チューブに分注し37°Cに温めます。(細胞の回収用)
- (6) 培地を 5~8ml分注し、37℃に温めます。(細胞の再浮遊用)
- (7) 培地を吸引除去します。



- (8) 2mlの HEPES 緩衝液で細胞層を緩やかに約30秒間洗浄します。 正常なヒトの細胞には HEPES 緩衝液をお勧めします。
- (9) HEPES 緩衝液を吸引除去します。
- (10) 2mlのトリプシン/EDTA 溶液で細胞層を覆います。
  - ※<u>細胞により最適な処理時間が異なります。各細胞の推奨処理時間は、表8または「製品情報</u> 細胞培養」をご参照ください。

表8 各細胞のトリプシン/EDTA 処理時間一覧(例)

細 胞	吸引までの 時間	吸引後 静置時間
メラニン細胞: NHEM(NB)、NHEM(AD)、NHEM-HP(NB)、NHEM-HP(AD)、NHEM-HP(NB)-4'間葉系幹細胞: HMSC(AD)、HMSC(NB)、HMSC(PA)、HMSC(BM)	直ちに吸引	1-3 分
血管内皮細胞: HUVEC、HUVECp、HAEC、HPAEC、HCAEC		1-3 分
微小血管内皮細胞: HMVEC(NB) 表皮線維芽細胞: NHDF(NB)、NHDF(AD)		
口腔線維芽細胞: NHGF 肺線維芽細胞: NHLF		1-2 公
子宮線維芽細胞: HUtF 膀胱線維芽細胞: NHBF	30 秒間	1 2 / J
強膜線維芽細胞: HScF		
血管平滑筋細胞: HASMC、HPASMC、HCASMC 肺平滑筋細胞: HLSMC		1-3 分
骨格筋サテライト細胞: HSkMC		
生殖系上皮細胞: HEuEC、HVEC、HCxEC、HFTEC		2-5 分
腎上皮細胞: HRCEC、HRPTEC、HRECmix、HRMEC膀胱上皮細胞: HBEC-A、HBEC-D		3-5 分
角膜上皮細胞: HCEC-2 表皮角化細胞: NHEK(NB)、NHEK(AD)、NHEK(NB)p 口腔表皮角化細胞: NHOKg 気管支上皮細胞: HBTEC、HSAEC 乳腺上皮細胞: HMEC	1 分間	5-8 分
前立腺上皮細胞: HPEC		8-10 分

※表に記載のない細胞は、各種細胞の「製品情報 細胞培養」のページをご覧ください。

- (11) トリプシン/EDTA 溶液を 0.5ml残して吸引除去し、細胞の乾燥を防ぐためキャップを固く締めます。
- (12) 室温(20~25°C)で水平な場所に静置します。37°Cインキュベーターに入れるなどの加温はしないでください。細胞により最適な処理時間が異なります。各細胞の推奨処理時間は、表8または「製品情報細胞培養」をご参照ください。
- (13) 顕微鏡で観察しながら、細胞が丸く、個々にバラバラになってくるのを確認します。

#### <注意>

顕微鏡観察の間は、トリプシン/EDTA 溶液が培養面全体にいきわたるようにフラスコを時々傾けます。



約 2 分おきにフラスコ側面を手の平で非常に軽くたたくことで、トリプシン/EDTA 溶液が細胞コロニーに 浸透し、剥がれ易くなります。

(14) トリプシンの添加から 6-9 分後(※:角化細胞の場合)、細胞のおよそ半分が剥がれたところで、フラスコ側面を強くたたくと、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。)

※細胞によって静置時間が異なります。表8または各種細胞の「製品情報 細胞培養」をご確認ください。 ※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。室温:高→活性:高

#### <注意>

過剰なトリプシン処理(10 分以上の処理、あるいは 25℃以上での処理)は、細胞に傷害を与えその後の生物活性を著しく低下させますのでご注意ください。細胞が剥がれにくい場合は、トリプシン/EDTA 溶液の活性が低下している恐れがありますので新しいものをご使用ください。

- (15) 細胞が剥がれるのを確認した後、5mlの HEPES 緩衝液で泡立てないようにピペッティングして細胞を回収し、(5)のトリプシン中和液の入った遠沈チューブに入れます。トリプシンの中和には血清または適当なトリプシン阻害剤を含んだ溶液を用いることができますが、弊社のトリプシン中和液は付着性細胞に最適化されています。
- (16) 220xg で 5 分間、遠心分離を行います(※)。※ 回転半径 16cm のスイングローターの場合、1100rpm が 220xg に相当します。

#### <注意>

KW-4109 HMSC(AD)、KW-4009 HMSC(NB)、KW-4209 HMSC(PA)および KW-4309 HMSC(BM)の場合、 250xg で 5 分間遠心分離を行います。

- (17) 上清を吸引除去します。
- (18) (6)で温めた培地 5~8mlで細胞を再浮遊させ、細胞数を血球計算盤かセルカウンターでカウントします。
- (19) 2,500 個/cm<sup>2</sup>の密度で細胞浮遊液を播種します。
  - 例: 継代培養 細胞浮遊液添加量の計算

トリプシン処理で得られた培養細胞の生細胞数:500,000個

浮遊液量:5mlの場合

- ・ T-25 フラスコ 1 つの植え込みに必要な細胞数: 2500 個 x25cm2=62,500 個
- ・ 細胞浮遊液の細胞密度 500,000 個÷5ml=100,000 個/ml
- ・ 1 フラスコ当たりの添加量: 62,500 個÷100,000 個/ml=0.625ml (625 μl)
- (20) フラスコはキャップを締めて、細胞を分散させるために穏やかに振ります。
- (21) 細胞を播種した容器をインキュベーターに入れ、フラスコはキャップを緩めて、24 時間培養します。継代培養の操作は30分程度で完了させることをお勧めします。
- (22) 24 時間後、顕微鏡で観察し、培地を交換します。細胞が付着し、培養面に均等に広がっています。細胞は単一細胞か小さな群集を形成しています。
- (23) 播種 48 時間後、細胞が活発な増殖状態に回復していることを示す多数の有糸分裂が観察されます。 明確なコロニー形成はこの段階では見られません。細胞の付着と有糸分裂が確認できれば、継代培養 はうまくいっていると考えられます。

#### 6.1.3. 培地交換

(1) 培地は、細胞被覆率が低い時は 1 日おきに交換します。細胞被覆率が 40%以上もしくはコンフルエント



に近付いたら毎日交換することをお勧めします。

(2) 新しい培地を必要量だけ分注し37℃に温めます。

<注意>

温める時は必要量以上の培地を37℃以上にはしないでください。

- (3) 無菌下で容器から古い培地を吸引除去し、(1)で温めた新しい培地を入れます。フラスコの場合は、微生物の汚染を防ぐためフラスコのネックやキャップ部の培地も吸引除去してください。
- 6.2. LIFELINE 製培地を用いた培養系
- 6.2.1. 凍結細胞の解凍と植え込み

以下は、T-25 フラスコ(底面積 25cm²)で培養、継代する場合を例にして説明します。

- (1) T-25フラスコを準備し、5mlを添加します(※)。 培地を入れたフラスコをインキュベーター(37℃、5% CO2、加湿)に入れ、少なくとも 30 分間インキュベートします。ガス交換のためキャップを緩めてください。
  - ※T-25 フラスコ以外の培養容器をご使用の場合、培養面積 5 cm<sup>2</sup> 当たり 1mlの増殖用培地を入れます。 ※組織培養用容器の場合は、通常、フィーダー細胞や培養基質の塗布を必要としません。

凍結細胞は使用方法を誤ると大変危険です。以下の注意事項を必ず守り、最小限の操作でできるだけ速やかに細胞を解凍し、培養系に植え込んでください。



凍結細胞を扱う際には必ず保護眼鏡もしくはフェイスシールドを着用してください。 また凍結バイアルの破裂事故を防ぐため、液体窒素の「気相中」での保存を推奨しま す。



もし液相中に保管された場合、液体窒素が内部に侵入している可能性がありますので、解凍操作時は、液体窒素保存容器から凍結バイアルを取り出したらすぐにドライアイスまたは−80°Cのフリーザーに入れて 1-2 時間放置し、内部の液体窒素を完全に蒸発させてから解凍操作を行ってください。 温度が急に上がるとバイアル内に残っている液体窒素が気化することにより内圧が上がり、バイアルが破裂する恐れがあります。液体窒素や容器の破片が目に入ると失明の危険性があります。

- (2) バイアルを保存容器から取り出し、キャップを少し緩めて内圧を開放し、再度締めます。
- (3) バイアルを 37℃の 50% アルコール中で、左右にゆっくりと振ります。約2分後、細胞凍結片が1cm 角位になったら、バイアルを取り出し表面を拭いてクリーンベンチ内に入れます。70% エタノールでバイアルの周りを消毒します。キャップを注意深く取り外し、1mlのピペットで緩やかに混ぜながら溶解します。
- (4) バイアルから細胞浮遊液 20 μ ℓを取り、トリパンブルー20 μ ℓで希釈します。

#### <注意>

凍結融解後の細胞浮遊液を遠心処理しないでください。凍結融解直後の正常け細胞は遠心操作によってダメージを受けることがあります。

- (5) 細胞浮遊液の 1m2あたりの生細胞数((4)でサンプリングしたもの)を血球計算盤かセルカウンターでカウントします。
- (6) 各細胞推奨細胞密度に従って計算した(5)の細胞浮遊液を(1)の容器へ播種します。 播種密度は細胞種によって異なりますので、必ず各製品の製品情報をご確認ください。



以下は、NHEK ヒト表皮角化細胞を播種する場合を例にして説明します。

例: 凍結細胞 細胞浮遊液添加量

推奨細胞密度: 2,500 個/cm<sup>2</sup>

T-25 フラスコ培養(底面積): 25 cm<sup>2</sup>

バイアル中の細胞数 500,000 個の場合の

- ・ 細胞数: 2.500 個 x25cm2=62.500 個
- ・ 添加量: 62,500 個÷500,000 個=0.125ml (125 µl)…1 フラスコ当たりの添加量
- (7) フラスコはキャップを締めて、細胞を分散させるために穏やかに振ります。
- (8) 細胞を播種した容器をインキュベーター(37°C、5% CO₂、加湿)に入れ、フラスコはキャップを緩めて、24-36 時間培養します。
- (9) 24-36 時間後、顕微鏡で観察し、培地を交換します。細胞が付着し、培養面に均等に広がっています。 細胞は単一細胞か小さな群集を形成しています。
- (10) 播種 48 時間後、細胞が活発な増殖状態に回復していることを示す多数の有糸分裂が観察されます。明確なコロニー形成はこの段階では見られません。細胞の付着と有糸分裂が確認できれば、凍結細胞の解凍と植え込み作業は良好と考えられます。
- (11) 培地は、細胞被覆率が低い時は 1 日おきに交換します。細胞被覆率が 40% を超えたら毎日交換することをお勧めします。
- (12) 各種細胞の「製品情報 細胞培養」に記載されたコンフルエンシー(細胞被覆率%)で継代培養を行ってください。

<注意>

- 6.2.2. 細胞解凍後、凍結保存液を取り除くために、遠心分離操作を行うことがありますが、<u>凍結融解直後の</u> 正常ヒト細胞にとって遠心分離は悪影響となると考えられます。そのため弊社では、細胞の遠心分離 をしない方法を推奨します。なお播種から 24 時間後に培地交換を行えば、凍結溶液中の DMSO の 影響を受けることはありません。継代培養
  - 「6.1.2 継代培養」をご覧ください。

継代試薬は、クラボウ製(表5および表7)をご使用ください。

- 6.2.3. 培地交換
- 「6.1.3 培地交換」をご覧ください。

※LIFELINE の取扱説明書(英文)が必要な方は弊社までお問い合わせください。なお、和訳したものはございません。予めご了承いただきますよう、お願い申しあげます。

#### 6.2.4. 分化培地の培養

間葉系幹細胞用の分化培地を用いた培養は、別途、正常ヒト間葉系幹細胞関連の製品情報をご覧ください。



#### 6.3. 参考

- (1) 細胞解凍後、凍結保存液を取り除くために、遠心分離操作を行うことがありますが、凍結融解直後の正常といるによって遠心分離は悪影響となると考えられます。そのため弊社では、細胞の遠心分離をしない方法を推奨します。なお播種から 24 時間後に培地交換を行えば、凍結溶液中の DMSO の影響を受けることはありません。
- (2) 細胞解凍後からの植込みにおいて、バイアル解凍溶液全量を T-25 フラスコ 1 個へ播種するといった、高い播種密度での植え込みはお避けください。凍結保存培養液中の DMSO が高濃度に残ることで細胞の接着や増殖に影響する場合があります。
- (3) 細胞培養において細胞被覆率が 40%を超えコンフルエントに近付いたら、代謝が非常に盛んになりますので必要な栄養分補給と代謝老廃物の除去を行うために培地を毎日交換してください。継代するタイミングについては、各種細胞の「製品情報 細胞培養」に記載されたコンフルエンシー(細胞被覆率%)で継代してください。間違った細胞被覆率で継代されますと継代後の細胞増殖が悪くなる可能性があります。到達可能な継代次数(パッセージ数)は培養開始時の細胞播種数(培養器面積当りの細胞密度)、培養日数、ご使用方法によっても変化します。
- (4) トリプシン処理時に、細胞にダメージを与えることがあります。これは、細胞をトリプシン/EDTA 溶液に過剰な時間さらしたり、25°C以上で処理したり、過剰に機械的な攪拌を行うことが原因となるほか、過剰な遠心力によるものがあります。遠心により細胞がダメージを受けると、チューブの底に細胞ペレットが確認できず、糸状のものや細胞の破片が確認できます。これは細胞の溶解により溶液中に DNA が出てくるためです。細胞のダメージを避けるため、トリプシンの処理温度と遠心速度が適切であるか確認してください。必要に応じて、トリプシンの処理時間を変更してください。

## 7. 性能と品質管理基準

#### 7.1. 性能

各細胞の製品情報をご覧ください。

#### 7.2. 品質管理基準

細胞、培地および添加剤の品質管理基準は、各細胞の製品情報をご覧ください。細胞の播種(植え込み)では推奨細胞密度での培養をお勧めします。その他の培養条件でも培養可能ですが保証の対象外となりますのであらかじめご了承ください。細胞の品質管理は、各細胞に適した増殖用培地にて行っています。

細胞の寿命は、in vitro で有限となっていますのでご注意ください。品質保証につきましては、各細胞、専用培地の製品概要をご覧ください。クラボウ製培地、LIFELINE 製培地、特注培地の品質管理は添加剤を規定量添加した状態での増殖性を確認しています。規定とは異なる添加量での細胞増殖性については保証の対象外となります。品質保証の継代次数以上の継代培養では、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。



## 8. 廃棄方法



廃棄する細胞、培地、継代試薬は、使用、未使用に関わらず、蒸気滅菌してください。使用済みのガラス器具、プラスチック器具も蒸気滅菌してください。滅菌処理後の廃液、プラスチック廃材は、各施設の規則に従って、廃棄してください。

# 9. その他

## 9.1. 各培地の対応細胞

各培地の対応細胞につきましては、表9、10をご覧ください。 増殖添加剤構成の比較表は、各細胞製品の製品情報に記載があります。

表9 各培地の対応細胞一覧(例)

クラホ	<sup>т</sup> о		LIFELINE	
<b>基礎培地</b> 容量/pH	増殖培地	<b>基礎培地</b> 容量/pH	増殖培地	対応細胞
HuMedia-EB2	HuMedia-EG2	VascuLife BM	VascuLife EnGS Comp kit VascuLife VEGF Comp kit	HUVEC、HUVECp HAEC、HPAEC、HCAEC
500ml/pH7.8	_		EnGS-MV Comp kit VEGF-MV Comp kit	HMVEC (NB)
HuMedia-SB2 特注 GA 別添 500ml/pH7.8	HuMedia-SG2 特注 GA 別添	475ml/pH7.8	VascuLife SMC Comp kit	HASMC、HPASMC HCASMC、HLSMC HUtSMC
HuMed i a-KB2 500ml/pH7. 4	HuMedia-KG2	DermaLife BM	DermaLife K Comp kit	NHEK (NB) 、NHEK (AD) NHOKg
_	_	485ml/pH7.5	DermaLife M Comp kit DermaLife Ma Comp kit	NHEM (NB) 、NHEM-HP (NB) NHEM (AD) 、NHEM-HP (AD)

表10 各培地の対応細胞一覧(例)

LIFELIN	IE		
<b>基礎培地</b> <u>容量/pH</u>	増殖培地	対応細胞	
FibroLife BM	FibroLife Comp Kit	NHDF(NB), NHDF(AD), NHLF, NHGF, NUtF,	
<u>480ml/pH7.4</u>	FibroLife S2 Comp Kit	NHBF、HScF	
<b>OcuLife BM</b> 485ml/pH7.5	OcuLife Comp kit	HCEC-2	
<b>ProstaLife BM</b> <u>485ml/pH7.5</u>	ProstaLife Comp kit	HPEC	
BronchiaLife BM 485ml/pH7.5	BronchiaLife Comp kit	HBTEC, HSAEC	
<b>MammaryLife BM</b> <u>485ml/pH7.5</u>	MammaryLife Comp kit	HMEC	



LIFELINE		
<b>基礎培地</b> 容量/pH	増殖培地	対応細胞
RenaLife BM 485ml/pH7.5	RenaLife Comp kit	HRCEC, HRPTEC, HRECmix, HRMEC
StemLife BM 485ml/pH7.8	StemLife MSC Comp kit StemLife MSC-BM Comp kit StemLife Sk Comp kit	HMSC (AD) 、 HMSC (NB) HMSC (BM) HSkMC
FibroLife BM 480ml/pH7.4	FibroLife S2 Comp Kit	HMSC (PA)
UroLife BM 485ml/pH7.5	UroLife Comp kit	HBEC-A、HBEC-D
ReproLife BM 485ml/pH7.5	ReproLife Comp kit	HEuEC、HVEC
ReproLife CX BM 485ml/pH7.5	ReproLife CX Medium Comp kit	HCxEC、HFTEC

<sup>※</sup>表に記載のない細胞は、「製品情報 細胞培養」のページをご覧ください。

#### 9.2. ロット情報

細胞増殖データはロット毎にご用意しています。必要な方は弊社までお問い合わせください。

#### 9.3. インフォームドコンセント・ドナー情報

提携先より入手しています。ご入要の方は弊社までお問い合わせください。

#### 9.4. SDS

ご入要の方は弊社までお問い合わせください。

#### 9.5. 法規制について

- 〇毒物及び劇物取締法、化管法(PRTR 法)、カルタヘナ法、水質汚濁防止法、麻薬及び向精神薬取締法、 覚醒剤取締法に対し該当物はありません。
- 〇消防法:第4類引火性液体としてジメチルスルホキシド(DMSO)を下記製品は含みます。

製品番号 KM-6350 HMGS 特注添加剤セット(DMSO 濃度:100%)

〇労働安全衛生規則(第 594 条の 2): 皮膚等障害化学物質等及び特別規則に基づく不浸透性の保護 具等の使用義務物質として DMSO を下記製品は含みます。

製品番号 KM-6350 HMGS 特注添加剤セット(DMSO 濃度: 100%)

全ての凍結細胞製品(DMSO 濃度:10%) 製品名は P. 18 の表8をご参照ください。

製品番号 LQR-LM0015 FrostaLife (DMSO 濃度:10%)



#### 9.6. 参考文献

弊社ウエブサイトをご参照ください。

#### 9.7. 問い合わせ先

## 本製品に関するお問い合わせは下記までお寄せください。

大阪:TEL.072-820-3079 FAX.072-820-3095 東京:TEL.03-6371-1390 FAX.03-6371-1396

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

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/