

取扱説明書番号: BMMN-832-03-22014-01

Normal Human Female Reproductive Epithelial Cell

正常ヒト生殖系(女性)上皮細胞培養関連製品 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

クラホウ		LIFELINE		仕 様		
製品番号	製品名	製品番号	製品名			
KU-4009	凍結 HEuEC	FC-0078	HEuEC	正常ヒト子宮内膜上皮細胞	凍結 バイアル	細胞数: 50 万個以上 容量: およそ 1ml
KU-4109	凍結 HVEC	FC-0083	HVEC	正常ヒト膣管内上皮細胞		
KU-4209	凍結 HCxEC	FC-0080	HCxEC	正常ヒト子宮頸部上皮細胞		

- 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「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

クラホウ		LIFELINE		仕 様
製品番号	製品名	製品番号	製品名	
LUC-LL0068	ReproLife Comp kit	LL-0068	ReproLife Medium Complete kit	正常ヒト生殖系(女性)上皮細胞用培地(液体) (凍結 EuEC および HVEC 用培地) 下記、LUB-LM0044 と LUK-LS1097 のセット
LUB-LM0044	ReproLife BM	LM-0044	ReproLife Basal Medium	正常ヒト生殖系(女性)上皮細胞基礎培地 容量: 485ml、pH7.5±0.2
LUK-LS1097	ReproLife LifeFactors	LS-1097	ReproLife LifeFactors kit	正常ヒト生殖系(女性)上皮細胞増殖用添加剤セット 500ml用 1本ずつ 8種類 (表2)
LUC-LL0072	ReproLife CX Comp kit	LL-0072	ReproLife Medium Complete kit	正常ヒト子宮頸部上皮細胞用培地(液体) (凍結 HCxEC 用培地) 下記、LUB-LM0055 と LUK-LS1116 のセット
LUB-LM0055	ReproLife CX BM	LM-0055	ReproLife CX Basal Medium	正常ヒト子宮頸部上皮細胞基礎培地 容量: 485ml、pH7.5±0.2
LUK-LS1116	ReproLife CX LifeFactors	LS-1116	ReproLife CX LifeFactors kit	正常ヒト子宮頸部上皮細胞増殖用添加剤セット 500ml用 1本ずつ 10種類 (表3)

- LIFELINE 製の基礎培地の容量は、各細胞によって異なります。
- ReproLife BM は、L-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。ReproLife 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 ReproLife Comp kit または ReproLife CX 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。
- 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	
LKR-LS1031	L-Glutamine LifeFactor K	LS-1031	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 2 増殖添加剤:ReproLife LifeFactors の構成

	溶液濃度	添加量	最終濃度
①L-グルタミン	200mM	15ml	6mM
②エピネフリン	1mM	0.5ml	1 μ M
③ハイドロコチゾン(Hydrocortisone Hemisuccinate)	100 μ g/ml	0.5ml	100ng/ ml
④rh EGF	5 μ g/ml	1.0ml	10ng/ml
⑤インスリン	5mg/ml	1.0ml	10 μ g/ml
⑥トランスフェリン	5mg/ml	1.0ml	10 μ g/ml
⑦BPE (製造元名:ExtractP LifeFactor)	-	4.0ml	0.8% V/V
⑧GA(ケンタマイシン、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 3 増殖添加剤:ReproLife CX LifeFactors の構成

	溶液濃度	添加量	最終濃度
① HLL Supplement LifeFactor	HSA(ヒト血清アルブミン) 200mg/ml リノール酸 240 μ M レシチン 240 μ g/ml	1.25 ml	HSA(ヒト血清アルブミン) 500 μ g/ml リノール酸 0.6 μ M レシチン 0.6 μ g/ml
② インスリン	5mg/ml	0.5ml	5 μ g/ml
③ rh EGF	5 μ g/ml	0.5ml	5ng/ml
④ L-グルタミン	200mM	15ml	6mM
⑤ エピネフリン	1mM	0.5ml	1 μ M
⑥ BPE (製造元名:ExtractP LifeFactor)	-	2.0ml	0.4% V/V
⑦ ハイドロコチゾン(Hydrocortisone Hemisuccinate)	100 μ g/ml	0.5ml	100ng/ ml
⑧ トリヨードサイロニン	10 μ M	0.5ml	10nM
⑨ トランスフェリン	5mg/ml	0.5ml	5 μ g/ml
⑩ GA(ケンタマイシン、アンフォテリシン)	G: 30mg/ml	0.5ml	30 μ g/ml
	A: 15 μ g/ml		15ng/ml

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 (ReproLife Comp Kit、ReproLife CX Comp Kit) を用いた培養系

細胞植え込み : パ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。

細胞継代 : 継代培養を成功させるためには、**85-100%コンフルエント**で継代してください。
本製品は、継代時の細胞被覆率(コンフルエンス)が他のヒト細胞種とは異なりますので、ご注意ください。

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。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。

トリプシンの添加から**約 2-5 分後(※:ヒト生殖系(女性)上皮細胞およびヒト子宮頸部上皮細胞の場合)**、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。)

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。

<参考>

ヒト生殖系(女性)上皮細胞および**ヒト子宮頸部上皮細胞**は 5,000 個/cm² で凍結細胞を植え込むと約 5-7 日で 85-100% コンフルエントになります。4 次培養では大部分の細胞は上皮細胞様形態をもち、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、85-100% コンフルエントで継代してください。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。

4. 培地・添加剤の保存安定性と品質管理

表 4 培地・増殖添加剤の保存安定性

	0°C未満	4°C冷蔵	37°C以上
ReproLife BM	凍結不可	ラベルに記載の期日まで	不可
ReproLife CX BM	凍結不可	ラベルに記載の期日まで	不可
ReproLife LifeFactors	-20°C:ラベルに記載の期日まで※	解凍後 1 週間	不可
ReproLife CX LifeFactors	-20°C:ラベルに記載の期日まで※	解凍後 1 週間	不可
ReproLife Comp kit(添加剤混合後)	凍結不可	2 週間	不可
ReproLife CX 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“正常ヒト子宮内膜上皮細胞(製品番号:KU-4009)”、“正常ヒト腔管内上皮細胞(製品番号:KU-4109)”、“正常ヒト子宮頸部上皮細胞(製品番号:KU-4209)”のいずれかの細胞を用いて細胞密度 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 正常ヒト生殖系(女性)上皮細胞および正常ヒト子宮頸部上皮細胞の性能

解凍・継代培養時の推奨播種密度	5,000 個/cm ²
1 パイアルからの播種総面積	約 100cm ² (T-25 フラスコ 換算で約 4 個)
保証継代回数	5 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 HEuEC	4	5,000	5-7	24,000	5	5,000	5-7	30,000
凍結 HVEC	4	5,000	5-7	24,000	5	5,000	5-7	30,000
凍結 HCxEC	4	5,000	5-7	24,000	5	5,000	5-7	30,000

- 細胞の品質管理は、凍結 HEuEC および HVEC には「ReproLife Comp kit」培地を、凍結 HCxEC には「ReproLife CX Comp kit」培地を用いて行っています。
- 凍結 HEuEC、凍結 HVEC および凍結 HCxEC は 3 次凍結細胞で、4 次培養細胞(解凍直後の培養細胞)及び、5 次培養細胞(4 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 5)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き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/>