

Normal Human iPS Cell-derived Neural Stem Cells  
(iPS XCL-1 NSC, male)  
正常ヒト iPS 細胞由来神経幹細胞関連  
製品情報

**警告****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。

## 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			
KI-4009	iPS XCL1 NSC, male	IC-0001	XCL-1 NSC	正常ヒトiPS細胞由来神経幹細胞	凍結 バイアル	細胞数:100万個以上 容 量 :およそ 1mL

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またはウェブサイトをご参照下さい。
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。

### 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、ドライアイスを含めて梱包し、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。



凍結細胞を扱う際には必ず保護眼鏡を着用してください。温度上昇によりバイアル中の液体窒素が急激に揮発しバイアルから吹き出ることがあります。液体窒素が目に入ると失明の危険があります。



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℃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。

- (4) 到着後すぐに使用される場合は、本説明書の細胞培養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。

## 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	
LIC-LL0070	StemLife NSC Comp Kit	LL-0070	StemLife NSC Medium Complete Kit	正常ヒト iPS 細胞由来神経幹細胞用培地(液体) 下記、LWB-LM0011 と LIK-LS1105 のセット
LWB-LM0011	StemLife BM	LM-0011	StemLife Basal Medium	正常ヒト幹細胞基礎培地 容量: 485mL、pH7.8±0.3
LIK-LS1105	StemLife NSC LifeFactors	LS-1105	StemLife NSC LifeFactors kit	正常ヒト iPS 細胞由来神経幹細胞増殖用添加剤セット 500mL用 1本ずつ5種類(表2)
LIC-LL0073	StemLife NSC Comp Kit + Fibronectin	LL-0073	StemLife NSC Medium + Fibronectin Kit	正常ヒト iPS 細胞由来神経幹細胞用培地(液体)セット 上記 LIC-LL0070 と下記 LQR-CM0098 のセット
LQR-CM0098	Fibronectin	CM-0098	Fibronectin	正常ヒト iPS 細胞由来神経幹細胞増殖用接着因子 Fibronectin 溶液(0.1mg/mL) 10 mL

1. StemLife BM は、L-アラニル-L-グルタミン、フェノールレッド<sup>®</sup>(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 NSC Comp Kit および StemLife NSC Comp Kit + Fibronectin 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。
2. 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。
3. 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。
4. 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。

### 製品の受け入れ

基礎培地および Fibronectin 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、冷蔵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も、冷凍状態であれば性能に問題はありません。

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
LQR-LS1009	Phenol Red LifeFactor	LS-1009	Phenol Red LifeFactor	フェノールレッド <sup>®</sup>

表 2 増殖添加剤: StemLife NSC LifeFactors (LIK-LS1105) の構成

	溶液濃度	添加量	最終濃度
① rh EGF	5 μg/mL	1.0mL	10ng/mL
② L-アラニル-L-グルタミン	200mM	6mL	2.4mM
③ NeuraFactor LifeFactor	-	10mL	2% V/V
④ rh FGFb	5 μg/mL	2.0mL	20ng/mL
⑤ GA(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

### 3. 細胞培養

推奨方法 LIFELINE 製培地(StemLife NSC Comp Kit + Fibronectin)を用いた培養系

本製品 iPS XCL1 NSC, male (KI-4009) 1 バイアルから播種できる培養面積は約 25cm<sup>2</sup> (T-25 フラスコ 換算で約 1 個)です。

コーティング: 細胞(凍結細胞、継代培養細胞)の植え込みには、予め接着因子として Fibronectin をコーティングした培養容器が必要です。

- <手順> ①培養容器に容器の培養面積 25cm<sup>2</sup>あたり 2 mlの Fibronectin (LQR-CM0098)を入れ、培養面を覆います。  
 ②37°Cで 3 時間以上または一晩静置した後、Fibronectin 吸引除去します。洗浄は不要です。  
 ③培養面が乾燥しないよう速やかに StemLife NSC Comp Kit 培地を培養容器に入れます。StemLife NSC Comp Kit 培地にはあらかじめ増殖添加剤を添加しておき、培養容器には培養面積 5 cm<sup>2</sup>あたり 1mlの割合で入れてください。  
 ④培地を入れた培養容器をインキュベーター(37°C、5% CO<sub>2</sub>、加湿)に入れ、フラスコはキャップを緩めて、少なくとも 30 分間インキュベートします。

細胞植え込み: バイアル中の細胞浮遊液は希釈せずに、40,000 個/cm<sup>2</sup> (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。播種した培養容器を 37°C、5% CO<sub>2</sub> インキュベーターに入れます。付着後(播種後約 4~36 時間)に培地交換を行い凍結液成分を除去します。

細胞継代 : 細胞は 100%コンフルエントで、なおかつ活発な増殖が確認できれば継代可能です。本細胞はコンフルエントになっても接触阻害されません。細胞は播種後 3~4 日で集密状態に達した後に継代することを推奨します。

継代に使用する細胞剥離酵素には、Accutase (Innovative Cell Technologies, Inc. Cat# AT104) をメーカーの取扱説明書に従って使用することを推奨します。

- <手順> ①継代後の再懸濁に必要となる StemLife NSC Comp Kit 培地 2-5 mlをあらかじめ温めておきます。また継代培養用の培養器を上記「コーティング」に従ってあらかじめインキュベートしておきます。  
 ②培養中の容器から培地を吸引します。なお酵素を添加する前に、ヘパス緩衝液で容器をすすぐ必要はありませんが、任意の工程として実施してもかまいません。容器の培養面積 25cm<sup>2</sup>あたり 2 mlの Accutase を添加します。すべての細胞が Accutase で覆われるように、容器を穏やかに傾けてください。細胞を顕微鏡で注意深く観察しながら、細胞が丸くなると、細胞は容器から剥がれる状態です。細胞の集密度で変化しますが 1~3 分かかります。培養容器の側面を手で軽く叩いて細胞をはがします。細胞を顕微鏡で観察して、細胞がはがれたことを確認します。ピペットを用いた無菌操作により、滅菌した遠心管へ細胞を移します。培養容器を 5cm<sup>2</sup> 当たり少なくとも 1 mlのヘパス緩衝液ですすぎ、細胞を滅菌遠心管にピペットで移して残りの細胞を集めます。培養容器にまだ付着している細胞がないか顕微鏡で確認し、必要ならば、培養容器からすべての細胞を採取するために上記の手順を繰り返します。  
 ③細胞を 150 x g で 3~5 分間遠心分離します。遠心上清を吸引除去します。①で準備した予め温めた培地を 2 または 5 mlピペットを使って添加し、穏やかにピペッティングで再懸濁します。血球計で細胞数を数えます。上記「コーティング」手順および①で準備した培養プレートに、1cm<sup>2</sup> 当たり 40,000 細胞(または 1:3 ~1:6 の分割比)で再度播種します。

### 4. 培地・増殖添加剤の保存安定性と品質管理

表 3 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
StemLife BM Fibronectin	凍結不可	ラベルに記載の期日まで	不可
StemLife NSC LifeFactors	-20°C:ラベルに記載の期日まで※	解凍後 1 週間	不可
StemLife NSC 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。細胞増殖性試験では、弊社“正常ヒトiPS細胞由来神経幹細胞(製品番号: KI-4009)”を細胞密度 40,000 個/cm<sup>2</sup> 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 4 正常ヒトiPS細胞由来神経幹細胞の性能

解凍・継代培養時の推奨播種密度	40,000 個/cm <sup>2</sup>
1バイアルからの播種総面積	約 25cm <sup>2</sup> (T-25 フラスコ 換算で約 1 個)
保証継代回数	凍結バイアル融解後の培養と1回継代後の培養まで

## 6. 毒劇物・危険物

該当物はありません。

## 7. 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(オートクレーブにて 121℃、15 分)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。

## 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。

## 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/>

‘22.12 ©