

取扱説明書番号: BMMN-832-03-22007-01

Fibrocell

正常ヒト繊維芽細胞培養関連製品

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rahウ		LIFELINE		仕 様		
製品番号	製品名	製品番号	製品名			
KF-4009	凍結 NHDF(NB)	FC-0001	HDFn	正常ヒト新生児包皮 繊維芽細胞	凍結 バイアル	細胞数: 50 万個以上 容量: およそ 1ml
KF-4109	凍結 NHDF(AD)	FC-0024	HDFa	正常ヒト成人皮膚 繊維芽細胞		
KF-4209	凍結 NHLF	FC-0049	Lung Fibroblasts	正常ヒト成人肺 繊維芽細胞		
KF-4309	凍結 NHGF	FC-0095	Gingival Fibroblasts	正常ヒト人口腔 繊維芽細胞		
KF-4509	凍結 HUtF	FC-0076	Uterine Fibroblasts	正常ヒト子宮 繊維芽細胞		
KF-4609	凍結 NHBF	FC-0050	Bladder Fibroblasts	正常ヒト膀胱 繊維芽細胞		
KF-4709	凍結 HScF	FC-0098	Scleral Fibroblasts	正常ヒト強膜 繊維芽細胞		

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。

2. LIFELINE 製培地

クrahウ		LIFELINE		仕 様
製品番号	製品名	製品番号	製品名	
LFC-LL0001	FibroLife Comp kit	LL-0001	FibroLife Serum-Free Medium Complete kit	正常ヒト皮膚繊維芽細胞増殖用無血清液体培地 下記、LFB-LM0001 と LFK-LS1010
LFC-LL0011	FibroLife S2 Comp kit	LL-0011	FibroLife S2 Medium Complete kit	正常ヒト皮膚繊維芽細胞増殖用低血清液体培地 下記、LFB-LM0001 と LFK-LS1038
LFB-LM0001	FibroLife BM	LM-0001	FibroLife Basal Medium	正常ヒト皮膚繊維芽細胞用基礎培地 容量: 480ml、pH7.4±0.2
LFK-LS1010	FibroLife LifeFactors	LS-1010	FibroLife LifeFactors kit	正常ヒト皮膚繊維芽細胞用増殖添加剤セット 500ml用 無血清タイプ 1本ずつ 8種類 (表 2)
LFK-LS1038	FibroLife S2 LifeFactors	LS-1038	FibroLife S2 LifeFactors kit	正常ヒト皮膚繊維芽細胞用増殖添加剤セット 500ml用 低血清タイプ 1本ずつ 7種類 (表 3)

1. LIFELINE 製の基礎培地の容量は、各細胞によって異なります。
2. FibroLife 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。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 Comp kit または、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。
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。必要量を培地に添加してください。
5. 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	
LFR-LS1006	L-Glutamine LifeFactor F	LS-1006	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: FibroLife LifeFactors の構成

	溶液濃度	添加量	最終濃度
①L-グルタミン	200 mM	18.75ml	7.5mM
②hEGF/TGF β 1	5 μ g/ml, 30ng/ml	0.5ml	5ng/ml, 30pg/ml
③hFGF-B	5 μ g/ml	0.5ml	5ng/ml
④アスコルビン酸	50mg/ml	0.5ml	50 μ g/ml
⑤ハイドロコチゾン ※水溶性溶媒	1mg/ml	0.5ml	1 μ g/ml
⑥HLL 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
⑦インスリン	5 mg/ml	0.5ml	5 μ g/ml
⑧GA(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 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	200 mM	18.75ml	7.5mM
②hFGF-B	5 μ g/ml	0.5ml	5ng/ml
③インスリン	5 mg/ml	0.5ml	5 μ g/ml
④アスコルビン酸	50mg/ml	0.5ml	50 μ g/ml
⑤ハイドロコチゾン(溶媒: 水溶性)	1mg/ml	0.5ml	1 μ g/ml
⑥FBS	—	10 ml	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 μ g/ml
	A: 15 μ g/ml		15ng/ml

表 4 繊維芽細胞用添加剤の組成比較

製品名	FibroLife LifeFactors	FibroLife S2 LifeFactors
製品番号	LFK-LS1010	LFK-LS1038
血清	無血清	低血清
FBS	—	2% V/V
hEGF	5ng/ml	—
TGFβ 1	30pg/ml	—
ハイドロコチゾン	1 μg/ml	1 μg/ml
hFGF-B	5ng/ml	5ng/ml
HLL LifeFactor	HSA(ヒト血清アルブミン) 500 μg/ml リノール酸 0.6 μM レシチン 0.6 μg/ml	—
インスリン	5 μg/ml	5 μg/ml
アスコルビン酸	50 μg/ml	50 μg/ml
L-グルタミン	7.5mM	7.5mM
抗菌剤	ゲンタマイシン 30 μg/ml アンフォテリシン 15ng/ml	ゲンタマイシン 30 μg/ml アンフォテリシン 15ng/ml

(表示は培地中の最終濃度です)

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 : 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 1-2 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。

<参考>

繊維芽細胞は 2,500 個/cm² で凍結細胞を植え込むと 5~6 日で 80%コンフルエントになります。2 次培養で細胞密度が低いとき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。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 5 培地・添加剤の保存安定性

	0°C未満	4°C冷蔵	37°C以上
FibroLife BM	凍結不可	ラベルに記載の期日まで	不可
FibroLife LifeFactors FibroLife S2 LifeFactors	-20°C:ラベルに記載の期日まで※	解凍後 1 週間	不可
FibroLife Comp kit (添加剤混合後) FibroLife S2 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“正常ヒト新生児包皮繊維芽細胞（製品番号：KF-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。

5. 細胞の性能と品質管理基準

表 6 正常ヒト繊維芽細胞の性能

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)
保証継代次数	3 次培養まで

表 7 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 NHDF(NB) 凍結 NHDF(AD)	2	2,500	5-6	24,000	3	2,500	5-7	30,000
凍結 NHLF 凍結 NHGF 凍結 HUtF 凍結 NHBF 凍結 HScF	3				4			

- 細胞の品質管理は「FibroLife S2 Comp kit」培地にて行っています。
- 製品は凍結細胞解凍直後の培養細胞(NHDF(NB)と NHDF(AD)は2次培養細胞、NHLF、NHGF、HUtF、NHBF および HScF は3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(NHDF(NB)と NHDF(AD)は 3 次培養細胞、NHLF、NHGF、HUtF、NHBF および HScF は4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 7)を超えての培養次数(NHDF(NB)と NHDF(AD)は3次培養を超えて、NHLF、NHGF、HUtF、NHBF および HScF は 4 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。

6. 毒劇物・危険物について

該当物はありません。

7. 免責事項

- (1) 使用期限を超過した製品の使用、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なります。
- (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 ©