

Melanocell

正常ヒト表皮メラニン細胞培養関連製品

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			
KM-4009	凍結 NHEM(NB)	FC-0019	HEMn	正常ヒト新生児包皮表皮メラニン細胞	凍結 バイアル	細胞数: 50万個以上 容 量: およそ 1ml
KM-4109	凍結 NHEM(AD)	FC-0030	HEMa	正常ヒト成人表皮メラニン細胞		
KM-4302	凍結 NHEM-HP(NB)-4'	-	-	正常ヒト新生児包皮表皮メラニン細胞 -Highly Pigmented- ドナー: African American		

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: 弊社カタログ又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「6. 細胞の性能と品質管理基準」をご覧ください。
5. 各ロットには、ドナーの人種情報がございます。旧製品分類との整合性は表 1 をご参照ください。人種情報は、ドナーの自己申告によるもので遺伝的に調べられたものではありません。ロットによって度合いが異なる場合がございますので、必ずしも表 1 と一致することを保証するものではありません。予めご了承くださいませよう、お願い申し上げます。

表1 旧製品分類との整合例

旧製品分類	ドナーの人種
Lightly	Caucasian
Lightly ~ Moderately.	Asian/Caucasian、Asian、Hispanic
Moderately ~ Darkly.	Caucasian/African American
Darkly	African、African American

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	
LMC-LL0027	DermaLife M Comp kit	LL-0027	DermaLife M Medium Complete kit	正常ヒト表皮マリン細胞増殖用低血清液体培地 新生児由来細胞用 下記、LKB-LM0004 と LKM-LS1041 のセット
LMC-LL0039	DermaLife Ma Comp kit	LL-0039	DermaLife Ma Medium Complete kit	正常ヒト表皮マリン細胞増殖用低血清液体培地 成人由来細胞用 下記、LKB-LM0004 と LKM-LS1063 のセット
LKB-LM0004	DermaLife BM	LM-0004	DermaLife Basal Medium	正常ヒト皮膚表皮細胞用基礎培地 容量:485mL、pH7.5±0.2
LMK-LS1041	DermaLife M LifeFactors	LS-1041	DermaLife M LifeFactors kit	正常ヒト表皮マリン細胞増殖添加剤セット 500mL用 1本ずつ7種類(表3)
LMK-LS1063	DermaLife Ma LifeFactors	LS-1063	DermaLife Ma LifeFactors kit	正常ヒト表皮マリン細胞増殖添加剤セット 500mL用 成人由来細胞用 1本ずつ8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。
- DermaLife BM は、L-グルタミン、フェノールレッド(表2)が含まれておりません。DermaLife 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 DermaLife M Comp kit または、DermaLife Ma 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「5. 培地・添加剤の保存安定性と品質管理」をご覧ください。

表2 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3 増殖添加剤: DermaLife M 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 μM
③インスリン	5mg/mL	0.5mL	5 μg/mL
④StiMel 8 LifeFactor (BPE、FBS、hFGF-B、ハイトロコーチゾン、トランスフェリン、hEGF、インドセリンを含む)	-	5 mL	1% V/V
⑤アスコルビン酸	50mg/mL	0.5mL	50 μg/mL
⑥塩化カルシウム溶液	0.14M	0.5mL	0.2mM
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: DermaLife Ma 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インスリン	5mg/ml	0.5ml	5 μ g/ml
④StiMel 8 LifeFactor (BPE、FBS、hFGF-B、ハイドロコチゾン、 トランスフェリン、hEGF、エンドセリン-1 を含む)	-	5 ml	1% V/V
⑤アスコルビン酸	50mg/ml	0.5ml	50 μ g/ml
⑥TM3 LifeFactor (ヘアシト増殖性因子 1 種を含む)	-	1 ml	0.2% V/V
⑦塩化カルシウム溶液	0.89M	840 μ l	1.5mM
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

3. クラボウ製特注増殖添加剤セット

製品番号	製品名	仕様
KM-6350	HMGS 特注増殖添加剤セット	低血清表皮メラニン細胞増殖添加剤セット 500ml用 1本ずつ8種類 (表5)

<注意>本増殖添加剤セットは、Thermofisher社のメラニン細胞用ですので、Thermofisher社製基礎培地 Medium254 と組み合わせてお使いください。当社取扱いのライフライン社のメラニン細胞に対してはお使いいただけません。本増殖添加剤セットと DermaLife BM との組み合わせでお使いいただいた場合でも、細胞はほとんど増殖しませんのでご注意ください。

表5 HMGS 特注増殖添加剤セットの構成

	溶液濃度	添加量	最終濃度
①ウシ脳下垂体抽出液(BPE)	-	2 ml	0.4% V/V
②ウシ胎児血清(FBS)	-	2.5 ml	0.5% V/V
③ヒト組換え型塩基繊維芽細胞増殖因子(hFGF-B)	3 μ g/ml	0.5 ml	3 ng/ml
④ハイドロコチゾン(Hydrocortisone Hemisuccinate)	0.24mg/ml	0.5 ml	0.24 μ g/ml (5x10 ⁷ M)
⑤インスリン	5mg/ml	0.5 ml	5 μ g/ml
⑥トランスフェリン	5mg/ml	0.5 ml	5 μ g/ml
⑦PMA 危険:溶媒 DMSO 可燃性	10 μ g/ml	0.5 ml	10ng/ml
⑧ヘアリン	3mg/ml	0.5 ml	3 μ g/ml

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. 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. 保存安定性は、本資料の「5. 培地・添加剤の保存安定性と品質管理」をご覧ください。

表6 メラニン細胞用添加剤の組成比較

製品名	DermaLife M LifeFactors	DermaLife Ma LifeFactors	HMGS 特注増殖添加剤セット
製品番号	LMC-LL0027	LMC-LL0039	KM-6350
用途	新生児由来細胞用	成人由来細胞用	新生児由来細胞用
BPE	0.4% V/V(※1)	0.4% V/V(※1)	0.4% V/V
FBS	(※1)	(※1)	0.5% V/V
hFGF-B	(※1)	(※1)	3ng/ml
ハイドロコチゾン	(※1)	(※1)	5×10^{-7} M
トランスフェリン	(※1)	(※1)	5 μ g/ml
hEGF	(※1)	(※1)	-
エンドセリン-1	(※1)	(※1)	-
インスリン	5 μ g/ml	5 μ g/ml	5 μ g/ml
PMA (危険: 溶媒 DMSO 可燃性)	-	-	10ng/ml
ヘパリン	-	-	3 μ g/ml
L-グルタミン	6mM	6mM	-
エピネフリン	1 μ M	1 μ M	-
StiMel8 LifeFactor (BPE、FBS、hFGF-B、 ハイドロコチゾン、トランスフェリン、 hEGF、エンドセリン-1 を含む)	1% V/V	1% V/V	-
アスコルビン酸	50 μ g/ml	50 μ g/ml	-
TM3 LifeFactor (ペプチド増殖性因子 1 種を含む) (※2)	-	0.2% V/V	-
塩化カルシウム	0.2mM	1.5mM	-
抗菌剤(ゲンタマイシン、アンフォテリシン)	G: 30 μ g/ml A: 15ng/ml	G: 30 μ g/ml A: 15ng/ml	-

※1 StiMel8 LifeFactor に含有(BPE 以外の濃度は非開示です。)

(表示は培地中の最終濃度です)

※2 TM3 LifeFactor 中のペプチド名は非開示です。

4. 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、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 : 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。

<参考>

メラニン細胞 NHEM(NB)では 5,000 個/cm²で凍結細胞を植え込むと 7-9 日で 80%コンフルエントになります。3 次培養では大部分の細胞は双極性の形態を持っています。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、メラニン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、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。

5. 培地・添加剤の保存安定性と品質管理

表7 培地・添加剤の保存安定性

	0℃未満	4℃冷蔵	37℃以上
HMGS 特注増殖添加剤セット	-20℃:ラベルに記載の期日まで※	解凍後一週間	不可
DermaLife BM	凍結不可	ラベルに記載の期日まで	不可
DermaLife M LifeFactors DermaLife Ma LifeFactors	-20℃:ラベルに記載の期日まで※	不可	不可
DermaLife M Comp kit(添加剤混合後) DermaLife Ma 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“正常ヒト新生児包皮表皮メラニン細胞(製品番号:KM-4009)または正常ヒト成人表皮メラニン細胞(製品番号:KM-4109)”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。

6. 細胞の性能と品質管理基準

表8 正常ヒト表皮メラニン細胞の性能

解凍・継代培養時の推奨播種密度	5,000 個/cm ²
1ハ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)
保証継代次数	4 次培養まで (NHEM(NB)、NHEM(AD))
	6 次培養まで (NHEM-HP (NB)-4 ')

表9 品質管理基準

	製品の培養次数	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 NHEM(NB)	2	3	5,000	7-9	24,000	4	5,000	7-9	30,000
凍結 NHEM(AD)	2	3	5,000	12-16	24,000	4	5,000	12-16	30,000
凍結 NHEM-HP(NB)-4 '	4	5	5,000	7-16	24,000	6	5,000	7-16	24,000

1. 細胞の品質管理は「DermaLife M Comp Kit」培地または「DermaLife Ma Comp Kit」にて行っています。
2. 本製品は凍結細胞では解凍直後の培養細胞 (NHEM(NB)と NHEM(AD))は 3 次培養細胞、NHEM-HP(NB)-4 'は 5 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 (NHEM(NB)と NHEM(AD))は 4 次培養細胞、NHEM-HP(NB)-4 'は 6 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 9)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。

7. 毒劇物について

該当物はありません

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。

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/>