



血管平滑筋細胞（ブタ）

Smooth Muscle Cells (Porcine Aorta)

【 Code : PSMC010 】

平成26年5月作成

※本マニュアルをご精読の上、研究目的にのみご使用ください。

血管平滑筋細胞は血管壁の中膜に存在し、血管の収縮を担う血管の主要細胞です。通常は収縮型（平滑筋 α アクチンが発達した表現型）で存在していますが、合成型と呼ばれる脱分化型では増殖が活発になることも知られています。血管の動脈硬化の研究をはじめ多くの血管研究にご利用ください。

構成内容

品名	品番	容量	保存方法
血管平滑筋細胞 (ブタ)	PSMC010	6×10^5 cells/vial	液体窒素 または-80°C

※受け取り後、直ちにご使用にならない場合は凍結細胞を液体窒素（または-80°C以下）にて保存してください

※本製品は第3継代になります。従ってご使用時に播種して第4継代目になります。

細胞の由来

ブタ大動脈（産地 日本）

専用メディウム（別売）

品名	品番	容量	保存方法
血管平滑筋細胞（ブタ）用 メディウム	PSMCM010	250 mL	-20°C

※専用メディウムには基本メディウムとして DMEM、添加因子として FBS・その他が含まれています。





細胞培養方法

※本マニュアルは 75cm² フラスコ用に作成しております。

<凍結細胞の培養方法>

(準備) 75cm² フラスコに培養用メディアムを 14mL 加え、5%CO₂ 存在下の 37°C インキュベータで 15 分間程度プレインキュベートしておきます。



凍結細胞のバイアルを 37°C 温水にて解凍します。この際、僅かに氷が残る程度で抑えてください。



解凍した細胞液を、培養用メディアム 9mL を含む 15mL 遠沈管に加えて混合し、800rpm で 5 分間遠心分離してください。



上清を除いた後、培養用メディアム 1mL を加えよく混和し、準備した 75cm² フラスコに播種し、5%CO₂ 存在下の 37°C インキュベータで培養してください

※その後は、サブコンフルエント（70~90%程度で）になりましたら継代または実験に使用してください。培地交換は 2~3 日に 1 回程度でおこなってください。

<培養細胞の継代方法>

75cm² フラスコでサブコンフルエントになった細胞を用意してください。



75cm² フラスコ内の培養液を吸引して除去した後、PBS(-)溶液 10mL を 75cm² フラスコに加え前後左右に振り細胞を洗浄し、その後洗浄後は吸引して除去してください。



トリプシン-EDTA 溶液 6mL を 75cm² フラスコに加え、1 分間ほど放置してください



顕微鏡で細胞が丸くなり剥がれたことを確認した後、培養用メディアム 2mL を 75cm² フラスコに加え、ピッティングで全て剥離させてください。



75cm² フラスコ内の細胞懸濁液を 15mL 遠心管に回収し、800rpm で 5 分間遠心分離した後、上清を除いてください。



培養用メディアム 1mL を加えピッティングして細胞懸濁液を作成してください。



細胞数をカウントした後に、0.7~1.4×10⁴ cells/cm² 程度になるように 75cm² フラスコに播種し、5%CO₂ 存在下の 37°C インキュベータで培養してください。

※その後は、サブコンフルエント（70~90%程度で）になりましたら継代または実験に使用してください。培地





交換は2~3日に1回程度でおこなってください。

推奨継代数

通常の培養では平滑筋細胞は初代の分化型（収縮型）から継代が進むと脱分化型（合成型）に形質変化していきます。本製品は第3継代(P3)の状態での凍結のため、解凍して第4継代(P4)になります。分化型の平滑筋細胞としてはP4~P7までは、増殖速度等に変化なくご利用できます。

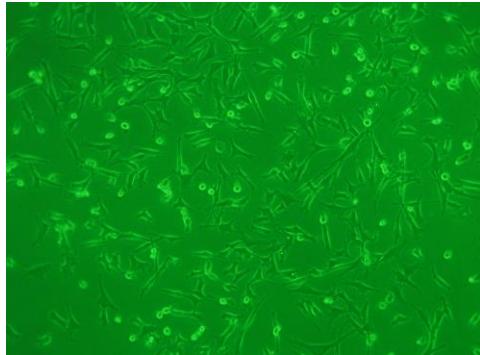


図1 位相差像

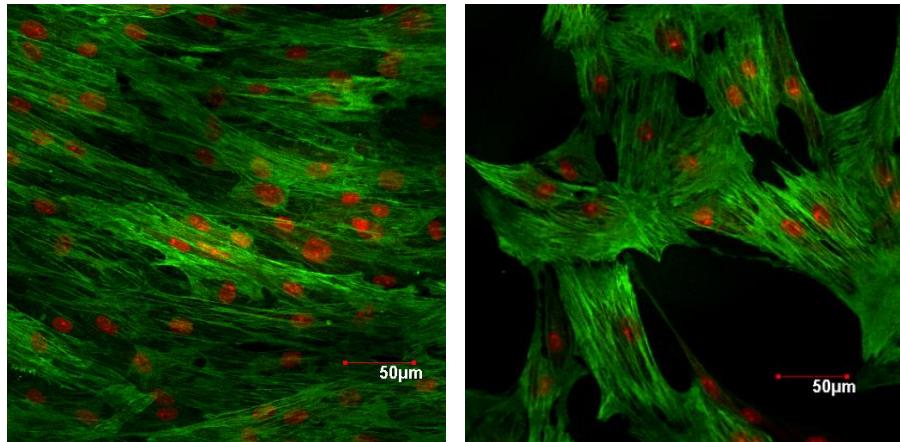


図2 平滑筋細胞マーカー α SMA による免疫染色像