



腎糸球体メサンギウム細胞 (ブタ)

Glomerular Mesangial Cells (Porcine)

【 Code : PGMC020 】

平成27年6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。

腎臓の糸球体組織内には、血管と血管の間にメサンギウム領域と呼ばれる血管を支える結合組織が存在します。メサンギウム細胞はその領域中に存在し、血管の収縮を調節することで血圧をコントロールしています。このメサンギウム細胞の働きが正常でなく、過剰な増殖や過剰な基質産生が生じると、糸球体腎炎などの疾患が生じることが知られています。こうした糸球体機能の研究を始め、多くの腎臓関連研究にご利用ください。

構成内容

| 品名 | 品番 | 容量 | 保存方法 |
|---------------------------|---------|------------------------------|-----------------|
| 腎糸球体内 メサンギウム細胞 (ブタ) | PGMC020 | 6×10 ⁵ cells/vial | 液体窒素 または-80℃ |

※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℃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 |
|------------------------------|----------|--------|------|
| 腎糸球体メサンギウム細胞 (ブタ) 用 メディウム | PGMCM020 | 250 mL | -20℃ |

※ 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 25cm² 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) 25cm² フラスコに培養用メディウムを 4mL 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、培養用メディウム 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、培養用メディウム 1mL を加えよく混和し、準備した 25cm² 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>

(準備) 必要数の 25cm² フラスコに培養用メディウムを 4mL 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。



25cm² 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。



25cm² フラスコ内の培養液を吸引して除去した後、PBS(-)溶液 4mL を 25cm² 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 4mL を 25cm² 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、培養用メディウムまたは FBS 1mL を 25cm² フラスコに加え、ピペッティングで全て剥離させてください。



25cm² 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。



培養用メディウム 1mL を加えピペ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、0.35~1.0×10⁴ cells/cm² 程度になるように 25cm² 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





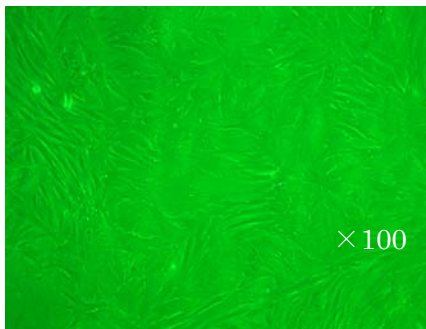
交換は 2~3 日に 1 回程度でおこなってください。

採取方法

本製品は、日本国内で生産されたブタから腎臓を摘出し、更に糸球体に分離した後、酵素分解法および接着能力差分法にて製造しています。純度の確認方法は、メサンギウム細胞マーカーである α -SMA (alpha Smooth Muscle Actin) および PDGFR (Platelet-Derived Growth Factor Receptor) が陽性 (+)。上皮細胞マーカーである CK18 (Cytokeratin 18) は陰性 (-) を確認しています。

推奨継代数

本
 品
 変
 化



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
 ます。推奨する細胞継代数としては P4~P10 までは、増殖速度等に
 なくご利用できます。

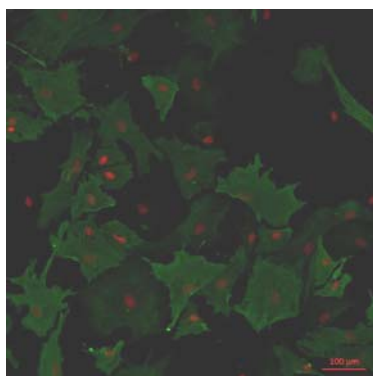
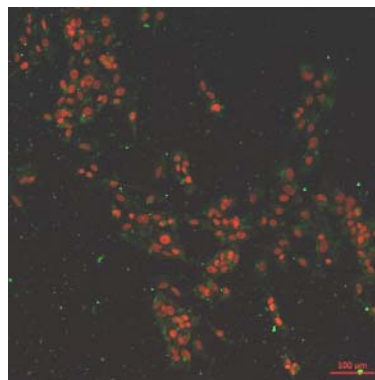


図 1 位相



差像

性



図 2 メサンギウム細胞陽性(+)マーカー
 (+)マーカー
 α SMA による免疫染色像
 (緑 : α SMA, 赤 : 細胞核)

図 3 メサンギウム細胞陽
 PDGFR による免疫染色像
 (緑 : PDGFR, 赤 : 細胞核)



図4 メサンギウム細胞陰性(-)マーカー
CK-18による免疫染色像
(緑 : CK-18, 赤 : 細胞核)