



初代細胞製品（培養細胞）

軟骨細胞培養キット F-8(ウサギ)

【Chondrocyte Culture kit F-8 (Rabbit), 品番 : CHC02】

2024年7月1日改訂

本製品は研究目的にのみご使用になれます。

I. 製品概要

現在、わが国では高齢化社会の到来に伴い関節障害により日常生活に支障をきたす人の数は、年々増加の一途をたどり人口の約1%に達しております。これら関節疾患の大部分は軟骨組織が損傷を受けたり壊死したりすることによって起こる変形関節症もしくは慢性関節リュウマチによるものがほとんどです。

本培養キットはウサギ関節軟骨組織から機能を損なうことなく初代培養した軟骨細胞と、その細胞を増殖、維持できる専用培地をキット化した商品です。軟骨細胞の機能解明、関節疾患治療薬の開発、軟骨再生実験などにご利用ください。

II. 使用前注意事項

本マニュアルを使用前に必ずご確認ください。

本製品はすべて【無菌操作】で実施して下さい。バイオセーフティーレベルは【レベル1】です。

本製品の培養には付属の専用メディアムをご使用下さい。

III. 製品の保証について

製品は培養された状態で納品されます。到着後すぐにCO₂インキュベーターに入れて培養を開始してください。

製品は保存できません。到着後速やかに実験にご使用ください。

製品は到着時又は翌日に細胞の状態を確認して下さい。

専用メディアム及び試薬を用いてマニュアル通りに培養された場合のみ、製品到着後の生育不良に関して保証いたします。

保証期限は【製品お受け取りから翌日まで】です。

また、増殖不良や分化不良に関しては、製品サポートまでお問い合わせ下さい。

メディアムや使用方法に変更を加えられた場合は、保証の対象になりませんのでご注意ください。

IV. 製品構成

構成	容量	本数
ウサギ関節軟骨細胞	12.5cm ² フラスコ	8枚
分化用メディアム	250 mL	1本

培地の主成分：RPMI1640、血清、抗生剤、その他

※専用メディアムは単品販売もごございます。

使用動物組織 : 日本白色種ウサギ・メスの関節軟骨

細胞採取日 : XXXX年XX月XX日

発送日 : XXXX年XX月XX日

Lot No. : XXX-X-XXX

V. 操作方法

※本製品は【1回継代可能】です。

培養方法

12.5cm² フラスコ内部に輸送用メディウムが充填されています。入荷後直ちに位相差顕微鏡にて細胞が剥がれていないことを確認してください。

↓

各フラスコから輸送用メディウムを残量が 2.5mL になるまで抜き取り、5%CO₂ 存在下の 37°C インキュベーターで 1 日間培養してください。

↓

各種の実験にご利用ください。

他の培養容器に継代でご利用される場合は下記の継代方法をご参考になしてください（継代は一回のみ行ってください。継代する場合は、納品当日もしくは翌日に行ってください）。

細胞培養方法、継代する場合

【準備するもの】

- ・滅菌済み平衡塩溶液(HBSS もしくは PBS(-))・・・予め保温した状態で使用してください。
- ・トリプシン-EDTA 溶液 (0.05%トリプシン, 0.53mM EDTA)
- ・実験に使用する培養用容器 (コラーゲン I コート済)

フラスコからメディウムを吸引除去し、滅菌済み平衡塩溶液 2.5mL でフラスコ内を洗浄してください（この操作を 2 回繰り返してください）。

↓

培養容器内の平衡塩溶液を吸引除去してください。

↓

室温に戻したトリプシン-EDTA 溶液 2mL を加えてフラスコ底面全体に行き渡らせた後、直ちに容器内のトリプシン溶液を吸引除去してください（この操作を 2 回繰り返してください）。

↓

容器を 37°C インキュベーターに静置して酵素処理を行なってください。細胞が丸くなったのを位相差顕微鏡で確認後、軽く手のひらでフラスコをたたき、細胞がフラスコから剥がれて流動する様子が観察されるまで酵素処理をおこなってください。

↓

細胞が剥がれたのを確認後、分化用メディウムで細胞を回収し、600×g で 10 分間遠心して上清を吸引除去してください。

↓

分化用メディウムを加えて細胞浮遊液を調製し、細胞数をカウントしてください。通常 0.2×10⁵cells/cm²～0.6×10⁵cells/cm² の細胞密度で培養してください。

VI. 参考文献

1. Young-Jo Kim, Robert LY Sah, Alan J Grpdzinsky, Anna HK Plaas, and John D Sandy. Mechanical Regulation of Cartilage Biosynthetic Behavior: Physical Stimuli. ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, (1994) 311: 1-12
2. I. Martin, G. Vunjak-Novakovic, J. Yang, R. Langer, and L. E. Freed. Mammalian Chondrocytes Expanded in the Presence of Fibroblast Growth Factor 2 Maintain the Ability to Differentiate and Regenerate Three-Dimensional Cartilaginous Tissue. Experimental Cell Research, (1999) 253: 681-688
3. C. A. Vacanti, M.D., R.Langer, Sc. D., B. Schloo, M.D., and J. P. Vacanti, M.D. Synthetic Polymers Seeded with Chondrocytes Provide a Template for New Cartilage Formation. SYNTHETIC POLYMERS FOR CARILAGE FORMATION, (1990) 88: 753-759
4. Woo Seob Kim, M.D., ph. D., Joseph p. Vacanti, M.D., Linda Cima, ph. D., David Mooney, ph. D., Joseph Upton, M.D., Wolfgang C. Puelacher, M.D., and Charles A. Vacanti, M.D. Cartilage Engineered in Predetermined Shapes Employing Cell Transplantation on Synthetic Biodegradable Polymers. GARTILAGE ENGINEERED IN PREDETERMINED SHAPES , (1993) 94: 233-237