



凍結初代細胞製品

# マウス心筋細胞

## 【 Mouse Cardiomyocyte, 品番 : CMC12C 】

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

心臓を構成している細胞群の一つである心筋細胞は、横紋を有する不随意筋で収縮と弛緩を繰り返して運動する細胞として知られています。心筋細胞の特徴である拍動は、様々なホルモンや薬物、電気刺激に反応するため、薬理的・電気生理学的なアッセイに幅広く利用することができます。

本製品の心筋細胞は、マウス胎児の心臓から様々な方法で大部分の非心筋細胞を取り除いた細胞群を凍結保存したものになります。この凍結細胞から起こした心筋細胞には拍動を観察することができます。

### 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。

本製品の培養には別売の専用メディウムをご使用下さい。

### III. 製品の保証について

細胞を液体窒素にて正しく保存し、専用メディウ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、培養開始後の増殖不良に関して保証致します。

保証期限は【製品お受け取りから6ヶ月以内】です。

メディウムや使用方法に変更を加えられた場合や、再凍結した細胞を使用された場合は、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	保存方法	有効期限
マウス心筋細胞 (凍結細胞)	2×10 <sup>6</sup> cells/vial (0.5mL/vial)	1本	液体窒素保存	6ヶ月

※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にて保存してください

### V. 細胞の由来

ICR マウス (胎児) の心臓から分離させた心筋細胞を含む細胞群

### VI. 専用メディウム&培養容器コート溶液 (別売)

品名	品番	容量	保存方法	有効期限
心筋細胞用培養メディウム	CMCM	500 mL	-20°C保存 (解凍後は4°C保存)	ボトル記載(-20°C保存) 解凍後3ヶ月(4°C保存)
フィブロネクチンコート溶液	SFN01	12 mL	-20°C保存 (解凍後は4°C保存)	ボトル記載(-20°C保存) 解凍後3ヶ月(4°C保存)

培地の主成分 : DMEM/F-12、血清、抗生剤、その他

## VII. 操作方法

※本製品は【継代不可】です。

### コーティング方法

※培養容器は細胞解凍の前に予めフィブロネクチンでコーティングしてください。

※コラーゲンIでコーティングした培養容器でも可能ですが、心筋細胞の接着がやや低下します。

#### 【準備するもの】

- ・培養用 24well プレート
- ・フィブロネクチンコート溶液（別売）

1. フィブロネクチン溶液を予め冷蔵（4°C）で解凍してください。
2. フィブロネクチン溶液を 1well あたり 0.5 mL ずつ入れてください。  
※ 他の培養容器に使用する場合は、培養面積 1 cm<sup>2</sup> あたり 0.25 mL 入れてください。
3. フィブロネクチン溶液が入っている培養容器を 37°Cインキュベーター内で一晩静置してください。
4. 使用直前に well 内のフィブロネクチン溶液を除去し、さらに well 内に滅菌水 1 mL を入れて洗浄してください。洗浄を 2 回した後に培養容器を使用してください。

### 細胞解凍・播種

※下記は、24well プレートで培養する場合のプロトコールになります。

※心筋細胞用培養メディウムは細胞の解凍前に予め、冷蔵で解凍しておいてください。

#### 【準備するもの】

- ・培養用 24well プレート（フィブロネクチンでコーティングしたもの）
- ・心筋細胞用培養メディウム
- ・滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 凍結細胞のバイアルを、37°C温水にて 75-80 秒間加温して解凍してください。
2. 解凍した細胞液は、予め 37°Cに加温した心筋細胞用培養メディウム 4.5 mL が入っている 15 mL 遠心管に移し混和した後、遠沈管内の培養メディウムを 1 mL 分取し、バイアルを共洗いして細胞液を回収してください。  
※37°Cに温めていないメディウムを使用した場合は、心筋細胞の生存率に大きく影響します。  
培養メディウムは必ず 37°Cに温めて使用してください。
3. 細胞懸濁液をフィブロネクチンコートした 24well プレートの 1 ウェルあたり 0.5 mL 播種し、5%CO<sub>2</sub> 存在下の 37°Cインキュベーターで培養してください。
4. 翌日、接着しなかった細胞を取り除くために 37°Cに保温した心筋細胞用培養メディウムで洗浄を数回行って下さい（1well あたり 0.5 mL）。洗浄後、1well あたり 0.5 mL のメディウムを加え、再度 5%CO<sub>2</sub> 存在下の 37°Cインキュベーターで培養してください。
5. 培地交換の頻度は、100%コンフルエントまでは 1 日おきに、それ以降は毎日行ってください。

※播種してから 2~3 日後から心筋細胞が拍動し始め、3~5 日後にコンフルエントになります。

※0.5mL 以上のメディウム量で培養すると拍動率の低下または拍動が停止する場合があります。

---

### **5-Bromo-2'-deoxyuridineでの培養方法**

心筋細胞の純度をより高めたい場合は 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を添加することをお勧め致します。BrdUを添加することで増殖能が高い非心筋細胞内に BrdU が取込まれ、細胞の増殖を抑えることができます。

#### **【準備するもの】**

・ 5-Bromo-2'-deoxyuridine (Sigma, 品番 : B-9285 または同等品) を 10mM になるように培養メディアウムで溶解し、ろ過滅菌してください (用時調製)。

1. 細胞解凍・播種方法の 1~2 を行います。
2. 24well プレート (フィブロネクチンコート済み) に 1well あたり細胞懸濁液 0.5 mL ずつ播種し、さらに 10 mM BrdU を 5 $\mu$ L 添加 (終濃度 0.1 mM) してから 5%CO<sub>2</sub> 存在下の 37°C インキュベーターで培養してください。
3. 翌日、37°C に保温した培養メディアウム (0.1mM BrdU を含む) で 1well あたり 0.5 ml ずつ培地交換してください。播種後 2~3 日間は BrdU を含む培養メディアウムで培養し、それ以降は BrdU を含まない培養メディアウムに交換し引き続き培養してください。

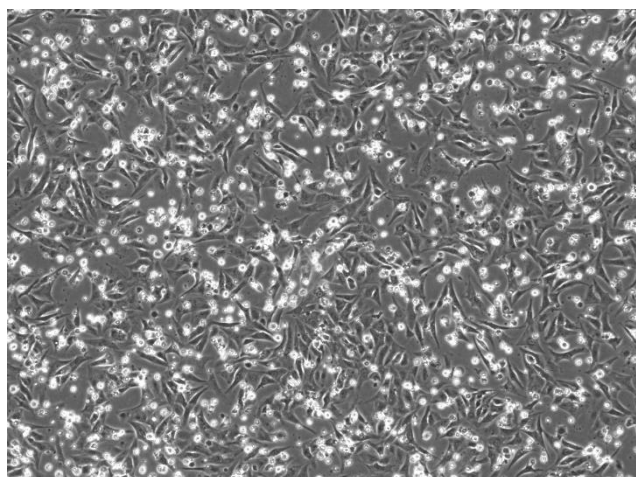


図 1.培養 1 日目