



凍結初代細胞製品

ブタ血管内皮細胞

【 Endothelial Cells (Porcine), 品番 : ENC01C 】

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

血管内皮細胞は、プロスタサイクリン、エンドセリン、酸化窒素などの血管作動性物質を産生して血管平滑筋の収縮・弛緩の調節機能を持つとともに、組織因子や t-PA の放出を介して血液凝固にも関与しており、動脈硬化や血栓症などの疾患に深く関わっております。

本製品は、ブタ大動脈由来の血管内皮細胞を継代・凍結したものです。Ac-LDL 取り込みにより血管内皮細胞であることを確認しております。循環器疾患や生活習慣病等の研究にご利用ください。

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
血管内皮細胞 (ブタ、第7継代)	5×10 ⁵ cells/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

ブタ大動脈

VI. 専用メディウム(別売)

品名	品番	容量	保存方法	有効期限
血管内皮細胞 培養用メディウム	ENCM	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)

培地の主成分：DMEM、血清、抗生剤、その他

VII. 操作方法

※本製品は【継代可能】です。

細胞解凍・播種

【準備するもの】

- ・25cm² フラスコもしくは実験に使用する培養容器
- ・血管内皮細胞培養用メディウム
- ※培養開始する前に予め培養用メディウムは解凍し、冷蔵保管してください。

1. 凍結細胞のバイアルを、37°C温水にて約2分間加温して解凍してください（小さな氷塊が残る程度）。
2. 解凍した細胞液は、培養用メディウム 10 mL が入っている 15 mL 遠沈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。
3. 4°C、200 ×g で5分間遠心してください。
4. 上清を除去し、培養用メディウム・10ml で懸濁後、4°C、200 ×g で5分間遠心してください。
5. 上清を除去し、培養用メディウムを加えて細胞懸濁液を調製し、25cm² フラスコ2枚もしくは1.0~1.5×10⁴ cells/cm² の密度で播種し、5%CO₂ 存在下の 37°Cインキュベーターで培養してください。
6. 培地交換は 37°Cに加温した培養メディウムを用いて、播種後翌日に1回、その後は2日に1回以上の頻度で培地を交換してください。
7. 80%コンフルエントに達したら（播種後2~3日目）継代してください。コンフルエントに達した後は細胞が遊離しやすくなりますのでご注意ください。

細胞継代

【準備するもの】

- ・80%コンフルエントになった細胞
- ・滅菌済み PBS(-) : Ca、Mg を含まない生理的リン酸緩衝液、予め室温に戻しておく。
- ・トリプシン溶液 : 0.05%トリプシン/0.02%EDTA を含む PBS(-)
- ・実験に使用する培養容器
- ・血管内皮細胞培養用メディウム

【25cm² フラスコの場合】

1. 80%コンフルエントになった細胞を CO₂ インキュベーターから取り出して下さい。
2. フラスコ内の上清を吸引除去し、室温に戻した滅菌済み PBS(-)5ml で2回洗浄してください。
3. 洗浄に用いた PBS(-)を吸引除去して下さい。
4. 室温に戻したトリプシン溶液 3ml を加えてフラスコ底面全体に行き渡らせたのち、余分なトリプシン溶液を吸引除去してください。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はがれて流動する様子が観察されるまでトリプシン処理を行ってください。
※ 細胞が剥れにくいときは、37°Cインキュベーターに数分間入れて加温してください。
※ 長時間（15分以上）のトリプシン処理は、細胞の状態が悪化することがあるので避けてください。
5. 細胞が剥がれたのを確認後、培養用メディウムで細胞を回収し、200 ×g で5分間遠心して上清を吸引除去してください。
6. 培養用メディウムを加えて細胞懸濁液を調製し、細胞数をカウントしてください。
7. 培養用メディウムで適宜希釈して、1.0~1.5×10⁴ cells/cm² の細胞密度で播種してください。翌日培地交換し、以降2日に1回以上の頻度で培地を交換してください。

VIII. 技術情報

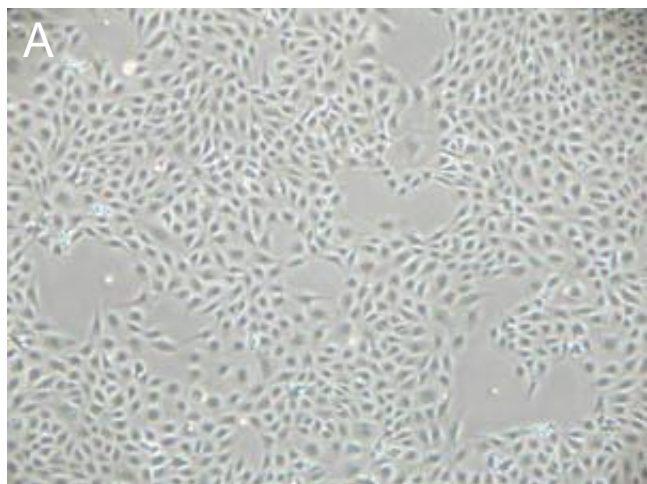


図1. 細胞形態

A. 位相差顕微鏡画像