

凍結初代細胞製品

# マウス頭蓋由来骨芽細胞

**【Mouse Osteoblast from cranial bone, 品番：OBC12C】**

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骨粗鬆症等の骨代謝異常疾患が年々増加の一途をたどっています。骨量は、骨芽細胞による骨形成と、破骨細胞による骨吸収とのバランスによってコントロールされています。本製品は、マウス頭蓋由来の骨芽細胞（凍結細胞）です。骨形成や骨代謝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	使用期限
マウス骨芽細胞 (凍結細胞)	1×10 <sup>6</sup> cells/vial	1本	液体窒素保存	6か月

※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 マウス新生児の頭蓋由来

## VI. 専用メディウム(別売)

品名	品番	容量	保存方法	使用期限
骨芽細胞用メディウム	OBCM	500 mL	-20℃保存 (解凍後は4℃保存)	ボトル記載(-20℃保存) 解凍後3か月(4℃保存)

培地の主成分：α-MEM、血清、抗生剤、その他

## VII. 操作方法

※本製品は【2回まで継代可能】です。

### 細胞解凍・播種

※下記は、25 cm<sup>2</sup> フラスコで培養する場合のプロトコールになります。

#### 【準備するもの】

- ・骨芽細胞用メディウム（品番：OBCM）
- ・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 2 分間加温して解凍してください。
2. 解凍した細胞液は、予め骨芽細胞用メディウム・10mL が入っている 15mL 遠心管に移し混和した後、遠沈管内のメディウムを 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、600 g で 5 分間遠心してください。
4. 上清を除去し、骨芽細胞用メディウムを 5mL 加え細胞浮遊液とします。
5. 細胞浮遊液・5ml を 25cm<sup>2</sup> フラスコ・1 個に播種し、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。
6. 翌日、保温した骨芽細胞用メディウムで培地交換し、任意の実験系に供してください。

※播種してから 2~3 日後にコンフルエントになります。

### 細胞継代

#### 【準備するもの】

- ・HBSS(-)もしくはPBS(-)
- ・0.05%トリプシン-0.53mM EDTA 溶液
- ・骨芽細胞用メディウム（品番：OBCM）
- ・滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 70~90%コンフルエントになった細胞を CO<sub>2</sub> インキュベーターから取り出して下さい。
2. 上清を吸引除去し、HBSS(-)もしくはPBS(-)を 5mL 添加し、フラスコを洗浄して下さい。（この操作を 2 回繰り返して下さい）。
3. HBSS(-)もしくはPBS(-)を吸引除去し、0.05%Trypsin-EDTA を 3mL を添加して培養表面を行き渡らせた後、直ちにフラスコ内のトリプシン-EDTA 溶液を吸引除去してください。  
フラスコを 37°C インキュベーターに静置して酵素処理をおこなってください。
4. 検鏡で細胞が丸くなるのを確認し、フラスコを軽くたたき培養面から細胞が剥がれるまで酵素処理をおこなって下さい（酵素処理時間は通常 2~3 分間程度）。

※トリプシンは細胞を損傷するため、剥離度合いを顕微鏡下で観察しながら、ほぼ全ての細胞が剥離したら速やかに次の処理に移して下さい。

5. フラスコ内に骨芽細胞用メディウムを加えて酵素処理を停止し、分散した細胞を遠心管に回収してください。
6. 4°C、600 g で 5 分間遠心してください。
7. 上清を除去し、骨芽細胞用メディウム加えて細胞浮遊液を調製した後に、血球計算盤で細胞数をカウントし、任意の実験系に適切な細胞密度になるように調整し播種してください。

※細胞密度を  $3.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> で播種した場合、2~3 日後にコンフルエントになります。