



Rat Visceral Adipocyte V-1

【 Catalog No.PMC-VAC01C 】

July 1, 2024

I. Product Overview

Mesenteric adipocytes, a type of visceral adipocytes, are located along the portal vein that transports nutrients absorbed from the intestinal tract to the liver (Fig. 1). Evidence has shown that excess fat accumulation in the visceral adipose tissue contributes to the pathogenesis of Type II diabetes, hypertension and atherosclerosis. The Rat Visceral Adipocyte Culture Kit contains preadipocytes isolated from rat mesentery and culture medium that induces differentiation of precursor cells into mature adipocytes, finally causes hypertrophy.

The product provides a convenient system for studying the mechanism of adipogenesis as well as for screening drugs that prevent metabolic syndrome such as obesity, diabetes and hypertension by blocking the processes of adipogenesis.

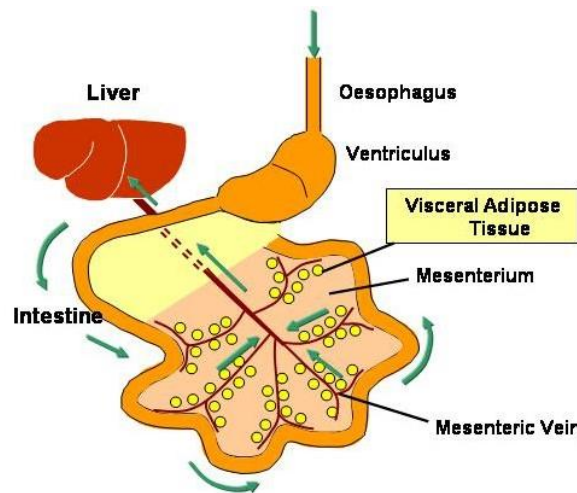


Figure1. Relationship of the positioning of mesenteric fat tissue

II. Precautions Before Use

Please make sure to review this manual before using the product.

Product should be used under [aseptic operation]. The biosafety level is [Level 1].

Please use the dedicated medium sold separately for culturing this product.

III. Product Warranty

We guarantee against growth failure after the start of culture only if cells have been properly stored in liquid nitrogen, and cultured according to the manual using the dedicated medium and reagents.

The warranty period is [within 6 months of receiving the product].

Please note that the warranty does not apply if there have been changes to the medium or the method of use, if re-frozen cells have been used.

IV. Components

Product Name	Size	Quantity	Storage Conditions	Stability
Visceral Preadipocytes, Rat	3 x 10 ⁶ cells/vial	1 vial	Liquid nitrogen storage	6 months

※ Store frozen cells in liquid nitrogen if not ready for use after receipt.

V. Dedicated Media (Serum Containing Media) (sold separately)

Catalog No.	Product Name	Size	Storage	Expiration
VACMR	Visceral Adipocyte Culture Medium Ver.1	250 mL	-20°C Freezer	- Written on the bottle
			4°C	3months after thawing
VACM2	Visceral Adipocyte Culture Medium Ver.2	250 mL	-20°C Freezer	- Written on the bottle
			4°C	3months after thawing

Culture Medium components: DMEM/F-12, FBS, antibiotics, etc.

※Medium component comparison

Medium component	Visceral Adipocyte Culture Medium Ver.1 (Cat No. VACMR)	Visceral Adipocyte Culture Medium Ver.2 (Cat No. VACM2)
Differentiation inducer	×	×
fatty acid	○	○
Serum	○	○
Insulin concentration	10,000 ng/mL	1 ng/mL
Growth factor	×	○

VI. Materials required but not provided

- Variable volume pipettes
- Culture plate, 24-well, flat bottom
- Visceral Adipocyte Culture Medium

VII. Protocols

1. Thaw the Visceral Adipocyte Culture Medium at 4°C
2. Thaw vials of frozen cells by warming them in 37°C warm water for 2 minutes.
3. Transfer thawed cell solution to a 15 mL centrifuge tube containing 10 mL of Visceral Adipocyte Culture Medium. Mix gently and centrifuge at 4°C at 200 x g for 5 minutes.
4. Remove the supernatant and re-suspend cells in 10 mL of Visceral Adipocyte Culture Medium and centrifuge at 4°C at 200 x g for 5 minutes.
5. Remove the supernatant and re-suspend the cell pellet in 12.5 mL of Visceral Adipocyte Culture Medium 6. Dispense 0.5 mL of cell suspension to each well of 24-well plate and incubate the plate at 37°C in a 5% CO₂ humidified incubator.
7. Gently add 0.5 ml of Visceral Adipocyte Culture Medium to each well of 24-well plate on the following day.
8. Carefully change the medium 1 ml per well on the second day after seeding.
9. Change the medium every other day. Be careful to not disturb the cell layer.
 - i. Approximately 3-4 days of culture, preadipocyte culture becomes confluent.
 - ii. Approximately 5 days of culture, cells turn to mature adipocytes.
 - iii. Approximately 8 days of culture, cells become hypertrophic and start detaching from the bottom of the well.

VIII. Technical information

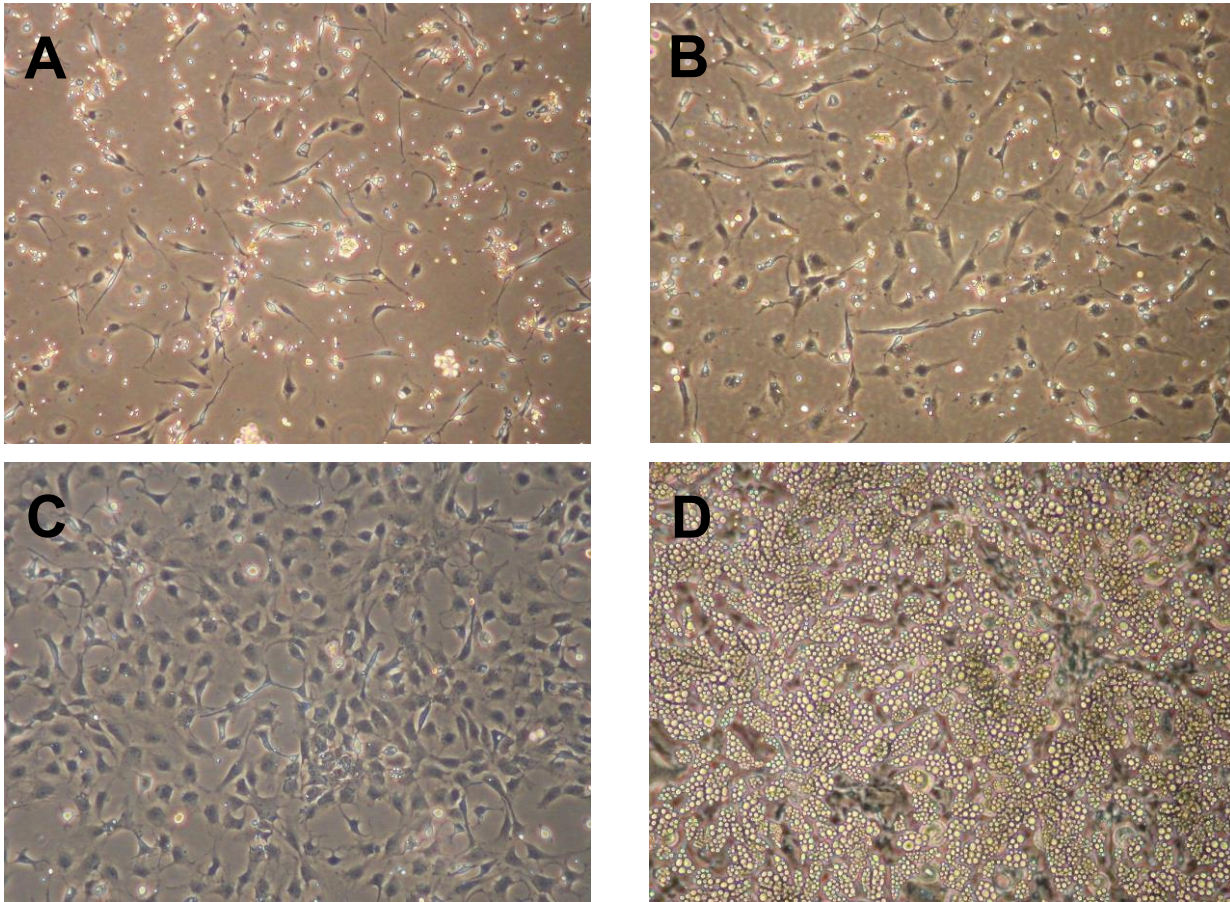


Figure 2. Cell morphology

A: Cells on the 1st day of culture, B: Cells on the 2nd day of culture, C: Cells on the 3rd day of culture, D: Cells on the 8th day of culture

凍結初代細胞製品

ラット内臓脂肪細胞 V-1

(Rat Visceral Adipocyte, 品番 : VAC01C)

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》

本製品はラットの腸間膜から採取した腸間膜脂肪前駆細胞と血管内皮細胞を含む細胞群です。独自開発した腸間膜脂肪細胞分化に最適化した専用メディウム(別売)で培養することにより、前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞までの全過程における研究にご使用できます。また、培養上清中のアディポネクチンを市販のELISAキットで簡便に測定することも可能です。生活習慣病発症のメカニズム解明、および抗肥満機能性食品素材の探索等にご使用ください。

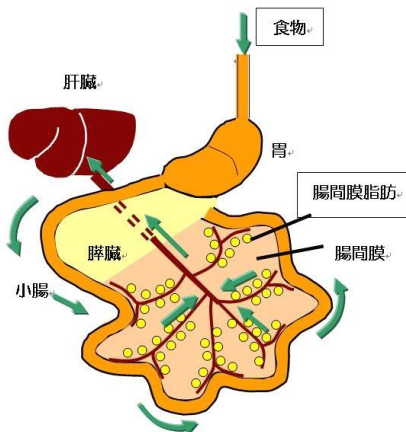


図1.腸間膜脂肪組織の位置関係

《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
ラット内臓脂肪細胞	3×10 ⁶ 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》

ラット腸間膜脂肪組織由来 (SD ラット、adult)

《VI. 専用メディアウム (別売)》

品名	品番	容量	保存方法	使用期限
内臓脂肪分化メディアウム Ver.1	VACMR	250 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 か月(4°C保存)
内臓脂肪分化メディアウム Ver.2	VACM2	250 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 か月(4°C保存)

培地の主成分：DMEM/F-12、血清、抗生剤、その他

※内臓脂肪分化メディアウム Ver.1 と Ver.2 の成分比較

成分内容	内臓脂肪分化メディアウム Ver.1	内臓脂肪分化メディアウム Ver.2
強制分化剤	無添加	無添加
脂肪酸	添加	添加
血清	添加	添加
インスリン濃度	10,000 ng/mL	1 ng/mL
その他グロースホルモン	無添加	添加 (生理的濃度)

《VII. 操作方法》

※本製品は【継代不可】です。

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。

※24well プレートで 1 枚に培養することができます。

【準備するもの】

- ・内臓脂肪分化メディアウム (Ver.1 もしくは Ver.2)
- ・細胞培養用 24well プレート
- ・滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 内臓脂肪分化メディアウムを 4°C であらかじめ融解しておきます。
2. 凍結細胞のバイアルを、37°C 温浴にて 75-90 秒間加温して解凍してください (小さな氷塊が残る程度)。
※チューブ内やフタに水がつかないようにご注意ください
3. 解凍した細胞液は、予め室温に戻したメディアウム 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アウムを 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。
4. 200×g、4°C で 5 分間遠心分離します。
5. 上清を除去し、内臓脂肪分化メディアウム 10 ml を添加してやさしくピペッティングし細胞を再浮遊させ、200×g、4°C で 5 分間遠心分離します
6. 上清を除去し、12.5 ml の内臓脂肪分化メディアウムを添加して細胞を浮遊させます。

- 24well プレートの各ウェルに 0.5 ml ずつ細胞を播種し、5% CO₂ 存在下の 37°C、インキュベータで培養します。
- 播種翌日、各ウェルに 37°C に加温した内臓脂肪分化メディウム 0.5 ml を静かに添加します。
※この時点では細胞の接着が弱く剥がれやすい状態ですので培地交換は行わないでください。
- 播種後 2 日目、37°C に加温したメディウムを用いて静かに培地交換します。
※細胞が剥がれやすい場合がありますので、培地交換は静かに行ってください。
- 以降の培地交換は 37°C に加温したメディウムを用いて、一日おきにおこなってください。
- 通常は播種後 3 日目にコンフルエント、4~5 日目に脂肪蓄積開始、7 日目に成熟期となります。
※8 日目ごろから細胞が培養容器から剥離し始めますので、長期間の培養はご注意ください。

《Ⅷ. 技術情報》

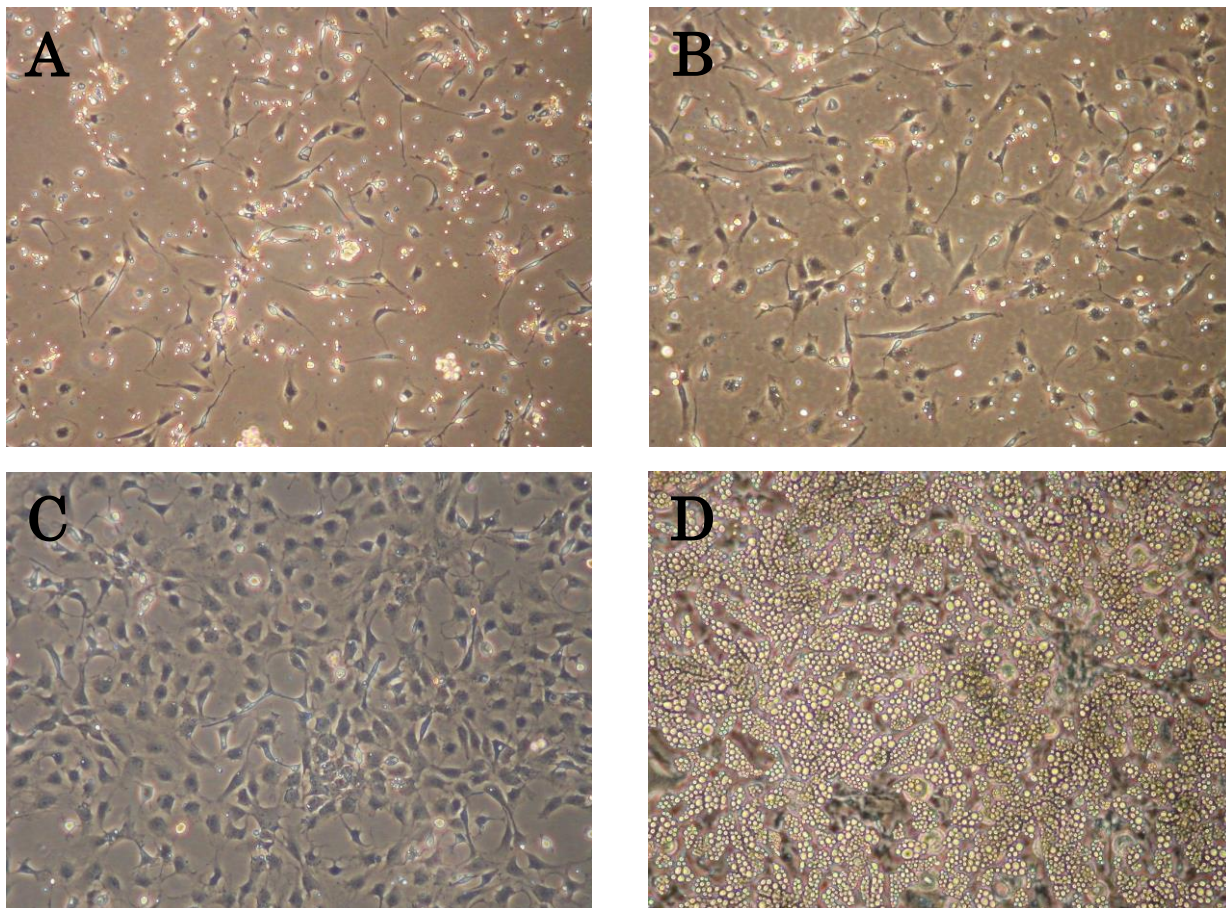


図 2.細胞形態写真

(A : 培養 1 日目、B : 培養 2 日目、C : 培養 3 日目、D : 培養 8 日目)