

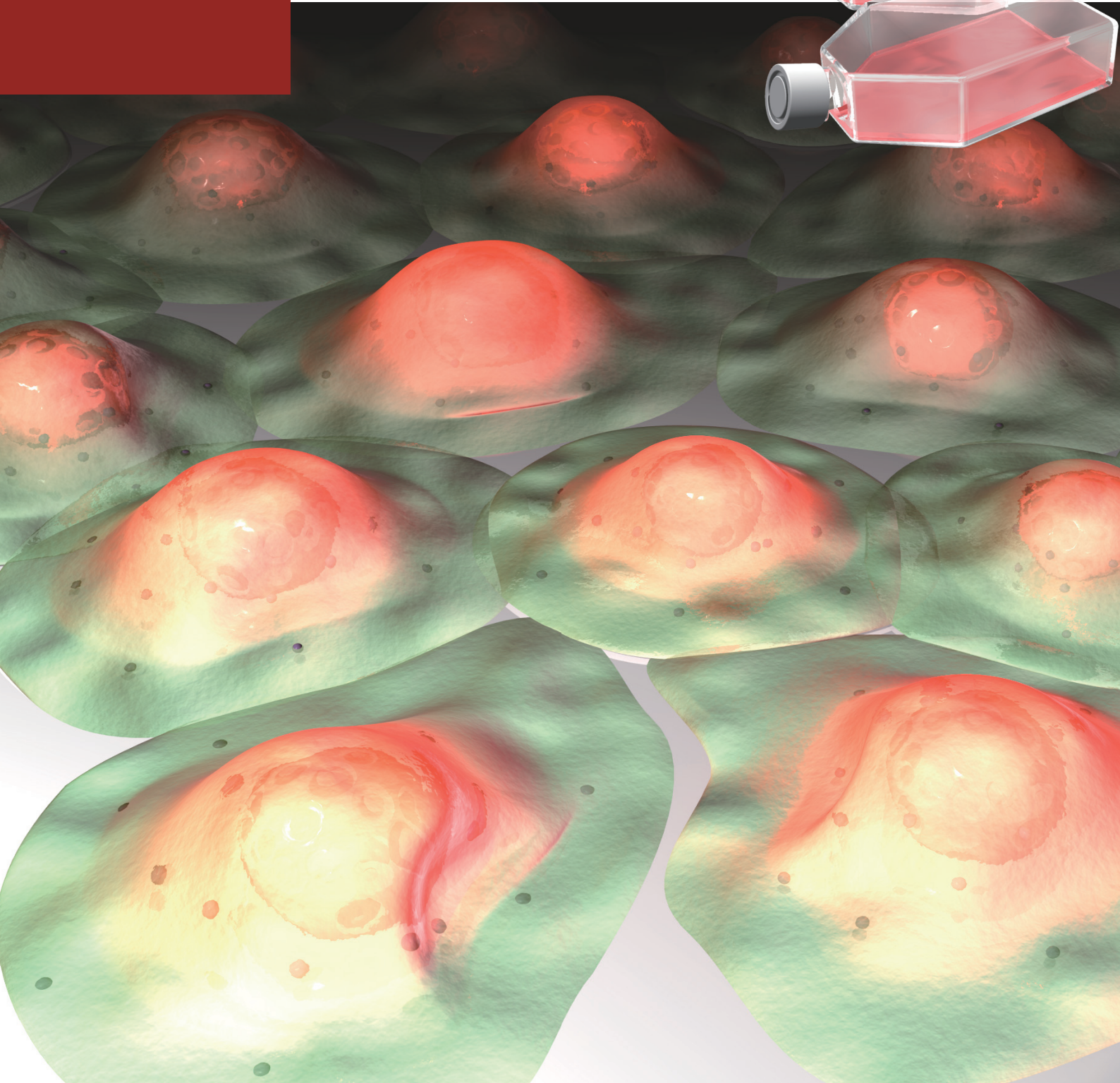
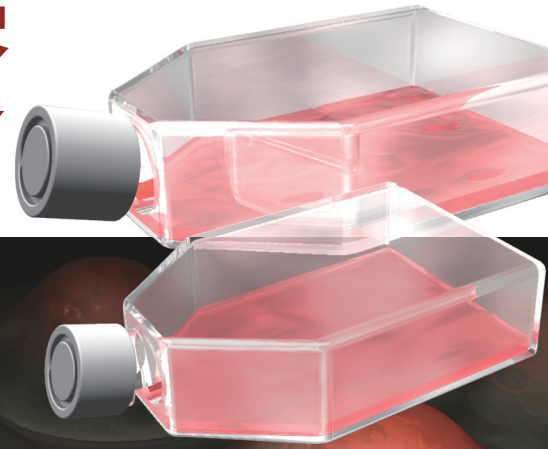
細

胞培養

Cell Cultivation

ver. 3.5

よく解る
実験プロトコール



目次

基礎：実験を始める前に..... 3

細胞培養.....	3
培養細胞.....	3
無菌操作と滅菌.....	3
基本培地.....	3
血清.....	3
無血清培地.....	3

培養..... 4

細胞培養の方法.....	4
実験プロトコール.....	4
関連情報(フィーダー細胞・マイトマイシン C 溶液・Y-27632・Human FGF-basic ・StemBeads FGF2・StemBeads シリーズ・Leukemia Inhibitory Factor(LIF)).....	8

コンタミネーション..... 11

細菌・カビ・酵母.....	11
細菌・カビ・酵母のコンタミネーションの確認.....	11
細菌・カビ・酵母のコンタミネーションの予防.....	11
マイコプラズマ.....	12
マイコプラズマの検出(PlasmoTest™ マイコプラズマ検出キット)実験プロトコール.....	12
マイコプラズマの予防除去(マイコプラズマ除去試薬).....	13
関連情報(マイコプラズマ除去試薬に関する Q & A).....	14
使用例(InvivoGen 社 Plasmocin™ によるマイコプラズマ汚染の検証).....	15

細胞数測定方法..... 17

0.5%- トリパングルーン染色液 #29853-34.....	17
実験プロトコール.....	17
Q & A.....	19
MTT 細胞数測定キット #23506-80.....	20
実験プロトコール・細胞増殖試験・細胞毒性試験.....	20
生細胞数測定試薬 SF #07553-15、07553-44.....	21
実験プロトコール・細胞増殖試験・細胞毒性試験.....	21
関連情報(プロトコール比較).....	21

培養細胞の凍結保存..... 22

Cell Reservoir One(緩慢凍結法用) #07485-44.....	22
実験プロトコール.....	22
Q & A.....	24
製品の種類と使い分け(Cell Reservoir One DMSO 含有と不含タイプについて).....	25
Cell Reservoir One(ガラス化法用) #11325-62.....	26
実験プロトコール・保存時・解凍時.....	26
使用例(ヒト iPS 細胞(201B7 株)での生存率の比較).....	27

Appendix..... 28

培地組成表.....	28
平衡塩類組成表・細菌、カビ、酵母のコンタミネーションの予防.....	35
細胞培養カスタム培地.....	36

試薬一覧..... 別紙

基礎：実験を始める前に

細胞培養

細胞培養とは、生体組織から分離した細胞を培養液中で増殖・維持することです。通常は動物細胞の培養のことを指します。その生体外で培養している細胞のことを培養細胞と呼び、細胞を培養するために用いられる組織間液を模した液体を培地と呼びます。研究に培養細胞を使用することで、生体に比べて、より単純な実験系で生命現象を解析できます。

培養細胞

培養細胞は、細胞培養における存在形態により、培養容器に付着し増殖する細胞で接着細胞や付着細胞と呼ぶものと、培地内で浮遊した状態で増殖する培養細胞で浮遊細胞と呼ぶものに分類されます。さらに培養細胞は、初代培養細胞(Primary Cell)と細胞株(Cell Line)に主に分類されます。生体から分離して最初の植え替えを行うまでを初代培養、培養している細胞のことを初代培養細胞と呼び、長期にわたって安定して継代培養ができるようになった特殊な細胞を細胞株と呼びます。※継代培養については4ページをご参照ください。

無菌操作と滅菌

細胞培養において培養を目的としている生物因子以外の生物因子の混入をコンタミネーションと呼び、細胞の増殖や機能、実験結果に影響を及ぼします。特に微生物や菌類のコンタミネーションが発生しやすいため、無菌操作が行えるクリーンベンチや滅菌された試薬・器具が必要になります。以下に主な試薬・器具の滅菌方法を紹介합니다。

名称	方法	対象物
オートクレーブ滅菌	高温・高圧の水蒸気を直接接触させて滅菌。通常の場合は、2気圧(温度 120℃)、15~20分。	・ガラス、耐熱性プラスチック製器具や熱変性を受けない塩類溶液など
乾熱滅菌法	通常の場合は、160℃で90分~120分あるいは180℃で45分加熱。	・高温に耐え、直接蒸気に触れてはいけないもの ・ガラス製ピペット、ディッシュ、炭酸ガスインキュベーターの棚、トレイなど (注)ガラス製ピペットは綿栓して滅菌する
ろ過滅菌法	滅菌済メンブレンフィルターでろ過して滅菌。0.2μmのフィルターでろ過することで、細菌、カビ酵母などは除去できるが、ウイルスやマイコプラズマの一部は除去できない。ディスポタイプ滅菌済フィルター装着ろ過器もあり。	・熱に不安定な成分を含む培地など

このほか、エチレンオキシドガス滅菌、紫外線滅菌なども利用されます。

また、細胞培養用として滅菌済の試薬や滅菌済ディスポタイプの器具(ピペット、フラスコなど)も多く使用されます。

基本培地

一般的によく使用される培地には、開発者の名前が入っている場合が多くあります。目的の細胞に適する組成を決めていくのは、非常な手間と時間がかかっています。改良するにしても、培地中の成分は互いに影響しあうケースも多く、一つの因子を変更すると他の成分の最適濃度も大きく見直す必要がある場合も多くあり、開発には多くの労力がかかっています。以下に一般的によく使用されている培地を紹介します。

名称	開発	適応
MEM(Earle's Salt)	EagleがマウスL細胞やHeLa細胞でアミノ酸、ビタミン、糖質、無機塩類などの栄養要求性を調べて開発。最小必要量のアミノ酸しか含まれていないため、アミノ酸要求性の高い細胞などには、MEM用アミノ酸、MEM用非必須アミノ酸などの補助培地を別途添加して使用。	HeLa細胞など多くの株細胞、補助培地を加えて多くの細胞に使用されている。
DMEM	1959年にDulbeccoらが、発表したもので、マウス胎児細胞の培養に適する培地としてMEM培地を改良したもので、アミノ酸やビタミンなどが増量されている。Dulbeccoは、1975年にノーベル生理学・医学賞を受賞。	ヒト、マウス、ラット、ハムスター、サル、チキンなどの多くの細胞で使用されている。
Ham's F-12	1965年にHamが、F-10培地をCHO細胞が効率よくコロニーを形成する培地に改良したもので。	CHO細胞などに使用されている。
RPMI1640	Roswell Park Memorial Institute(RPMI)でMcCoy5Aを元に開発された培地。改良が加えられるごとに1629、1630、1634と変化。カルシウム、マグネシウム量が少なく、リン酸、イノシトールが多いのが特徴。	ヒトリンパ球細胞やハイブリドーマ細胞などの浮遊細胞に使用されている。

血清

血清とは、血液を凝固させてその上清を採ったものです。血清には培地サプリメントだけでは補えない種々の細胞増殖促進物質、細胞障害保護因子、栄養因子などの成分が含まれているため、基本培地に血清を添加して培養に用いることがほとんどです。血清にはウシ胎児血清(FBS)を使用されることが多いです。FBSにはロット差があり、対象細胞に最適な血清を選択するため、予備実験としてロットチェックを行います。

無血清培地

無血清でも培養が可能な成分で構成された培地です。種々の成分を含む血清を使用しないため、正確な細胞応答・作用機構の解明、タンパク質や生理活性因子の精製に利用されます。

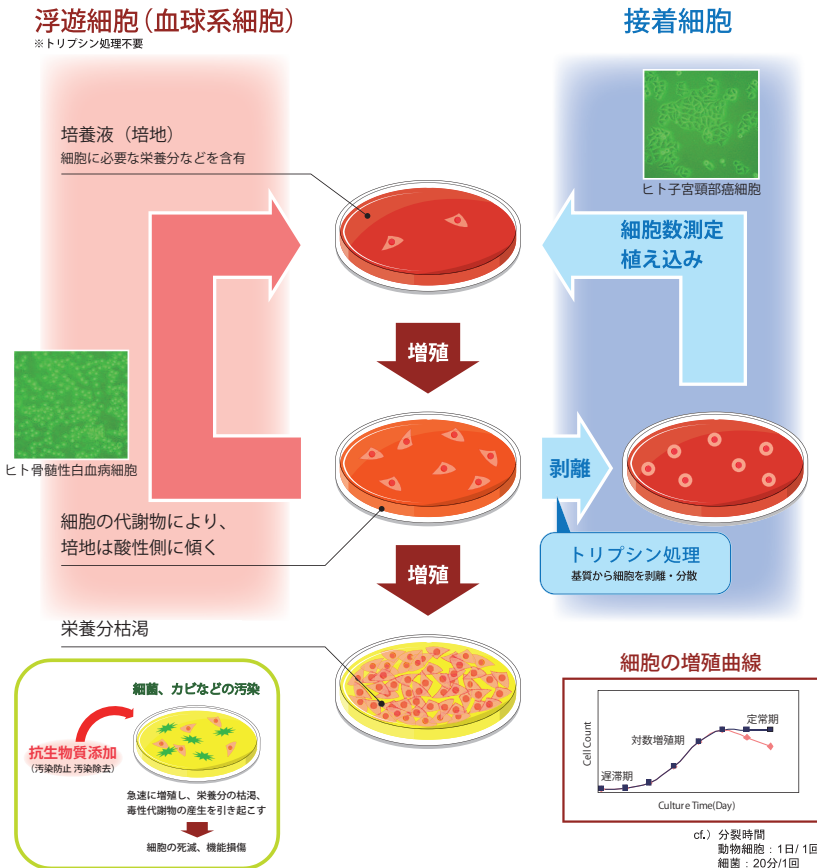
培養

培養細胞は組織から分離された後も、その性質は生体を反映します。生物の体内にいたときに血液中を流れていたものは浮遊培養系細胞、組織にくっついていたものは接着培養系細胞として培養されます。

細胞を培養する上で、細胞が十分に増殖して細胞密度が飽和に達した場合は、栄養分が枯渇状態になるため、細胞を分散採集して希釈し、新しい培養容器に再播種する必要があります。この操作を細胞の継代と言います。

本プロトコールでは、接着細胞および浮遊細胞の継代方法を紹介します。

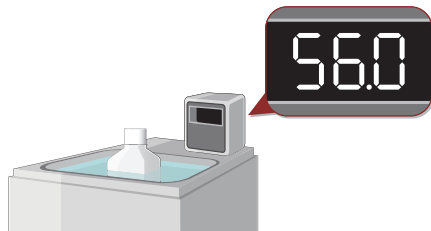
細胞培養の方法



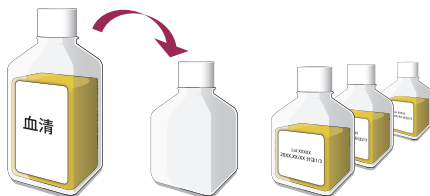
実験プロトコール

1. 血清の準備(非働化処理)

- ① 凍結した血清を室温で融解します。
- ② 融解した血清を 56℃の恒温水槽に入れ、血清が 56℃になるまで加熱します。



- ③ さらに 30 分加熱処理をします。
- ④ 予め滅菌した分注用の瓶に、55ml ずつ分注します。



- ⑤ -20℃で凍結保存します。

実験に使用する細胞選びのポイントは、動物種や組織など細胞の由来、初代培養細胞と細胞株のどちらを使用するかなど、実験目的に照らし合わせて考える必要があります。類似の研究で使用されている細胞を参考にすることも有用です。

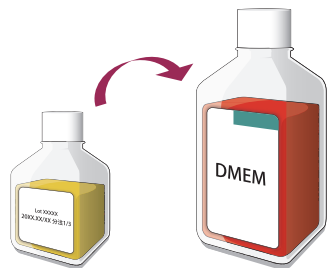
非働化処理は血清を加熱処理することにより、細胞障害活性のある補体成分を不活性化するためにを行います。

冷凍庫から取り出した血清をすぐに 56℃の恒温水槽に入れるとビンが割れる危険性があるため、室温で融解してから加熱します。

培養

2. 10% FBS 含有培地の準備

① 液体培地 500ml に FBS を 55ml 添加します。



② グルタミン不含培地の場合、200mM L-グルタミン溶液を必要量添加してください。

製品名	製品番号	L-グルタミン最終濃度	200mM 溶液添加量 (培地 500ml)
DMEM (4.5g/l Glucose) without L-Gln and Sodium Pyruvate, liquid	08488-55	584 mg/l	10 ml
DMEM (4.5g/l Glucose) without L-Gln, Sodium Pyruvate and Phenol Red, liquid	08489-45		
DMEM (1.0g/l Glucose) with Sodium Pyruvate, without L-Gln and Phenol Red, liquid	08490-05		

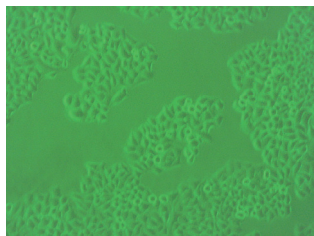
③ 必要に応じて、抗生物質を添加します。

製品名	製品番号	推奨添加量 (培地 500ml)
Penicillin-Streptomycin Mixed Solution Penicillin 5,000u/ml, Streptomycin 5,000 μg/ml	26252-94	5 ml
Penicillin-Streptomycin Mixed Solution Penicillin 10,000u/ml, Streptomycin 10,000 μg/ml	26253-84	
Penicillin-Streptomycin Mixed Solution (Stabilized)	09367-34	5 ml
Antibiotic-Antimycotic Mixed Stock Solution (100x)	02892-54	5 ml
Gentamicin Sulfate Solution (10mg/ml)	16672-04	2.5 ml

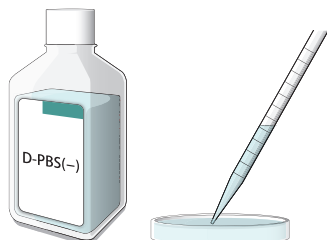
3-1. 接着細胞の継代

接着細胞はディッシュや他の細胞に付着して増殖しているので、継代の際にはトリプシン処理を行いディッシュから細胞を剥離させ、分散させる操作をします。

① 顕微鏡観察により、細胞が 70~80% コンフルエントであることを確認します。



② 培養ディッシュから培地をアスピレーターで除去した後、D-PBS(-)をディッシュの壁に沿って静かに加え、細胞を洗浄します。



正確な血清濃度の培地を作製するためには、培地量も正確に量り取ってください。

液体培地については別紙 1 ページをご参照ください。

200mM-L-Glutamine Stock Solution (#16948-04)



[Nacalai オンラインカタログへ](#)

抗生物質については別紙 5~6 ページもご参照ください。

Penicillin-Streptomycin Mixed Solution (Stabilized) (#09367-34)



[Nacalai オンラインカタログへ](#)

コンフルエント：細胞が培養器面を覆いつくした状態

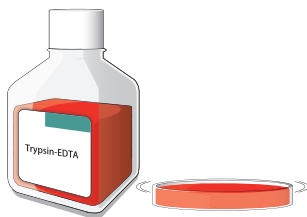
D-PBS(-) without Ca and Mg, liquid (#14249-95)



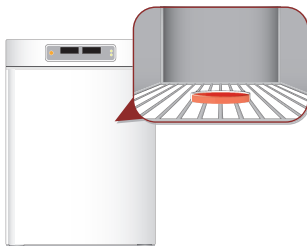
[Nacalai オンラインカタログへ](#)

培養

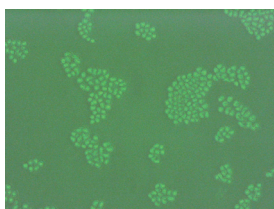
- ③ 2.5g/l Trypsin/1mmol/l EDTA 溶液を 3ml 添加し、ディッシュ全体になじませます。



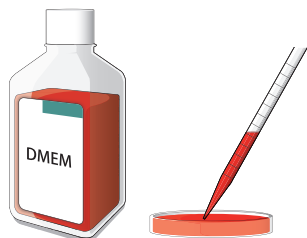
- ④ 37°Cインキュベーターで加温します。



- ⑤ 顕微鏡観察により、細胞の形が丸くなり、剥離し始めたことを確認します。



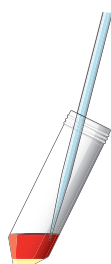
- ⑥ DMEM(+FBS) 10ml を加えて、穏やかにピペッティングを行い、単一細胞とします。



- ⑦ 遠心用チューブに移します。



- ⑧ 遠心分離 (1,000rpm 4°C 5min) を行い、上清を除去します。



トリプシンは、細胞-細胞や細胞-ディッシュ間の接着に関与しているタンパク質を分解します。一方、EDTAはトリプシン活性を阻害するカルシウムやマグネシウムイオンをキレートすることで、トリプシンの活性を保持します。このような作用から、トリプシン-EDTAが細胞の剥離・分散に使用されています。

2.5g/l-Trypsin/1mmol/l-EDTA Solution, with Phenol Red (#32777-44)



[Nacal オンラインカタログへ](#)

トリプシンよりも温和な接着細胞の剥離には Accutase™ があります。ES 細胞や神経幹細胞などの幹細胞の剥離など、幅広く使用されています。

Accutase™ (#12679-54)



[Nacal オンラインカタログへ](#)

血清にはプロテアーゼ阻害物質が存在するので、血清含有培地を添加することにより、トリプシンの作用を停止させます。

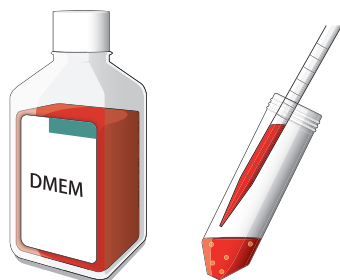
DMEM (4.5g/l Glucose) with L-Gln, without Sodium Pyruvate, liquid (#08459-35)



[Nacal オンラインカタログへ](#)

培養

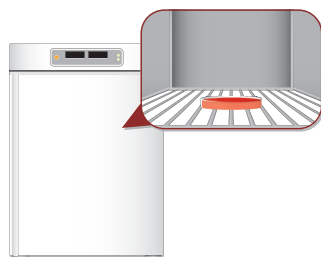
- ⑨ DMEM(+FBS)を5ml添加し、穏やかにピペッティングを行い、単一細胞とします。



- ⑩ 常法に従い、細胞数を計測します。細胞数の計測は17ページをご参照ください。
⑪ 細胞浮遊液をDMEM(+FBS)で正確に希釈して、 5×10^4 cells/mlに調製し、100mmディッシュに10mlずつ播種します。

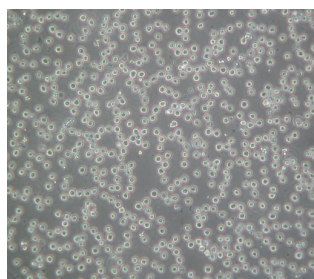


- ⑫ 37°C 5% 炭酸ガスインキュベーターで培養します。

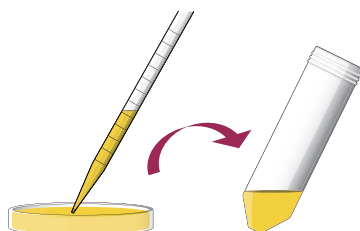


3-2. 浮遊細胞の継代

- ① 顕微鏡観察により、細胞が70~80%コンフルエントであることを確認します。



- ② 培養液を穏やかにピペッティングを行い、細胞を分散させます。細胞浮遊液を遠心用チューブに移します。



- ③ 以下、3-1. 接着細胞の継代手順の⑧以降と同様に細胞を播種します。

コンフルエント：
細胞が培養器面を覆いつくした状態

RPMI 1640 with L-Gln, liquid
(#30264-85)



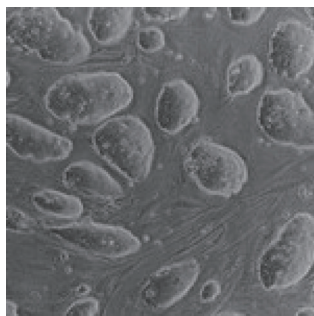
Nacalai オンラインカタログへ

培養

関連情報

■フィーダー細胞

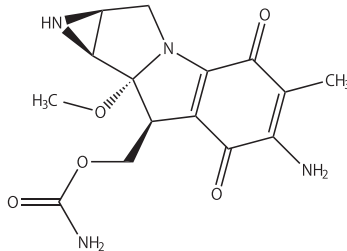
培地だけでは細胞の生存や増殖が困難な場合に、補助をさせる目的で共存させる細胞をフィーダー細胞といいます。ES/iPS細胞の増殖や未分化性を維持するために用いられる、マウス胎仔線維芽細胞(MEF)やマウス線維芽細胞株(STO)がよく知られています。



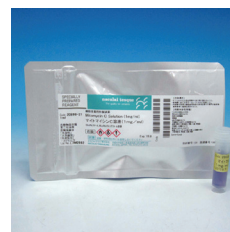
フィーダー細胞上でのマウス ES 細胞の培養

■マイトマイシン C 溶液

マイトマイシン C は、DNA の複製を阻害して細胞増殖を停止させる作用があり、フィーダー細胞の作製、細胞数測定時の細胞数固定などに利用されています。マイトマイシン C の性質は、精製水もしくは PBS に溶解した場合、溶けにくい上、冷凍保存すると成分が析出してしまいます。また、力価が 90% 以上保持される期間は、冷蔵では約 3 日間、室温では約 1 日間と不安定です。しかしながら、本製品の溶液組成における安定性は非常に高く、有効期限は 2 年(冷凍・遮光保存)です。



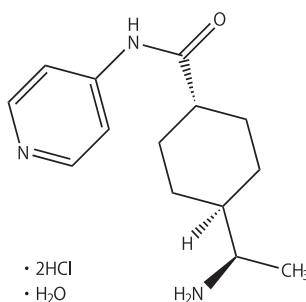
Mitomycin C Solution
(#20898-21)



Nacalai オンラインカタログへ

■ Y-27632

ROCK キナーゼの特異的阻害剤 Y-27632¹ は、抗高血圧作用や細胞のがん化や細胞の転移・浸潤の阻害など様々な作用が確認されています。また、最近では、ヒト ES 細胞や iPS 細胞の培養過程において高頻度で生じる細胞死を抑制する事も確認されています^{2,3}。



Y-27632
(#08945-71 1mg)
(#08945-84 5mg)



(#08945-71 1mg)

Nacalai オンラインカタログへ

(#08945-84 5mg)

Nacalai オンラインカタログへ

- *1 Narumiya, S. *et al.* Use and properties of ROCK-specific inhibitor Y-27632. *Meth. Enzymol.* 325, 273 (2000).
- *2 Claassen, DA. *et al.* ROCK inhibition enhances the recovery and growth of cryopreserved human embryonic stem cells and human induced pluripotent stem cells. *Mol Reprod Dev.* Feb 20 (2009).
- *3 Watanabe, K. *et al.* A ROCK inhibitor permits survival of dissociated human embryonic stem cells. *Nature biotechnology* 25(6), 681-6 (2007).

■ Human FGF-basic (塩基性線維芽細胞増殖因子)

Peptotech 社 Human FGF-basic
• Human FGF-basic (146 a.a.) (#100-18C)
• Human FGF-basic (154 a.a.) (#100-18B)

Human FGF-basic (146 a.a.)
(#100-18C 10 µg / 50 µg)

(#100-18C 10 µg) (#100-18C 50 µg)

Nacalai オンラインカタログへ

Nacalai オンラインカタログへ

Human FGF-basic (154 a.a.)
(#100-18B 10 µg / 50 µg)

(#100-18B 10 µg) (#100-18B 50 µg)

Nacalai オンラインカタログへ

Nacalai オンラインカタログへ

培養

関連情報つづき

■ StemBeads FGF2

培地添加型 FGF2 徐放ビーズ

StemBeads FGF2 は、FGF2 に依存する幹細胞の培養において、通常毎日行わなければならない培地交換を 3 日に 1 回に少なくできる画期的な試薬です。FDA で承認された生分解性 PLGA ポリマーを基材に採用した徐放剤で、FGF2 が特定の濃度で培地へ放出されるように設計されています。

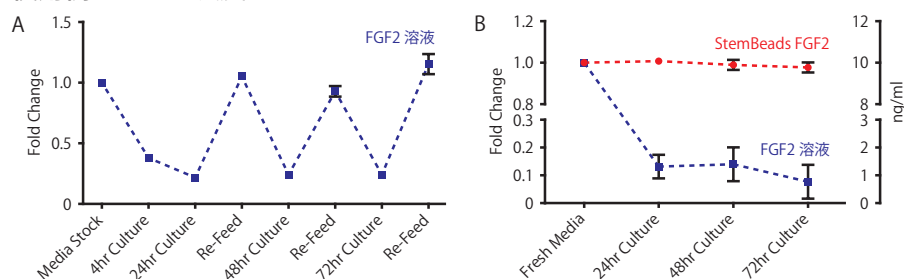
- 3 日に 1 回の培地交換で、培地コストと手間を削減
- FGF2 の代わりとして、これまで使用されていた培地に添加するだけ
- 培地中の FGF2 濃度が 10ng/ml となるように設計済み
- ヒト iPS 細胞 253G1 株、ヒト ES 細胞 H9 株 / KhES-1 株での国内実施例有り

詳細は Information-455 をご参照ください。

使用方法

- ① チューブの底に沈んだビーズを懸濁します。
- ② 培地 1ml に対して、7.5 μ l のビーズ懸濁液を添加します。
- ③ 3 日後に培地交換を行います。

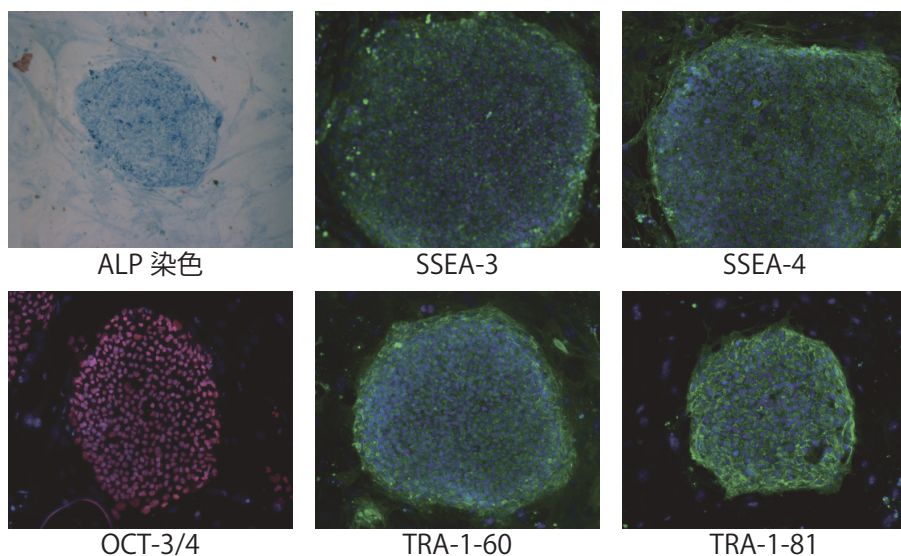
使用例 1: FGF2 濃度のモニタリング



A: 毎日培地交換、B: 培地交換無しで培養

FGF2 濃度をモニタリング(ヒト ES 細胞の培養)したところ、毎日の培地交換では FGF2 濃度は一定ではありませんが、本製品は 3 日間も FGF 濃度を維持できていました。また FGF2 が安定供給されるため、未分化維持にも効果的です。

使用例 2: ヒト iPS 細胞 253G1 株の培養



FGF2 の代わりに本製品を培地中に添加して 30 日間培養(7 回継代)を続けたところ、iPS 細胞は典型的な形態を示し、未分化を維持していることがわかりました。

データご提供: 京都大学 物質 - 細胞統合システム拠点 (iCeMS)
長谷川 光一 講師、吉田 則子 研究員

StemBeads FGF2
(#SB500)

Nacalai オンラインカタログへ

培養

関連情報つき

■ StemBeads シリーズ

培地添加型サイトカイン徐放ビーズ

FGF 徐放ビーズの他に、EGF や Activin-A を徐放するビーズも販売しています。

- StemBeads Activin-A (#SBAC5)
- StemBeads EGF (#SBEGF)

■ Leukemia Inhibitory Factor (LIF)

Leukemia Inhibitory Factor (LIF) は、神経幹細胞の分化や未分化造血系前駆細胞の増殖、多能性幹細胞の分化抑制などさまざまな作用を持つサイトカインとして知られています。

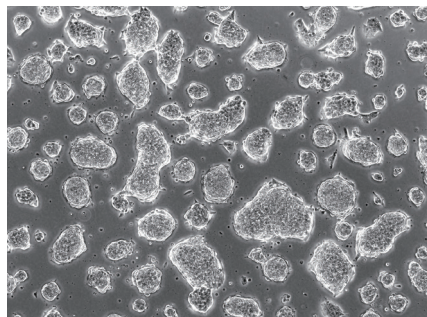
弊社では、LIF を販売しています。

以下にマウス ES (CGR8) 細胞を LIF 存在下で培養したデータを紹介します。

詳細は Information-450 をご参照ください。

使用例

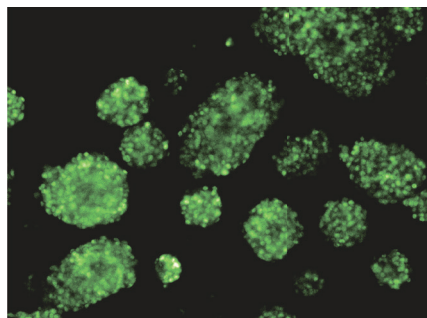
マウス ES (CGR8) 細胞培養



コンパクトなコロニー形成が認められた。

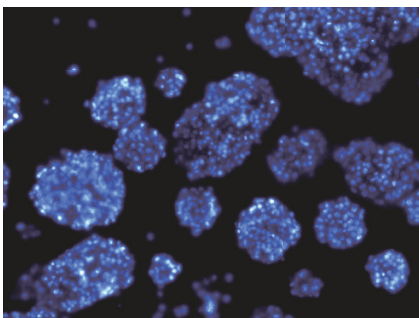
未分化マーカー (Nanog) の検出

■ Nanog (Alexa Fluor®488)



ほとんどの細胞で Nanog が検出された。

■ 核 (DAPI)



データご提供：京都大学 学際融合教育研究推進センター 生命科学系キャリアパス形成ユニット 川村研究室 川村 晃久 特定助教(チームリーダー)

Recombinant Mouse LIF
(#NU0012-1 1.0 ml (10⁶units/ml))
(#NU0012-2 1.0 ml (10⁷units/ml))



(#NU0012-1 1.0 ml (10⁶units/ml))

 [Nacalai オンラインカタログへ](#)

(#NU0012-2 1.0 ml (10⁷units/ml))

 [Nacalai オンラインカタログへ](#)

Recombinant Human LIF
(#NU0013-1 1.0 ml (10⁶units/ml))
(#NU0013-2 1.0 ml (0.5×10⁷units/ml))



(#NU0013-1 1.0 ml (10⁶units/ml))

 [Nacalai オンラインカタログへ](#)

(#NU0013-2 1.0 ml (0.5×10⁷units/ml))

 [Nacalai オンラインカタログへ](#)

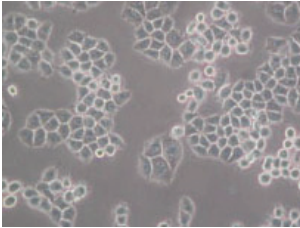
コンタミネーション

細菌・カビ・酵母

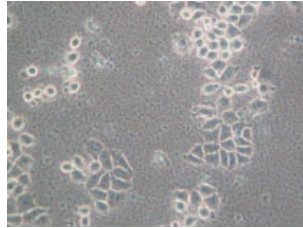
細菌・カビ・酵母のコンタミネーションの確認

- ・培地の色が通常よりも酸性側に傾いている(黄色になっている)
- ・培地が濁っている
- ・培地に異物が浮遊している
- ・顕微鏡観察において、細胞の形状が普段と違う(下図参照)
- ・増殖が極端に遅い

正常な状態

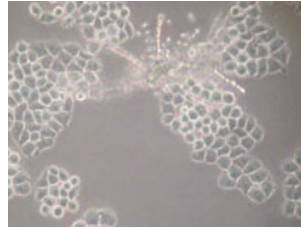


バクテリアのコンタミ



微小な点が多数存在

カビのコンタミ



綿状のものが存在

コンタミしてしまった培地や細胞は、速やかにオートクレーブ滅菌を行い、廃棄してください。

細菌・カビ・酵母のコンタミネーションの予防

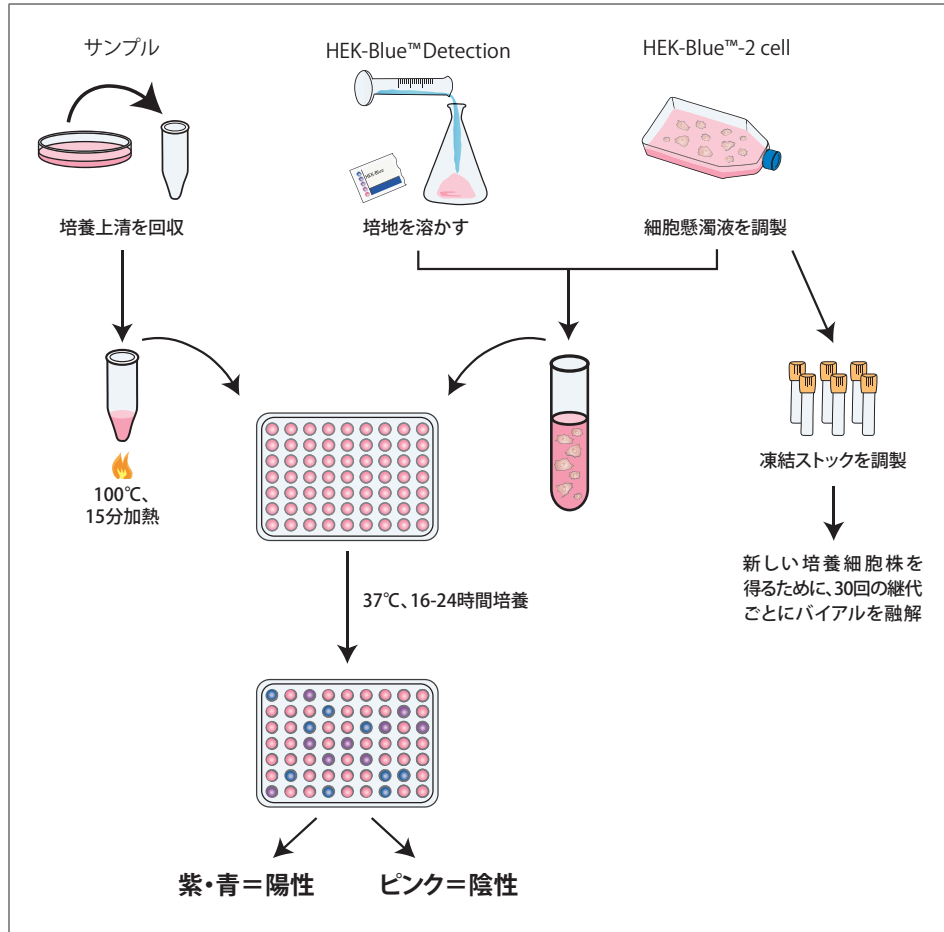
抗生物質	分子量	作用機序	作用例	溶媒	使用濃度目安
Amphotericin B アムホテリシン B	924.08	細胞膜に作用	真菌	DMSO DMF	2.5 μg/ml
Erythromycin エリスロマイシン	733.93	タンパク質合成阻害	グラム(+) グラム(-) マイコプラズマ	HCl EtOH	100 μg/ml
Gentamicin ゲンタマイシン	477.6	タンパク質合成阻害	グラム(+) グラム(-)	H ₂ O	50 μg/ml
Kanamycin Monosulfate カナマイシン一硫酸塩	582.58	タンパク質合成阻害	グラム(+) グラム(-) マイコプラズマ	H ₂ O	100 μg/ml
Penicillin G Potassium Salt ペニシリン G カリウム塩	372.48	細胞壁合成阻害	グラム(+)	H ₂ O	100 U/ml
Streptomycin Sulfate ストレプトマイシン硫酸塩	728.69	タンパク質合成阻害	グラム(+) グラム(-)	H ₂ O	100 μg/ml
Fungin™	665.74	細胞膜に作用	真菌	H ₂ O	10-50 μg/ml

抗生物質については別紙 5 ~ 6 ページもご参照ください。

コンタミネーション

マイコプラズマ

マイコプラズマの検出 (PlasmoTest™ マイコプラズマ検出キット) 実験プロトコール



製品の詳細については、
INFORMATION 391 をご参照くだ
さい。

- ① 細胞培養している培地上清を 500 μ l とり、チューブへ移す。
- ② サンプルを 100°C、15 分加熱する。
- ③ HEK-Blue™ Detection 培地を 50ml の HEK-Blue™ water に粉末を溶かして調製する。
- ④ 96 ウェルプレートにサンプルを 50 μ l ずつ入れる。
- ⑤ 96 ウェルプレートにそれぞれのコントロールを 50 μ l ずつ入れる。
- ⑥ HEK-Blue™ Detection 培地で HEK-Blue™-2cell 懸濁液を調製する。
- ⑦ 200 μ l (~50,000 個の細胞) の細胞懸濁液をサンプルまたはコントロールが入っているウェルに添加する。
- ⑧ プレートを 37°C の炭酸ガスインキュベーターで一昼夜 (16~24 時間) 培養する。
- ⑨ 肉眼または 620~650nm の分光計でマイコプラズマの有無を検出する。

コンタミネーション

マイコプラズマの予防除去(マイコプラズマ除去試薬)

● Plasmocin™

Plasmocin™ Treatment (マイコプラズマ除去用)

推奨使用濃度	25 µg/ml(本品 1ml で 1L の培地が調製できます。)
使用方法	① 細胞分裂の活発な細胞を 12.5~37.5 µg/ml の Plasmocin™ を含む培地に分注します。 ② 3~4 日に一度、新しい培地に交換します(処理期間 2 週間)。 ③ マイコプラズマフリーの状態を保持するためには、5 µg/ml の濃度で Plasmocin™ を添加し続けてください。 (注意)もし 2 週間処理した後も除去が不十分だった場合は、37.5 µg/ml で引き続き処理してください。
作用ターゲット	• DNA Gyrase • リボソームの 50S サブユニット

Plasmocin™ Prophylactic (感染予防用)

推奨使用濃度	2.5~5 µg/ml(本品 1ml で 500ml~1L の培地が調製できます。)
使用方法	Plasmocin™ を細胞培養用培地に添加してください。
作用ターゲット	• DNA Gyrase • リボソームの 50S サブユニット

● Normocin™

推奨使用濃度	100 µg/ml(本品 1ml で 500ml の培地が調製できます。)
作用ターゲット	• 原核生物：DNA Gyrase, リボソームの 50S サブユニット • 真菌：細胞膜を介したイオン交換

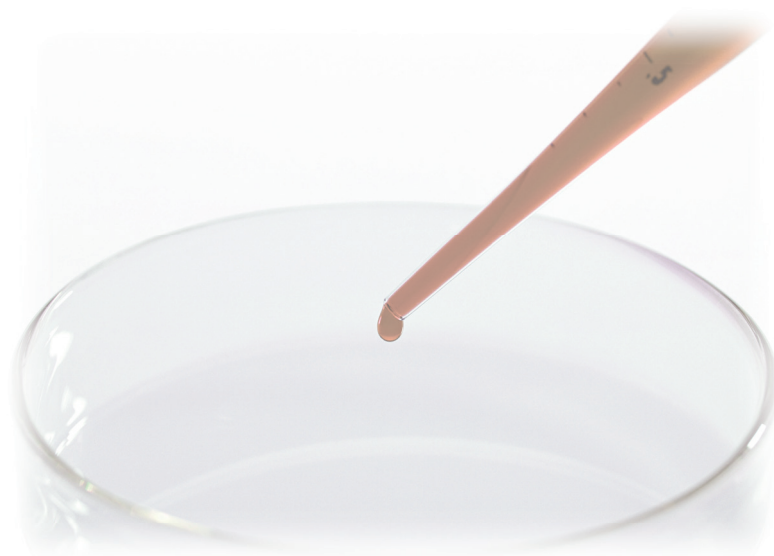
● Primocin™

推奨使用濃度	100 µg/ml(本品 1ml で 500ml の培地が調製できます。)
作用ターゲット	• 原核生物：DNA Gyrase, リボソームの 30S、50S サブユニット • 真菌：エルゴステロール

● Plasmocure™

推奨使用濃度	50 µg/ml(本品 1ml で 2L の培地が調製できます。)
作用ターゲット	• Isoleusyl Synthetase • リボソームの 50S サブユニット

マイコプラズマ除去試薬の詳細については、INFORMATION 391 をご参照ください。



コンタミネーション

関連情報(マイコプラズマ除去試薬に関するQ&A)

Q1. どのような細胞で処理実績がありますか？

下記に処理実績のある一部の細胞を掲載します。

A1. Human Cell Lines	HEK293, HeLa, Colo357, HL60, HSB2, MCF-7, PC3, Hep-G2, MDA-MB231, SW13, SW620, T47D, U-373, U-87
Rodent Cell Lines	235-1, NIH3T3, B16, CHO, CT60, PC12, C2C12, C6, ES Cells
その他	Hybridomas, Retrovirus Packaging Cell Line, Bi-color damselfish Cell Lines

Q2. 動物細胞に対して毒性はありますか？

A2. Plasmocin™ はマイコプラズマと多くの細菌だけをターゲットとして作用します。細胞に高濃度の Plasmocin™ を作用させている場合、細胞の成長率が減速するかもしれませんが、培養液から Plasmocin™ を除くと、すぐに正常な成長率に戻ります。

Q3. ペニシリン/ストレプトマイシンを添加した培養液に Plasmocin™、Normocin™、Primocin™ を添加できますか？

A3. Plasmocin™、Normocin™ はペニシリン/ストレプトマイシン溶液と互換性があります。ペニシリン/ストレプトマイシンと同時に添加することで、抗菌活性スペクトルを広げることができます。初代培養細胞用の Primocin™ についてはペニシリン/ストレプトマイシンを添加する必要はありません。

Q4. 選択用抗生物質存在下でも使用できますか？

A4. G418、Zeocin™、Hygromycin B、Blasticidin S、Puromycin などの一般的な選択用抗生物質と互換性があり、同時に使用できます。

Q5. 耐性マイコプラズマの出現リスクはありますか？

A5. 耐性菌の存在を確認するために、繰り返し変異の生じる割合を測定しましたが、培養液中に耐性菌は全く出現しませんでした。従って、本製品に対する耐性マイコプラズマは実質的に出現しないと考えられます。もし Plasmocin™ 耐性マイコプラズマの出現が懸念される場合は Plasmocure™ をご使用ください。

Q6. 昆虫細胞でも使用できますか？

A6. 哺乳動物細胞と同様のプロトコール(推奨濃度 25 µg/ml で 2 週間)でマイコプラズマを除去できます。至適濃度につきましては、50% の範囲で増減 (12.5 µg/ml~37.5 µg/ml) させてお試ください。

Q7. ウイルスパッケージング細胞でも使用できますか？

A7. 同様のプロトコールで使用できます。ウイルス生産前のパッケージング細胞からのマイコプラズマ除去であれば除去用の Plasmocin™ Treatment、ウイルス生産の間であれば Plasmocin™ Prophylactic または Normocin™ をご使用ください。

Q8. tet 調節発現系細胞でも使用できますか？

A8. Plasmocin™ はテトラサイクリン・ファミリーに属しませんので、問題なく使用できます。

コンタミネーション

使用例 (InvivoGen 社 Plasmocin™ によるマイコプラズマ汚染の検証)

マイコプラズマは、自己増殖能を持つ細菌の 1/10 程度の大きさの微生物で、培養細胞を汚染しやすく細胞と共存して増殖します。細胞培養時の問題は、マイコプラズマに汚染されていても培地が濁ることがありませんので混入に気づきにくい点です。また、マイコプラズマ汚染が研究に及ぼす影響は多大であり、サイトカインの発現異常、染色体の異常、細胞死などを引き起こします。日本組織培養学会細胞バンク委員会と JCRB 細胞バンクの調査によると、1,500 検体程度の解析を実施したところ、平均汚染率は 22.4% という結果が報告されており、マイコプラズマ汚染の検査および除去・予防が重要な課題となってきています。

(培養細胞研究資源のマイコプラズマ汚染調査 *Tiss. Cult. Res. Commun.* 26: 159-163 (2007) より引用)

データご提供：(独) 医薬基盤研究所 生物資源研究部 細胞資源研究室
小澤 裕 研究員 / 小原 有弘 研究員

実験概要

培養細胞のマイコプラズマ汚染頻度は非常に高く、細胞バンクに寄託される細胞の約 18% に汚染が認められる。細胞の性状等に変化を与えない、確実なマイコプラズマの除染は細胞バンクにとって重要な課題である。今回、細胞バンクで第一選択薬として使用している A 社マイコプラズマ除去試薬によって汚染除去できなかった細胞に対して、InvivoGen 社 Plasmocin™ 処理による汚染除去を検証した。

新規登録細胞とマイコプラズマ汚染

年	登録数	汚染数	%
2002	34	5	5.9
2003	40	3	7.5
2004	32	19	59.4
2005	48	8	16.7
2006	40	6	15.0
2007	53	6	11.3
合計	247	44	17.8

年間 40 程度の新規登録細胞
年間 3,500 アンブルの分譲

PCR 法、DNA 間接蛍光染色法による検査

実験方法

A 社試薬によってマイコプラズマ汚染除去ができなかった食道扁平上皮がん細胞を用いて Plasmocin™ による汚染除去を試行した。マイコプラズマ汚染の検査には MycoAlert™ Mycoplasma Detection Kit、DNA 間接蛍光染色法、Nested-PCR 法を用いた。

実験結果

	MycoAlert®	DNA 間接蛍光染色法	Nested-PCR 法
寄託時の食道扁平上皮がん細胞	+	+	+
▼ 薬剤処理後 3 カ月間継続培養			
	MycoAlert®	DNA 間接蛍光染色法	Nested-PCR 法
寄託時の食道扁平上皮がん細胞	+	+	+
Plasmocin™ 処理	-	-	-

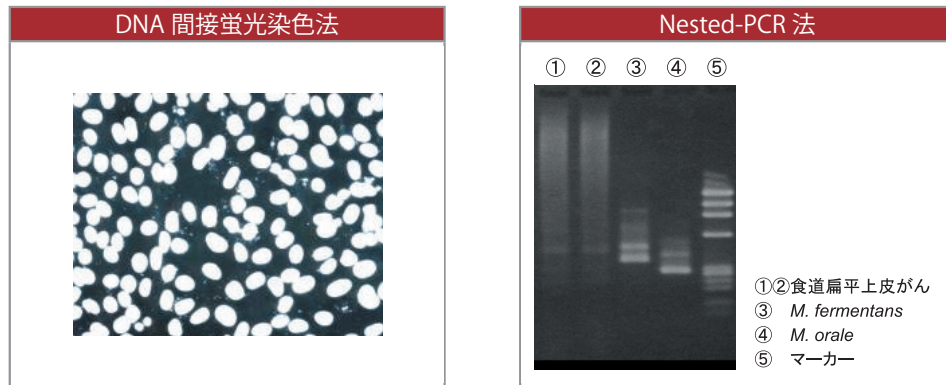
MycoAlert™ は Lonzaグループあるいはその関係者の商標です。

寄託された細胞では PCR 産物のバンドが認められ、マイコプラズマに汚染されていることがわかる。寄託された細胞を A 社除去試薬で処理したところ、それでも PCR 産物のバンドが若干認められるため、A 社試薬ではマイコプラズマを完全に除染できていないことがわかる。Plasmocin™ で処理した細胞では PCR 産物のバンドが認められない。そのため A 社除去試薬で除染できなかったマイコプラズマが、Plasmocin™ では除染できたと考えられる。

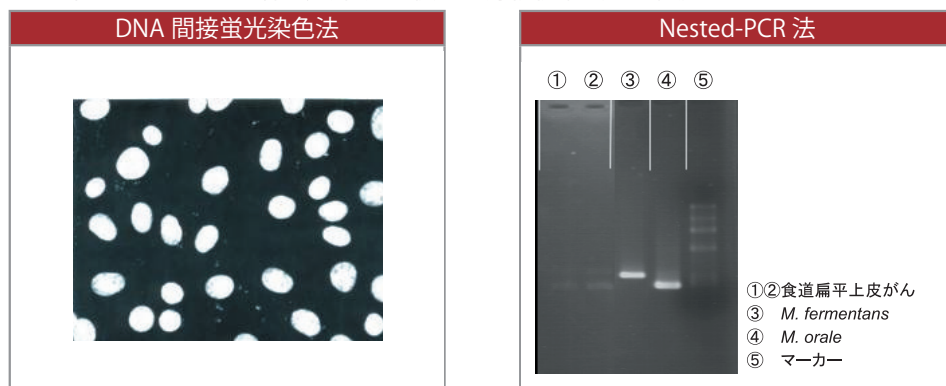
コンタミネーション

実験結果つき

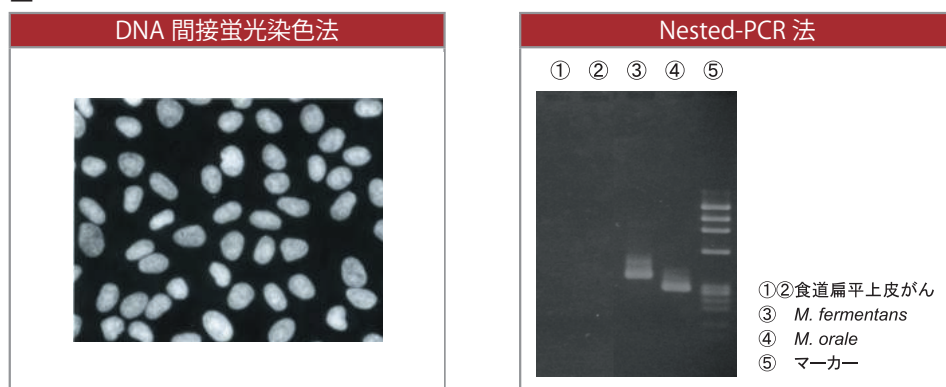
■ 細胞バンクに寄託された食道扁平上皮がん細胞



■ A社マイコプラズマ除去試薬 処理後3カ月継続培養した細胞



■ Plasmocin™ 処理後3カ月継続培養した細胞



<図の説明>

● DNA 間接蛍光染色法

マイコプラズマに汚染されていない細胞は核だけが染色されますが、汚染されている細胞はマイコプラズマのDNAも染色されるため、核以外の部分にも小さな蛍光が見られます。

● Nested-PCR 法

マイコプラズマに汚染されていればバンドが確認されます。*M. fermentans*、*M. orale* はポジティブコントロール、マーカーはφX174/*Hae*III です。

細胞数測定方法

弊社で取り扱っている細胞数測定製品について紹介します。

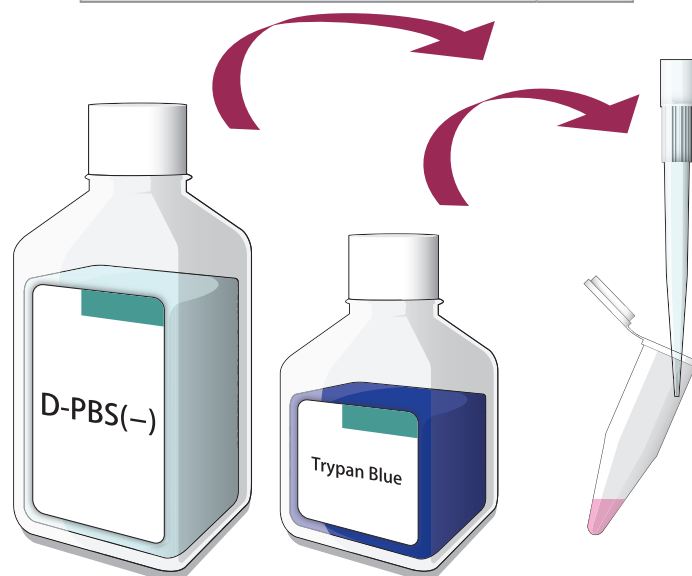
製品名	0.5% - トリパンプルー染色液	MTT 細胞数測定キット	生細胞数測定試薬 SF
製品番号	#29853-34	#23506-80	#07553-15 #07553-44
製品イメージ			
製品特長	<ul style="list-style-type: none"> 細胞が生きているかどうか判定し、細胞数を測定する製品 安価で簡便 アポトーシスを起こした細胞、増殖不能となった細胞の選別不可 誤差生じやすい 大量の検体処理には適さない 	<ul style="list-style-type: none"> 生細胞数を測定する製品 簡便で少数の細胞で多数の被検物質の試験が可能 	<ul style="list-style-type: none"> 生細胞数を測定する製品 高感度
参照資料	BULLETIN L-100	BULLETIN L-90	BULLETIN L-57

0.5% - トリパンプルー染色液 #29853-34

実験プロトコール

- ① 細胞浮遊液 100 μ l をマイクロチューブに分取します。
- ② 細胞密度に合わせて適当量に希釈し、トリパンプルー染色を行います。

<例> 10倍希釈して測定する場合	
細胞懸濁液	100 μ l
D-PBS(-)	800 μ l
0.5% トリパンプルー溶液	100 μ l



- ③ ピペッティングにより混合し、3分放置します。
- ④ 血球計算盤およびカバーガラスを精製水、およびエタノールで洗浄し、キムワイプなどで押さえつけるように水分を拭きます。

0.5%-Trypan Blue Stain Solution (#29853-34)



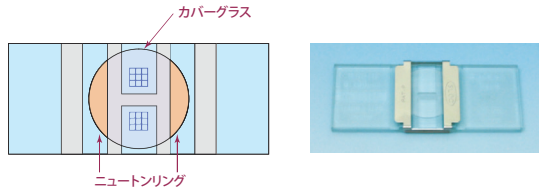
 Nacalai オンラインカタログへ

時間が長くなると、生細胞も色素を取り込みます。

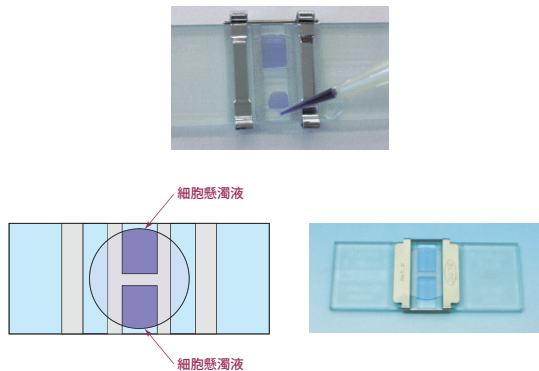
目盛室およびその周辺は、擦らないよう注意します。傷つき、摩耗の原因になります。

細胞数測定方法

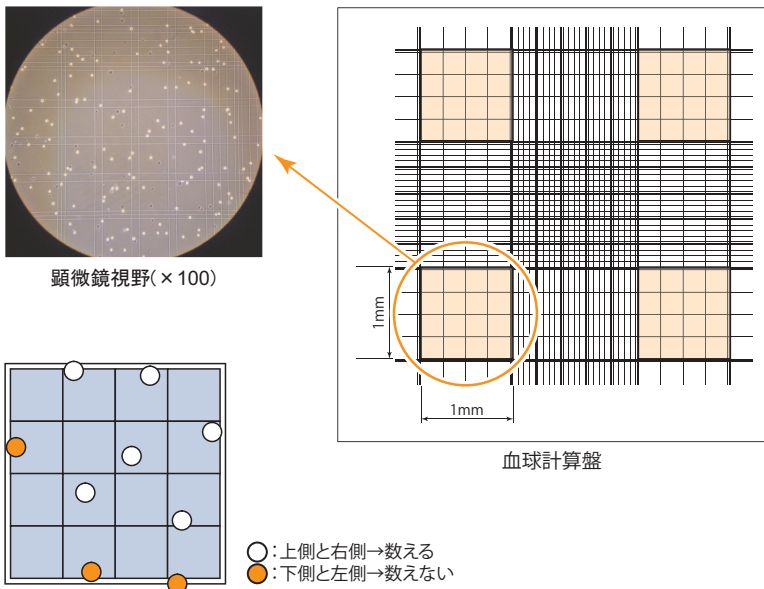
- ⑤ 血球計算盤にカバーガラスを載せ、軽く摺り合わせてニュートンリングができるように圧着します(止め金具で固定しても可)。



- ⑥ 希釈した細胞懸濁液をマイクロピペットなどを使用して、血球計算盤とカバーガラスの間に毛細管現象を利用して添加します。この時、液を入れすぎないように、また気泡が入らないように注意します。



- ⑦ 顕微鏡下(倍率 100 倍)で観察し、血球計算盤の四隅の区画(範囲 1mm² 区画)の細胞数を数えます。ただし、血球計算盤上の線上にある細胞は、相対する辺いづれか一方の線上にある細胞だけを数えます。予めどちらの辺を数えるか(例えば、上側と右側を数える)を決めておきます。



- ⑧ 次のように細胞数を算出します。

$$\text{細胞数 (cells/ml)} = (\text{測定した合計細胞数}) / (\text{測定した区画数}) \times \text{希釈倍率} \times 10^4$$

$$\text{総細胞数 (cells)} = \text{1ml 当たりの細胞数} \times \text{細胞懸濁液の容積}$$

$$\text{細胞生存率 (\%)} = \text{生細胞の計測数} / \text{全細胞の計測数} \times 100$$

ニュートンリングが現れない場合は、汚れが付着していますので、再度洗浄、もしくは消毒用アルコールなどで清拭します。圧着が不十分な場合、液漏れや不正確な算定の原因となります。

細胞数測定方法

<測定例>

細胞懸濁液の容積 : 5ml
測定時の希釈倍率 : 10 倍
測定した区画数 : 4 区画

測定結果

区画	1	2	3	4	合計
生細胞数	37	40	42	41	160
総細胞数	42	43	47	45	177

$$\text{生細胞数} = 160 / 4 \times 10 \times 10^4 = 4.0 \times 10^6 \text{ cells/ml}$$

$$\text{総生細胞数} = 4.0 \times 10^6 \text{ cells/ml} \times 5\text{ml} = 2.0 \times 10^7 \text{ cells}$$

$$\text{細胞生存率} = 160 / 177 \times 100 = 90\%$$

Q&A

Q1. トリパンブルーの生細胞、死細胞を染色する作用機序は？

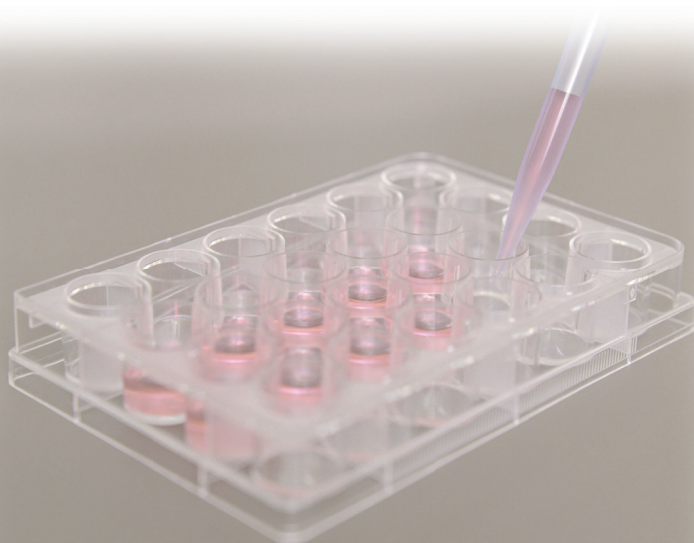
トリパンブルーは、タンパク質に強く結合するアゾ色素です。0.01% 程度の塩類溶液中で、膜に傷害のある細胞には速やかに侵入して青く染色しますが、膜に傷害のない細胞は染色されませんので、細胞の生死を判定することができます。

Q2. トリパンブルーで植物細胞を染色して、生死の判定ができますか？

A2. 弊社製品は、一般的に死細胞の染色に使用可能ですが、植物細胞には細胞壁が存在しますので、本化合物の細胞質への浸入、染色に関しては困難と推測されます。

Q3. 0.5% トリパンブルー溶液を原液のまま使用できますか？

A3. 生理浸透圧に調整していますので、使用可能です。



細胞数測定方法

MTT 細胞数測定キット #23506-80

実験プロトコール

● 細胞増殖試験

- ① 細胞を目的の細胞数になるように計測し、96 ウェルマイクロプレートに 100 μ l ずつ播種します。
- ② 炭酸ガスインキュベーター内で前培養します。
- ③ 薬剤溶液を各ウェルに 10 μ l ずつ添加します。
- ④ 細胞を炭酸ガスインキュベーター内で、所定の時間処理します。
- ⑤ MTT 溶液を各ウェルに 10 μ l ずつ添加します。
- ⑥ 炭酸ガスインキュベーター内で 4 時間呈色反応を行います。(反応時間は、細胞の種類および数によって異なります。予め検討することをおすすめします。)
- ⑦ 可溶化溶液を各ウェルに 100 μ l ずつ添加します。

・従来法

沈殿したホルマザンをピペッティング操作などで溶解します。

・簡便法(右欄外操作例参照)

プレートシールなどで密閉し^{*1}、37°C^{*2,3}で一晩(～24 時間)静置します。

*1 プレートシールが完全に密着していることを確認してください。密閉が不完全な場合、可溶化溶液が揮発し、ホルマザンの再析出が生じます。

*2 室温で静置しても溶解しますが、37°Cの方がより溶解が促進されます。

*3 プレートシールの種類によって、溶液が蒸発する可能性があります。その場合は、シールをした後、炭酸ガスインキュベーターなど加湿条件下で静置してください。

- ⑧ マイクロプレートリーダーを用いて、570nm の吸光度値(リファレンス：650nm 以上)を測定します。

● 細胞毒性試験

- ① 細胞を目的の細胞数になるように計測し、96 ウェルマイクロプレートに 100 μ l ずつ播種します。
- ② 炭酸ガスインキュベーター内で 24 時間、前培養します。
- ③ 細胞に目的の処置を施し、炭酸ガスインキュベーター内で培養します。(薬剤を PBS などで溶解し、各ウェルに 10 μ l ずつ添加します。)
- ④ 所定の時間処理を行った後、MTT 溶液を、室温で融解します。
- ⑤ MTT 溶液を各ウェルに 10 μ l ずつ添加します。
- ⑥ 炭酸ガスインキュベーター内で 4 時間呈色反応を行います。(反応時間は、細胞の種類および数によって異なります。予め検討することをおすすめします。)
- ⑦ 可溶化溶液を 100 μ l 添加します。沈殿したホルマザンをピペッティング操作などで溶解します。

・従来法

沈殿したホルマザンをピペッティング操作などで溶解します。

・簡便法(右欄外操作例参照)

プレートシールなどで密閉し^{*1}、37°C^{*2,3}で一晩(～24 時間)静置します。

*1 プレートシールが完全に密着していることを確認してください。密閉が不完全な場合、可溶化溶液が揮発し、ホルマザンの再析出が生じます。

*2 室温で静置しても溶解しますが、37°Cの方がより溶解が促進されます。

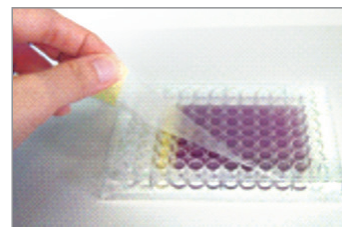
*3 プレートシールの種類によって、溶液が蒸発する可能性があります。その場合は、シールをした後、炭酸ガスインキュベーターなど加湿条件下で静置してください。

- ⑧ マイクロプレートリーダーを用いて、570nm の吸光度値(リファレンス：650nm 以上)を測定します。

MTT Cell Count Kit
(#23506-80)



Nacal オンラインカタログへ



簡便法の操作例

細胞数測定方法

生細胞数測定試薬 SF #07553-15, 07553-44

実験プロトコール

● 細胞増殖試験

- ① 対数増殖期にある細胞を目的の細胞数になるように計測し、96 ウェルマイクロプレートに 100 μ l ずつ播種します。^{*1}
- ② 炭酸ガスインキュベーター内で前培養します。^{*2}
- ③ 生細胞数測定試薬 SF 溶液を各ウェルに 10 μ l ずつ添加します。
- ④ 炭酸ガスインキュベーター内で 4 時間呈色反応を行います。^{*3}
- ⑤ マイクロプレートリーダーを用いて、450nm (リファレンス：600nm 以上) の吸光度を測定します。^{*4}

*1 フェノールレッドを含む培地もご使用になれます。

*2 必要に応じて試薬溶液は 0.22 μ m メンブレンフィルターでろ過滅菌してお使いください。

*3 細胞の種類および数により発色感度が異なりますので、十分に検討の上、お使いください。また呈色後、以下の方法で反応を停止することができます。

1) マイクロプレートを 4°C に冷却する。

2) 0.1M HCl を 10 μ l 添加する。

3) 1w/v% SDS を 10 μ l 添加する。反応停止後 24 時間以内に測定してください。

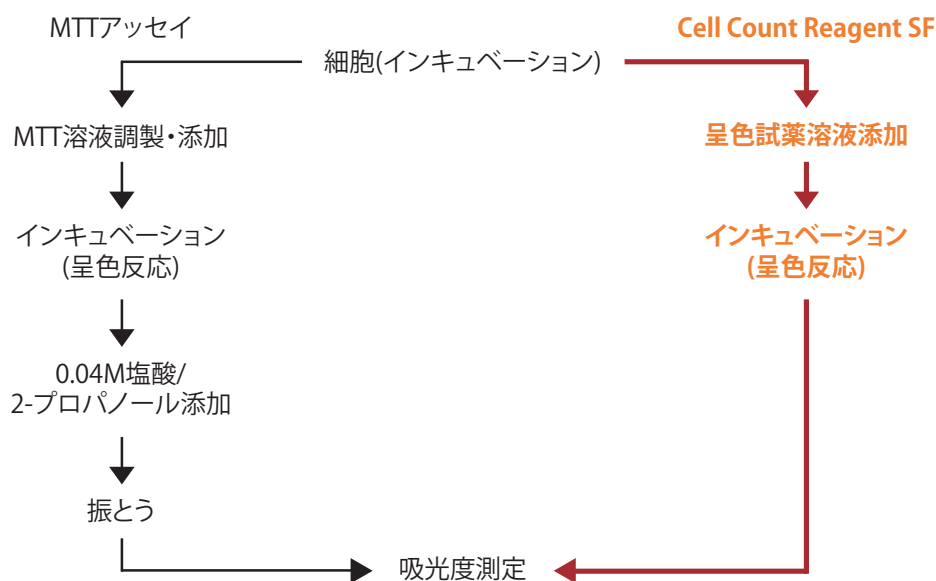
*4 生成するホルマザン色素の極大吸収波長は 460nm 付近にありますので、高感度に測定するためには 430~490nm 波長フィルターをご使用ください。

● 細胞毒性試験

- ① 対数増殖期にある細胞を 5,000cells/well の濃度になるように計測し、96 ウェルマイクロプレートに 100 μ l ずつ播種します。
- ② 炭酸ガスインキュベーター内で 24 時間前培養します。
- ③ 目的の濃度に調製した薬剤を、各ウェルに 10 μ l ずつ添加します。
- ④ 炭酸ガスインキュベーター内で 48 時間培養します。
- ⑤ 生細胞数測定試薬 SF 溶液を各ウェルに 10 μ l ずつ添加します。
- ⑥ 炭酸ガスインキュベーター内で 1~4 時間呈色反応を行います。
- ⑦ マイクロプレートリーダーを用いて、450nm (リファレンス：600nm 以上) の吸光度を測定します。

関連情報

◆ プロトコール比較



Cell Count Reagent SF
(#07553-15 500 tests)
(#07553-44 2500 tests)



(#07553-15 500 tests)

[Nacal オンラインカタログへ](#)

(#07553-44 2500 tests)

[Nacal オンラインカタログへ](#)

培養細胞の凍結保存

弊社で取り扱っている細胞凍結保存液 Cell Reservoir One シリーズについて紹介します。

Cell Reservoir One シリーズは、マユ由来タンパク質のセリシンを主成分とした細胞凍結保存液です。血清の代わりにセリシンを使用することにより無血清でありながら優れた凍結保存効果を示します。

Cell Reservoir One (緩慢凍結法用) には DMSO 含有と DMSO 不含の 2 タイプがあり、DMSO 不含タイプはマウス ES 細胞の凍結保存に有効であることが示されています。

Cell Reservoir One (ガラス化法用) は、Cell Reservoir One シリーズに新しく追加されたガラス化法用の細胞凍結保存液です。ヒト iPS 細胞やサル ES 細胞などの霊長類幹細胞の保存において、従来の手法では 15 秒以内と迅速な操作 (細胞と保存液の混合～液体窒素で冷却) が求められるところ、本製品では 60 秒でも良好な生存率・生着率が示されています。

※ 本シリーズは、セーレン株式会社との共同推進のもと製造されています。

製品名	Cell Reservoir One (DMSO 含有)	Cell Reservoir One (DMSO 不含)	Cell Reservoir One (ガラス化法用)
用途	緩慢凍結法用		ガラス化法用
製品番号	#07485-44	#07579-24	#11325-62
製品イメージ			
製品特長	<ul style="list-style-type: none"> マウス ES 細胞の保存に (DMSO 不含タイプ) 高い回復率 (増殖能・機能) と生存率 無血清培養細胞の保存に最適 血清および哺乳動物由来成分不含 		<ul style="list-style-type: none"> 霊長類 ES/iPS 細胞の保存に 凍結までの操作時間 60 秒でも高い生存率 毒物としての管理不要 DMSO、アセトアミド不含で低細胞毒性
特許	特許取得		特許出願中
参照資料	BULLETIN L-98		BULLETIN L-123

Cell Reservoir One (緩慢凍結法用) #07485-44

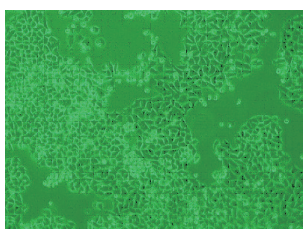
培養細胞を使用する実験において、長期の継代培養による細胞の形質変化や、微生物による汚染などを避けるために、細胞を凍結保存することは非常に有用です。

本プロトコールでは、主成分にマユ由来タンパク質のセリシンを含有し、ディープフリーザーで急速凍結が可能な Cell Reservoir One を用いた細胞凍結保存方法を紹介します。

実験プロトコール

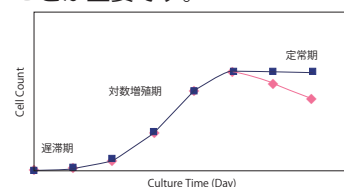
1. 凍結方法

- 顕微鏡観察により、細胞が 70~80% コンフルエントであることを確認し、培地交換を行います。翌日に凍結保存します。



- 常法により細胞を回収します。

細胞が対数増殖期の状態にあることが重要です。

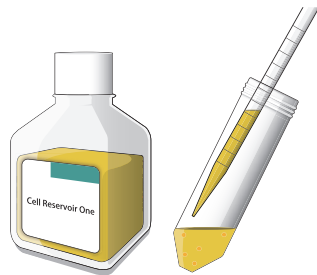


培養細胞の凍結保存

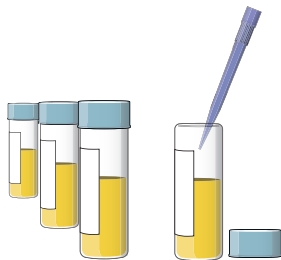
③ 遠心分離 (1,000rpm 4°C 5min) し、アスピレーターで上清を除去します。



④ 細胞数が $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ cells/ml となるように Cell Reservoir One に懸濁します。



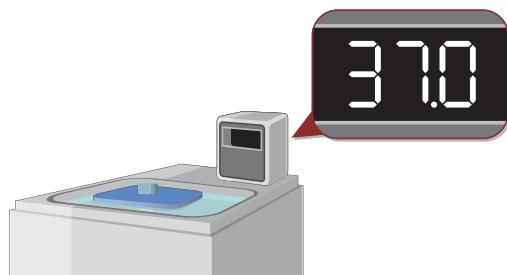
⑤ 凍結保存用チューブに分注します。



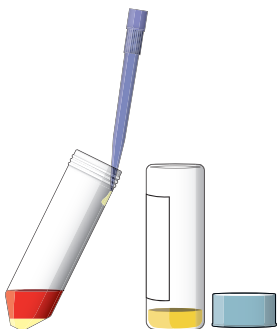
⑥ ディープフリーザー (-80°C) 中に凍結保存します。

2. 融解方法

① 凍結した細胞を 37°C の恒温水槽中で速やかに解凍します。



② 直ちに、DMEM(+FBS) 10ml を入れた遠心用チューブに、解凍した細胞浮遊液を添加します。



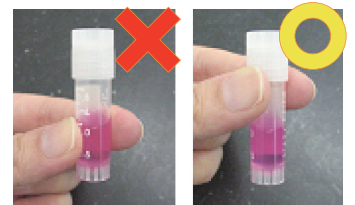
Cell Reservoir One (with DMSO)
(#07485-44)



Nacalai オンラインカタログへ

細胞の損傷を最低限に抑えるために、④～⑥の操作はすばやく行ってください。

凍結液面を手で触らないように注意してください。



体温により徐々に融解

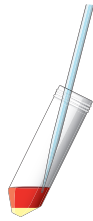
DMEM (4.5g/l Glucose) with L-Gln,
without Sodium Pyruvate, liquid
(#08459-35)



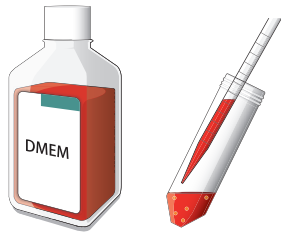
Nacalai オンラインカタログへ

培養細胞の凍結保存

③ 遠心分離 (1,000rpm 4℃ 5min) し、アスピレーターで上清を除去します。



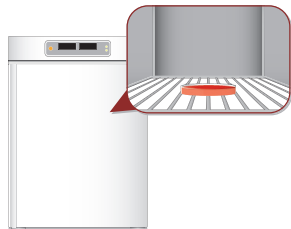
④ DMEM(+FBS) 10ml を加えて細胞を分散させます。



⑤ 培養ディッシュ (10cm) に植え込みます。



⑥ 37℃ 5% 炭酸ガスインキュベーターで培養します。



Q&A

Q1. 貯法が冷蔵になっているが、小分けして冷凍保存しておいても問題ないですか？
冷蔵、および冷凍保存時の使用期限を教えてください。

A1. 保存は冷凍でも問題ありませんが、凍結融解を極力避けるため、1回使用量毎に小分けして頂くことをお勧めします。小分けした状態では、冷蔵、冷凍ともに未開封状態と同期間問題なく使用頂けると思いますが、保証はしておりません。

Q2. 細胞 50 万個～1,000 万個を本品 1ml に懸濁させるとありますが、細胞数が少ない時などは 1ml 必要ないのでは？細胞数が少ない時は、どの程度まで本品の量を少なくしても、対応できますか？

A2. 本品の液量についてですが、細胞密度として 50 万～1,000 万個/ml/tube となるように使用頂ければ液量を減らしても問題ありません(細胞密度が小さいと生存率が低下しますので適宜液量を調製して使用ください)。
一般的に細胞密度として 100～500 万個/ml となるように調製して頂ければ十分かと思えます。

Q3. 本製品の HEK293 (MSR) 細胞での使用データ、もしくは無脊椎動物の細胞での使用データ等あればお教えてください。

A3. 現時点で HEK293 細胞に関してはデータがありませんが、HEK293 細胞はヒト由来株化細胞であり、他のヒト由来株化細胞と比較しても極端に悪くなるということは無いと考えられます。無脊椎動物に関しては、例えば昆虫細胞(Sf-9)で確認しております。細かい部分はユーザー様の条件下で、サンプルを試していただくのが一番良いと思われまます。

培養細胞の凍結保存

Q4. ヒト由来の線維芽細胞およびヒト血球系細胞のデータはありますか？

A4. <ヒト由来の線維芽細胞について>

残念ながらヒト由来の線維芽細胞については検討しておりません。ヒト以外では下記の線維芽細胞で確認しております。

- ・ L929 (マウス結合組織由来)
- ・ RC4 (ウサギ角膜由来)
- ・ KUSA-A1 (マウス間葉系幹細胞由来)

ヒト血球系の細胞については下記の通りです。

- ・ WIL2-NS (脾臓由来)
- ・ HL-60-RG (白血病由来)
- ・ Jurkat (白血病 T 細胞由来)

Q5. ① 現在、自作の血清 (DMSO 含有) で細胞を保存しています。12 カ月後の生存率のデータとして、DMSO 含有の血清で保存した場合と本製品で保存した場合の比較のデータはありますか？

② セリシンでコートしたディッシュに細胞をまくと増殖が促進されるという論文があるが、本製品の生存率が高いのはセリシンの増殖作用によるものですか？

A5. ① CHO DP-12、HepG2、RIN-5F に関しては 12 カ月後の比較データがあります。

- ・ CHO DP-12 の生存率は、Cell Reservoir One、FBS (10% DMSO) とともに約 90%
- ・ HepG2 および Rin5F の生存率は、Cell Reservoir One、FBS (10% DMSO) とともに約 80% 以上のように Cell Reservoir One は FBS (10% DMSO) とほぼ同等の成績が得られています。

② 現時点では、はっきりとした要因は特定できておりませんが

1. セリシンの持つ親水性により、細胞を凍結融解のストレスから守る
2. セリシンの持つ DMSO の毒性緩和作用
3. セリシンの持つ細胞増殖能

等の複合要因によるものと考えています。

尚、当該論文では、高分子のセリシンをゲル化させディッシュにコートすることにより接着性を高め増殖を良くするのが主目的のようです。セリシンは分子量によって特性が異なります。本製品に用いているセリシンは上記論文の目的とは異なり、細胞保存効果がもっとも高くなる分子量 (より低分子のもの) のものを使用しています。

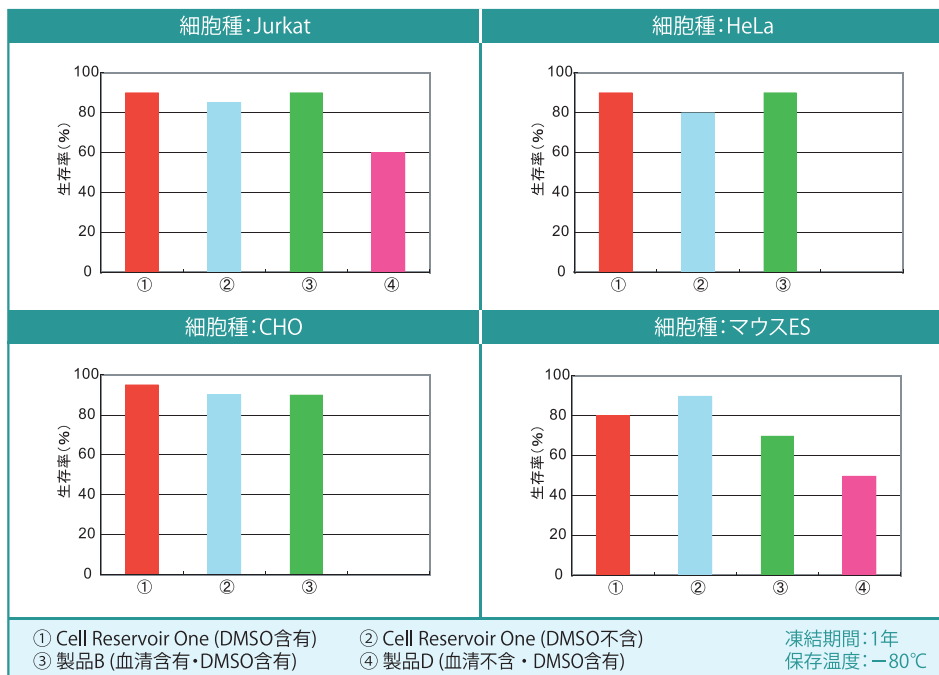
製品の種類と使い分け

◆ Cell Reservoir One DMSO 含有と不含タイプについて

詳細は BULLETIN L-98 をご参照ください。

Cell Reservoir One は、**マコ由来タンパク質のセリシンを主成分とした細胞保存液**です。セリシンは、血清と同程度の凍結保存効果を有する上に、DMSO の毒性緩和作用を示します。しかしながら、一般的に DMSO が細胞の機能に影響を与えることが指摘されていることから、DMSO 含有と DMSO 不含タイプの 2 種類の製品を用意しています。

比較例



Cell Reservoir One (with DMSO)
(#07485-44)



Nacalai オンラインカタログへ

Cell Reservoir One (without DMSO)
(#07579-24)



Nacalai オンラインカタログへ

培養細胞の凍結保存

Cell Reservoir One (ガラス化法用) #11325-62

実験プロトコール

● 保存時

- ① 細胞を剥離液 (0.25% トリプシン / コラゲナーゼ IV 溶液など) によって剥離し、なるべくコロニーを崩さないように回収します。
- ② 回収した細胞を遠心し、上清を可能な限り除去します。
- ③ 本製品を 200 μ l 加え、コロニーを崩さないよう注意しながら 4~5 回ピペティングし、凍結保存用チューブに移してしっかりと蓋をします。
- ④ ピンセットでチューブを挟み、チューブの口が液体窒素の液面に浸からないところまで沈めて 10 秒、その後完全に沈めて凍結させます。(※操作③、④をおおよそ **60 秒以内**に行ってください。)
- ⑤ 液体窒素に浸したまま液体窒素タンクの近くまで運び、素早く移して保存します。

● 解凍時

- ① 遠沈管に 37°C に温めた培地を分注します。
- ② 液体窒素タンク内から凍結細胞保存チューブを取り出し、小分けした液体窒素に沈めてクリーンベンチの近くまで運びます。
- ③ チューブを液体窒素から取り出し、素早くクリーンベンチ内で蓋を開け、一度逆さにして内部の液体窒素を捨てます。
- ④ 温めた培地を凍結保存用チューブに適量添加し、底部に吹き付けるようにピペティングし、素早く解凍します。
- ⑤ 懸濁液を①の遠沈管に回収します。
- ⑥ 培地で凍結保存用チューブを洗って⑤の遠沈管に回収します。
- ⑦ 遠沈管を遠心した後、上清を可能な限り除去して、培地に懸濁し播種します。

Cell Reservoir One, Vitrify
(#11325-62)



 Nacal オンラインカタログへ



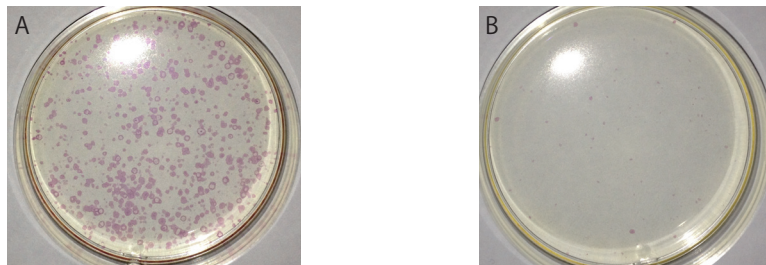
培養細胞の凍結保存

使用例 (ヒト iPS 細胞 (201B7 株 *) での生存率の比較)

*Takahashi, K. *et al. Cell*, 2007 Nov 30;131(5):861-872

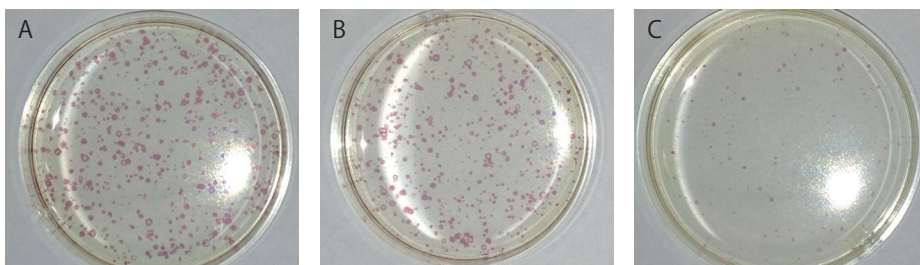
データご提供：外部研究機関

● 凍結操作時間 60 秒



本製品、DAP213 それぞれを用いて液体窒素中で 2 週間以上凍結保存し、細胞を起こしてから 4 日目にアルカリホスファターゼを用いて各保存液の性能を確認しました。DAP213 ではほぼ全滅しましたが、本製品では非常に良好な生存率を示しました。

● 凍結操作時間 15 秒



本製品、DAP213、A 社製品それぞれを用いて液体窒素中で 2 週間以上凍結保存し、細胞を起こしてから 4 日目にアルカリホスファターゼを用いて各保存液の性能を確認しました。本製品は DAP213 と同等以上の結果が得られました。

結果

凍結操作時間 15 秒、60 秒共に同等以上の結果が得られました。特に凍結操作時間 60 秒の場合、従来法の DAP213 と比較し、細胞の生存率に劇的な差が確認されました。以上の結果から、本製品は iPS 細胞の操作に熟練された方から、未経験者の方まで、安定した結果が得られます。

	使用した保存液	コロニー数		
		ガラス化法		緩慢凍結法
		60 秒	15 秒	
A	本製品	672	563	—
B	DAP213	37	479	—
C	A 社製品	—	—	172

Appendix

培地組成表

● DMEM

製品番号	09891	08456	08490	08457	08458
培地名	DMEM (No Glucose)	DMEM (Low Glucose)	DMEM (Low Glucose)	DMEM (High Glucose)	DMEM (High Glucose)
Components shown as	mg/liter	mg/liter	mg/liter	mg/liter	mg/liter
Inorganic Salts:					
Calcium Chloride • 2H ₂ O	265.00	265.00	265.00	265.00	265.00
Iron (III) Nitrate • 9H ₂ O	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Magnesium Sulfate	97.67	97.67	97.67	97.67	97.67
Potassium Chloride	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00
Sodium Chloride	6400.00	6400.00	6400.00	4750.00	6400.00
Sodium Dihydrogenphosphate	109.00	109.00	109.00	109.00	109.00
Sodium Hydrogen Carbonate	3700.00	3700.00	3700.00	3700.00	3700.00
Amino Acids:					
L-Arginine • HCl	84.00	84.00	84.00	84.00	84.00
L-Cystine • 2HCl	62.60	62.60	62.60	62.60	62.60
L-Glutamine	584.00	584.00	—	584.00	584.00
Glycine	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
L-Histidine • HCl • H ₂ O	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00
L-Isoleucine	105.00	105.00	105.00	105.00	105.00
L-Leucine	105.00	105.00	105.00	105.00	105.00
L-Lysine • HCl	146.00	146.00	146.00	146.00	146.00
L-Methionine	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
L-Phenylalanine	66.00	66.00	66.00	66.00	66.00
L-Serine	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00
L-Threonine	95.00	95.00	95.00	95.00	95.00
L-Tryptophan	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
L-Tyrosine • 2Na • 2H ₂ O	104.00	104.00	104.00	104.00	104.00
L-Valine	94.00	94.00	94.00	94.00	94.00
Vitamins:					
Choline Chloride	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Folic Acid	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
myo-Inositol	7.20	7.20	7.20	7.20	7.20
Nicotinamide	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
D-Pantothenic Acid Calcium Salt	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Pyridoxine • HCl	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Vitamin B ₁ • HCl	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Vitamin B ₂	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Others:					
D-Glucose	—	1000.00	1000.00	4500.00	4500.00
HEPES	—	—	—	5958.00	—
Phenol Red	14.93	14.93	—	14.93	14.93
Sodium Pyruvate	—	110.00	110.00	—	110.00

Appendix

培地組成表つづき

● DMEM

製品番号	08459	11585	11584	08489	08488
培地名	DMEM (High Glucose)	DMEM (High Glucose)	DMEM (High Glucose)	DMEM (High Glucose)	DMEM (High Glucose)
Components shown as	mg/liter	mg/liter	mg/liter	mg/liter	mg/liter
Inorganic Salts:					
Calcium Chloride · 2H ₂ O	265.00	265.00	265.00	265.00	265.00
Iron (III) Nitrate · 9H ₂ O	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Magnesium Sulfate	97.67	97.67	97.67	97.67	97.67
Potassium Chloride	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00
Sodium Chloride	6400.00	4750.00	6400.00	6400.00	6400.00
Sodium Dihydrogenphosphate	109.00	109.00	109.00	109.00	109.00
Sodium Hydrogen Carbonate	3700.00	3700.00	3700.00	3700.00	3700.00
Amino Acids:					
L-Arginine · HCl	84.00	84.00	84.00	84.00	84.00
L-Cystine · 2HCl	62.60	62.60	62.60	62.60	62.60
L-Glutamine	584.00	—	—	—	—
Glycine	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
L-Histidine · HCl · H ₂ O	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00
L-Isoleucine	105.00	105.00	105.00	105.00	105.00
L-Leucine	105.00	105.00	105.00	105.00	105.00
L-Lysine · HCl	146.00	146.00	146.00	146.00	146.00
L-Methionine	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
L-Phenylalanine	66.00	66.00	66.00	66.00	66.00
L-Serine	42.00	42.00	42.00	42.00	42.00
L-Threonine	95.00	95.00	95.00	95.00	95.00
L-Tryptophan	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
L-Tyrosine · 2Na · 2H ₂ O	104.00	104.00	104.00	104.00	104.00
L-Valine	94.00	94.00	94.00	94.00	94.00
Vitamins:					
Choline Chloride	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Folic Acid	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
<i>myo</i> -Inositol	7.20	7.20	7.20	7.20	7.20
Nicotinamide	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
D-Pantothenic Acid Calcium Salt	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Pyridoxine · HCl	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Vitamin B ₁ · HCl	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Vitamin B ₂	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Others:					
D-Glucose	4500.00	4500.00	4500.00	4500.00	4500.00
HEPES	—	5958.00	—	—	—
Phenol Red	14.93	14.93	14.93	—	14.93
Sodium Pyruvate	—	—	110.00	—	—

Appendix

培地組成表つづき

● DMEM/Ham's F-12

製品番号	08460	05177	11581	11582
培地名	DMEM/Ham's F-12	DMEM/Ham's F-12	DMEM/Ham's F-12	DMEM/Ham's F-12
Components shown as	mg/liter	mg/liter	mg/liter	mg/liter
Inorganic Salts:				
Calcium Chloride · 2H ₂ O	154.52	154.52	154.52	154.52
Copper (II) Sulfate · 5H ₂ O	0.0013	0.0013	0.0013	0.0013
Iron (III) Nitrate · 9H ₂ O	0.05	0.05	0.05	0.05
Iron (II) Sulfate · 7H ₂ O	0.42	0.42	0.42	0.42
Magnesium Chloride · 6H ₂ O	61.20	61.20	61.20	61.20
Magnesium Sulfate	48.84	48.84	48.84	48.84
Potassium Chloride	311.80	311.80	311.80	311.80
Sodium Chloride	6996.00	6996.00	6996.00	6996.00
Sodium Dihydrogenphosphate	54.30	54.30	54.30	54.30
Sodium Hydrogen Carbonate	1200.00	1200.00	2,438.00	2,438.00
<i>di</i> -Sodium Hydrogenphosphate	71.02	71.02	71.02	71.02
Zinc Sulfate · 7H ₂ O	0.43	0.43	0.43	0.43
Amino Acids:				
L-Alanine	4.45	4.45	4.45	4.45
L-Arginine · HCl	147.50	147.50	147.50	147.50
L-Asparagine · H ₂ O	7.50	7.50	7.50	7.50
L-Aspartic Acid	6.65	6.65	6.65	6.65
L-Cysteine · HCl · H ₂ O	17.56	17.56	17.56	17.56
L-Cystine · 2HCl	31.29	31.29	31.29	31.29
L-Glutamic Acid	7.35	7.35	7.35	7.35
L-Glutamine	365.00	365.00	365.00	365.00
Glycine	18.75	18.75	18.75	18.75
L-Histidine · HCl · H ₂ O	31.48	31.48	31.48	31.48
L-Isoleucine	54.47	54.47	54.47	54.47
L-Leucine	59.05	59.05	59.05	59.05
L-Lysine · HCl	91.25	91.25	91.25	91.25
L-Methionine	17.24	17.24	17.24	17.24
L-Phenylalanine	35.48	35.48	35.48	35.48
L-Proline	17.25	17.25	17.25	17.25
L-Serine	26.25	26.25	26.25	26.25
L-Threonine	53.45	53.45	53.45	53.45
L-Tryptophan	9.02	9.02	9.02	9.02
L-Tyrosine · 2Na · 2H ₂ O	55.79	55.79	55.79	55.79
L-Valine	52.85	52.85	52.85	52.85
Vitamins:				
D-Biotin	0.0035	0.0035	0.0035	0.0035
Choline Chloride	8.98	8.98	8.98	8.98
Folic Acid	2.66	2.66	2.66	2.66
<i>myo</i> -Inositol	12.60	12.60	12.60	12.60
Nicotinamide	2.02	2.02	2.02	2.02
D-Pantothenic Acid Calcium Salt	2.24	2.24	2.24	2.24
Pyridoxine · HCl	2.03	2.03	2.03	2.03
Vitamin B ₁ · HCl	2.17	2.17	2.17	2.17
Vitamin B ₂	0.22	0.22	0.22	0.22
Vitamin B ₁₂	0.68	0.68	0.68	0.68
Others:				
D-Glucose	3151.00	3151.00	3151.00	3151.00
HEPES	3574.50	3574.50	—	—
Hypoxanthine	2.10	2.10	2.10	2.10
Linoleic Acid	0.042	0.042	0.042	0.042
Lipoic Acid	0.11	0.11	0.11	0.11
Phenol Red	8.10	—	8.10	—
Putrescine · 2HCl	0.081	0.081	0.081	0.081
Sodium Pyruvate	55.00	55.00	55.00	55.00
Thymidine	0.37	0.37	0.37	0.37

Appendix

培地組成表つづき

● 液体培地 DMEM/Ham's F-12

製品番号	11583	09893
培地名	DMEM/Ham's F-12	DMEM/Ham's F-12 (No Glucose)
Components shown as	mg/liter	mg/liter
Inorganic Salts:		
Calcium Chloride · 2H ₂ O	154.52	154.52
Copper (II) Sulfate · 5H ₂ O	0.0013	0.0013
Iron (III) Nitrate · 9H ₂ O	0.05	0.05
Iron (II) Sulfate · 7H ₂ O	0.42	0.42
Magnesium Chloride · 6H ₂ O	61.20	61.20
Magnesium Sulfate	48.84	48.84
Potassium Chloride	311.80	311.80
Sodium Chloride	6996.00	6996.00
Sodium Dihydrogenphosphate	54.30	54.30
Sodium Hydrogen Carbonate	1200.00	1200.00
<i>di</i> -Sodium Hydrogenphosphate	71.02	71.02
Zinc Sulfate · 7H ₂ O	0.43	0.43
Amino Acids:		
L-Alanine	4.45	4.45
L-Arginine · HCl	147.50	147.50
L-Asparagine · H ₂ O	7.50	7.50
L-Aspartic Acid	6.65	6.65
L-Cysteine · HCl · H ₂ O	17.56	17.56
L-Cystine · 2HCl	31.29	31.29
L-Glutamic Acid	7.35	7.35
L-Glutamine	—	365.00
Glycine	18.75	18.75
L-Histidine · HCl · H ₂ O	31.48	31.48
L-Isoleucine	54.47	54.47
L-Leucine	59.05	59.05
L-Lysine · HCl	91.25	91.25
L-Methionine	17.24	17.24
L-Phenylalanine	35.48	35.48
L-Proline	17.25	17.25
L-Serine	26.25	26.25
L-Threonine	53.45	53.45
L-Tryptophan	9.02	9.02
L-Tyrosine · 2Na · 2H ₂ O	55.79	55.79
L-Valine	52.85	52.85
Vitamins:		
D-Biotin	0.0035	0.0035
Choline Chloride	8.98	8.98
Folic Acid	2.66	2.66
<i>myo</i> -Inositol	12.60	12.60
Nicotinamide	2.02	2.02
D-Pantothenic Acid Calcium Salt	2.24	2.24
Pyridoxine · HCl	2.03	2.03
Vitamin B ₁ · HCl	2.17	2.17
Vitamin B ₂	0.22	0.22
Vitamin B ₁₂	0.68	0.68
Others:		
D-Glucose	3151.00	—
HEPES	3574.50	—
Hypoxanthine	2.10	2.10
Linoleic Acid	0.042	0.042
Lipoic Acid	0.11	0.11
Phenol Red	8.10	8.10
Putrescine · 2HCl	0.081	0.081
Sodium Pyruvate	55.00	55.00
Thymidine	0.37	0.37

● Ham's F-12

製品番号	17458
培地名	Ham's F-12
Components shown as	mg/liter
Inorganic Salts:	
Calcium Chloride · 2H ₂ O	44.10
Copper (II) Sulfate · 5H ₂ O	0.0025
Iron (III) Nitrate · 9H ₂ O	—
Iron (II) Sulfate · 7H ₂ O	0.834
Magnesium Chloride · 6H ₂ O	123.00
Magnesium Sulfate	—
Potassium Chloride	224.00
Sodium Chloride	7599.00
Sodium Dihydrogenphosphate	—
Sodium Hydrogen Carbonate	1176.00
<i>di</i> -Sodium Hydrogenphosphate	142.04
Zinc Sulfate · 7H ₂ O	0.863
Amino Acids:	
L-Alanine	9.00
L-Arginine · HCl	211.00
L-Asparagine · H ₂ O	15.01
L-Aspartic Acid	13.30
L-Cysteine · HCl · H ₂ O	35.00
L-Cystine · 2HCl	—
L-Glutamic Acid	14.70
L-Glutamine	146.00
Glycine	7.51
L-Histidine · HCl · H ₂ O	20.96
L-Isoleucine	3.94
L-Leucine	13.10
L-Lysine · HCl	36.50
L-Methionine	4.48
L-Phenylalanine	4.96
L-Proline	34.50
L-Serine	10.50
L-Threonine	11.90
L-Tryptophan	2.04
L-Tyrosine · 2Na · 2H ₂ O	7.78
L-Valine	11.70
Vitamins:	
D-Biotin	0.0073
Choline Chloride	13.96
Folic Acid	1.32
<i>myo</i> -Inositol	18.00
Nicotinamide	0.037
D-Pantothenic Acid Calcium Salt	0.48
Pyridoxine · HCl	0.062
Vitamin B ₁ · HCl	0.34
Vitamin B ₂	0.038
Vitamin B ₁₂	1.36
Others:	
D-Glucose	1802.00
HEPES	—
Hypoxanthine	4.08
Linoleic Acid	0.084
Lipoic Acid	0.21
Phenol Red	1.30
Putrescine · 2HCl	0.161
Sodium Pyruvate	110.00
Thymidine	0.73

Appendix

培地組成表つづき

● MEM

製品番号	21442	21443	09848
培地名	MEM	MEM	MEM (No Glucose)
Components shown as	mg/liter	mg/liter	mg/liter
Inorganic Salts:			
Calcium Chloride · 2H ₂ O	265.00	265.00	265.00
Magnesium Sulfate	97.67	97.67	97.67
Potassium Chloride	400.00	400.00	400.00
Sodium Chloride	6800.00	6800.00	6800.00
Sodium Dihydrogenphosphate	122.00	122.00	122.00
Sodium Hydrogen Carbonate	2200.00	2200.00	2200.00
Amino Acids:			
L-Alanine	—	8.90	8.90
L-Arginine · HCl	126.00	126.00	126.00
L-Asparagine · H ₂ O	—	15.00	15.00
L-Aspartic Acid	—	13.30	13.30
L-Cysteine · HCl · H ₂ O	—	—	—
L-Cystine · 2HCl	31.30	31.30	31.30
L-Glutamic Acid	—	14.70	14.70
L-Glutamine	292.00	292.00	292.00
Glycine	—	7.50	7.50
L-Histidine · HCl · H ₂ O	42.00	42.00	42.00
L-Isoleucine	52.00	52.00	52.00
L-Leucine	52.00	52.00	52.00
L-Lysine · HCl	72.50	72.50	72.50
L-Methionine	15.00	15.00	15.00
L-Phenylalanine	32.00	32.00	32.00
L-Proline	—	11.50	11.50
L-Serine	—	10.50	10.50
L-Threonine	48.00	48.00	48.00
L-Tryptophan	10.00	10.00	10.00
L-Tyrosine · 2Na · 2H ₂ O	51.90	51.90	51.90
L-Valine	46.00	46.00	46.00
Vitamins:			
L-Ascorbic Acid	—	—	—
D-Biotin	—	—	—
Choline Chloride	1.00	1.00	1.00
Folic Acid	1.00	1.00	1.00
<i>myo</i> -Inositol	2.00	2.00	2.00
Nicotinamide	1.00	1.00	1.00
D-Pantothenic Acid Calcium Salt	1.00	1.00	1.00
Pyridoxal · HCl	1.00	1.00	1.00
Vitamin B ₁ · HCl	1.00	1.00	1.00
Vitamin B ₂	0.10	0.10	0.10
Vitamin B ₁₂	—	—	—
Others:			
Adenosine	—	—	—
Cytidine	—	—	—
2'-Deoxyadenosine	—	—	—
2'-Deoxycytidine · HCl	—	—	—
2'-Deoxyguanosine · H ₂ O	—	—	—
D-Glucose	1000.00	1000.00	—
Guanosine	—	—	—
Lipoic Acid	—	—	—
Phenol Red	10.00	10.00	10.00
Sodium Pyruvate	—	—	—
Thymidine	—	—	—
Uridine	—	—	—

● α - MEM

21444	21445
α - MEM	α - MEM
mg/liter	mg/liter
265.00	265.00
97.67	97.67
400.00	400.00
6800.00	6800.00
122.00	122.00
2200.00	2200.00
25.00	25.00
126.00	126.00
50.00	50.00
30.00	30.00
100.00	100.00
31.30	31.30
75.00	75.00
292.00	292.00
50.00	50.00
42.00	42.00
52.00	52.00
52.00	52.00
72.50	72.50
15.00	15.00
32.00	32.00
40.00	40.00
25.00	25.00
48.00	48.00
10.00	10.00
51.90	51.90
46.00	46.00
50.00	50.00
0.10	0.10
1.00	1.00
1.00	1.00
2.00	2.00
1.00	1.00
1.00	1.00
1.00	1.00
1.00	1.00
0.10	0.10
1.36	1.36
10.00	—
10.00	—
10.00	—
11.00	—
10.67	—
1000.00	1000.00
10.00	—
0.20	0.20
10.00	10.00
110.00	110.00
10.00	—
10.00	—

Appendix

培地組成表つづき

● RPMI 1640

製品番号	30263	30264	06261	05176	09892
培地名	RPMI 1640	RPMI 1640	RPMI 1640	RPMI 1640	RPMI 1640 (No Glucose)
Components shown as	mg/liter	mg/liter	mg/liter	mg/liter	mg/liter
Inorganic Salts:					
Calcium Nitrate · 4H ₂ O	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Magnesium Sulfate	48.84	48.84	48.84	48.84	48.84
Potassium Chloride	400.00	400.00	400.00	400.00	400.00
Sodium Chloride	5650.00	6000.00	6000.00	6000.00	6000.00
Sodium Hydrogen Carbonate	2000.00	2000.00	2000.00	2000.00	2000.00
<i>di</i> -Sodium Hydrogenphosphate	800.00	800.00	800.00	800.00	800.00
Amino Acids:					
L-Arginine	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00
L-Asparagine · H ₂ O	56.82	56.82	56.82	56.82	56.82
L-Aspartic Acid	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
L-Cystine · 2HCl	65.20	65.20	65.20	65.20	65.20
L-Glutamic Acid	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
L-Glutamine	300.00	300.00	300.00	—	300.00
Glycine	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
L-Histidine	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
Hydroxy-L-proline	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
L-Isoleucine	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
L-Leucine	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
L-Lysine · HCl	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00
L-Methionine	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
L-Phenylalanine	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
L-Proline	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
L-Serine	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
L-Threonine	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
L-Tryptophan	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
L-Tyrosine · 2Na · 2H ₂ O	28.83	28.83	28.83	28.83	28.83
L-Valine	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Vitamins:					
<i>p</i> -Aminobenzoic Acid	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
D-Biotin	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Choline Chloride	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Folic Acid	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>myo</i> -Inositol	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00
Nicotinamide	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
D-Pantothenic Acid Calcium Salt	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Pyridoxine · HCl	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin B ₁ · HCl	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin B ₂	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamin B ₁₂	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Others:					
D-Glucose	2000.00	2000.00	2000.00	2000.00	—
Glutathione	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
HEPES	5958.00	—	—	—	—
Phenol Red	5.00	5.00	—	5.00	5.00

Appendix

培地組成表つづき

● IMDM

製品番号	11506
培地名	IMDM
Components shown as	mg/liter
Inorganic Salts:	
Calcium Chloride	165.00
Calcium Chloride, Anhydrous	—
Iron(III) Nitrate • 9H ₂ O	—
Magnesium Sulfate	97.67
Potassium Chloride	330.00
Potassium Nitrate	0.076
Sodium Chloride	4500.00
Sodium Dihydrogenphosphate, Anhydrous	109.00
Sodium Hydrogen Carbonate	3024.00
Sodium Selenite	0.0173
Amino Acids:	
L-Alanine	25.00
L-Arginine • HCl	84.00
L-Asparagine • H ₂ O	28.40
L-Aspartic Acid	30.00
L-Cystine • 2HCl	91.20
L-Glutamic Acid	75.00
L-Glutamine	584.00
Glycine	30.00
L-Histidine • HCl • H ₂ O	42.00
L-Isoleucine	105.00
L-Leucine	105.00
L-Lysine • HCl	146.00
L-Methionine	30.00
L-Phenylalanine	66.00
L-Proline	40.00
L-Serine	42.00
L-Threonine	95.00
L-Tryptophan	16.00
L-Tyrosine • 2Na • 2H ₂ O	104.00
L-Valine	94.00
Vitamins:	
D-Biotin	0.013
Choline Chloride	4.00
Folic Acid	4.00
myo-Inositol	7.20
Nicotinamide	4.00
D-Pantothenic Acid Calcium Salt	4.00
Pyridoxal • HCl	4.00
Vitamin B ₁ • HCl	4.00
Vitamin B ₂	0.40
Vitamin B ₁₂	0.013
Others:	
D-Glucose	4500.00
HEPES	5958.00
Phenol Red	15.00
Sodium Pyruvate	110.00

● G-MEM

製品番号	12965
培地名	G-MEM
Components shown as	mg/liter
Inorganic Salts:	
Calcium Chloride	—
Calcium Chloride, Anhydrous	200.00
Iron(III) Nitrate • 9H ₂ O	0.10
Magnesium Sulfate	97.67
Potassium Chloride	400.00
Potassium Nitrate	—
Sodium Chloride	6400.00
Sodium Dihydrogenphosphate, Anhydrous	107.82
Sodium Hydrogen Carbonate	2750.00
Sodium Selenite	—
Amino Acids:	
L-Alanine	—
L-Arginine • HCl	42.00
L-Asparagine • H ₂ O	—
L-Aspartic Acid	—
L-Cystine • 2HCl	31.00
L-Glutamic Acid	—
L-Glutamine	292.00
Glycine	—
L-Histidine • HCl • H ₂ O	21.00
L-Isoleucine	52.00
L-Leucine	52.00
L-Lysine • HCl	73.00
L-Methionine	15.00
L-Phenylalanine	33.00
L-Proline	—
L-Serine	—
L-Threonine	47.60
L-Tryptophan	8.00
L-Tyrosine • 2Na • 2H ₂ O	52.00
L-Valine	46.80
Vitamins:	
D-Biotin	—
Choline Chloride	2.00
Folic Acid	2.00
myo-Inositol	3.60
Nicotinamide	2.00
D-Pantothenic Acid Calcium Salt	2.00
Pyridoxal • HCl	2.00
Vitamin B ₁ • HCl	2.00
Vitamin B ₂	0.20
Vitamin B ₁₂	—
Others:	
D-Glucose	4500.00
HEPES	—
Phenol Red	15.00
Sodium Pyruvate	—

Appendix

平衡塩類組成表

製品番号	02492	14249	11482	13397	11480	11481
製品名	D-PBS(+) Preparation Reagent(Ca, Mg Solution)(100x)	D-PBS(-) without Ca and Mg, liquid	D-PBS(-) without Ca and Mg, liquid(10x)	Phosphate Buffered Saline without KCl (pH 7.4)	Phosphate Buffered Saline without KCl (pH 7.2)	Phosphate Buffered Saline without KCl(10x)(pH 7.2)
Components shown as	mg/lite	mg/lite	mg/lite	mg/lite	mg/lite	mg/lite
Calcium Chloride	10.00	—	—	—	—	—
Calcium Chloride · 2H ₂ O	—	—	—	—	—	—
D-Glucose	—	—	—	—	—	—
Magnesium Chloride · 6H ₂ O	10.00	—	—	—	—	—
Magnesium Sulfate	—	—	—	—	—	—
Phenol Red, Sodium	—	—	—	—	—	—
Potassium Chloride	—	200.00	2000.00	—	—	—
Potassium Dihydrogenphosphate	—	200.00	2000.00	144.00	210.00	2100.00
Sodium Chloride	—	8000.00	80000.00	9000.00	9000.00	90000.00
Sodium Hydrogen Carbonate	—	—	—	—	—	—
di-Sodium Hydrogenphosphate	—	1150.00	11500.00	795.00	726.00	7260.00

製品番号	17459	09735	17460	17461
製品名	HBSS(+) with Ca, Mg and Phenol Red, liquid	HBSS(+) with Ca, Mg, without Phenol Red, liquid	HBSS(-) without Ca and Mg, with Phenol Red, liquid	HBSS(-) without Ca, Mg and Phenol Red, liquid
Components shown as	mg/lite	mg/lite	mg/lite	mg/lite
Calcium Chloride	—	—	—	—
Calcium Chloride · 2H ₂ O	184.45	184.45	—	—
D-Glucose	1000.00	1000.00	1000.00	1000.00
Magnesium Chloride · 6H ₂ O	—	—	—	—
Magnesium Sulfate	97.67	97.67	—	—
Phenol Red, Sodium	10.20	—	10.20	—
Potassium Chloride	400.00	400.00	400.00	400.00
Potassium Dihydrogenphosphate	60.00	60.00	60.00	60.00
Sodium Chloride	8000.00	8000.00	8000.00	8000.00
Sodium Hydrogen Carbonate	350.00	350.00	350.00	350.00
di-Sodium Hydrogenphosphate	47.88	47.88	47.88	47.88

Appendix

細胞培養カスタム培地

弊社では長年培ってきた培地の製造技術を活かして、細胞培養用カスタム培地の受託製造をお請けしています。

このようなご経験はありませんか？

文献に掲載されていた
組成の培地を試したい

ビタミンの濃度を変えたい

特定のアミノ酸を除きたい

エストロゲン作用があるので
フェノールレッド含有は困る

既存の培地組成を
変更した培地を使用したい

ナカライテスクでは長年培った培地の製造技術を活かして、
細胞培養用カスタム培地の受託製造をお請けしています。

納品までの流れは5ステップ



—ご注文から納品までの期間—
粉末培地・液体培地ともに5～8週間

基本条件

製品形態	粉末	液体
最少納品量	500g	500ml
包装	ガラス瓶	滅菌済 PET 容器 (100ml/500ml)
品質保証項目	・pH ・浸透圧 ・エンドトキシン試験	・pH ・浸透圧 ・エンドトキシン試験 ・マイコプラズマ試験

見積依頼

細胞培養用カスタム培地の照会・見積につきましては、弊社 Web site の受託サービスのページよりお問い合わせください。受託サービスのページへは <https://www.nacalai.co.jp/jyutaku/custom-baichi.html> または右記 QR コードより、アクセスいただけます。



ご注意 試験・研究用以外には使用しないでください。

※掲載内容は予告なく変更になる場合があります。
※QRコードは(株)デンソーウェブの登録商標です。

ナカライテスク株式会社

〒604-0855 京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町 498

ウェブサイト

<https://www.nacalai.co.jp/>

価格・納期のご照会

試薬はここに
0120-489-552

製品に関する技術的なご照会

<https://www.nacalai.co.jp/ss/Contact/>
TEL:075-211-2703

■販売取扱店

液体培地 (詳細な培地組成は 28 ~ 34 ページをご参照ください。)

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
DMEM(No Glucose) with L-Gln, without Sodium Pyruvate, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	09891-25	500 mL	4,200
DMEM(1.0g/l Glucose) with L-Gln and Sodium Pyruvate, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	08456-65	500 mL	1,400
			08456-36	10 X 500 mL	11,500
DMEM(1.0g/l Glucose) with Sodium Pyruvate, without L-Gln and Phenol Red, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	08490-05	500 mL	2,800
DMEM(4.5g/l Glucose) with L-Gln and HEPES, without Sodium Pyruvate, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	08457-55	500 mL	2,100
DMEM(4.5g/l Glucose) with L-Gln and Sodium Pyruvate, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	08458-45	500 mL	1,400
			08458-16	10 X 500 mL	11,500
DMEM(4.5g/l Glucose) with L-Gln, without Sodium Pyruvate, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	08459-35	500 mL	1,400
			08459-64	10 X 500 mL	11,500
DMEM(4.5g/l Glucose) with HEPES, without L-Gln and Sodium Pyruvate, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	11585-75	500 mL	3,200
DMEM(4.5g/l Glucose) with Sodium Pyruvate, without L-Gln, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	11584-85	500 mL	2,700
DMEM(4.5g/l Glucose) without L-Gln, Sodium Pyruvate and Phenol Red, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	08489-45	500 mL	1,400
DMEM(4.5g/l Glucose) without L-Gln and Sodium Pyruvate, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	08488-55	500 mL	1,400
DMEM/Ham's F-12 with L-Gln, Sodium Pyruvate and HEPES, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	08460-95	500 mL	1,700
DMEM/Ham's F-12 with L-Gln, Sodium Pyruvate and HEPES, without Phenol Red, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	05177-15	500 mL	3,000
DMEM/Ham's F-12 with L-Gln and Sodium Pyruvate, without HEPES, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	11581-15	500 mL	1,900
DMEM/Ham's F-12 with L-Gln and Sodium Pyruvate, without HEPES and Phenol Red, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	11582-05	500 mL	6,000
DMEM/Ham's F-12 with Sodium Pyruvate and HEPES, without L-Gln, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	11583-95	500 mL	2,000
DMEM/Ham's F-12(No Glucose) with L-Gln and Sodium Pyruvate, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	09893-05	500 mL	4,500
G-MEM with L-Gln, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	12965-65	500 mL	2,550
Ham's F-12 with L-Gln, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	17458-65	500 mL	1,400
IMDM with L-Gln and HEPES, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	11506-05	500 mL	2,300
MEM with Earle's Salts and L-Gln, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	21442-25	500 mL	1,500
MEM with Earle's Salts, L-Gln and Non-Essential Amino Acids, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	21443-15	500 mL	2,300
MEM(No Glucose) with Earle's Salts, L-Gln and Non-Essential Amino Acids, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	09848-05	500 mL	4,500
α -MEM with L-Gln, Ribonucleosides and Deoxyribonucleosides, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	21444-05	500 mL	2,700
α -MEM with L-Gln, without Ribonucleosides and Deoxyribonucleosides, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	21445-95	500 mL	1,500
RPMI 1640 with L-Gln, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	30264-85	500 mL	1,400
			30264-56	10 X 500 mL	11,500
RPMI 1640 with L-Gln and HEPES, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	30263-95	500 mL	2,000
RPMI 1640 with L-Gln, without Phenol Red, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	06261-65	500 mL	1,400
RPMI 1640 without L-Gln, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	05176-25	500 mL	1,500
RPMI 1640(No Glucose) with L-Gln, liquid	SP(細胞培養用)	冷蔵	09892-15	500 mL	4,200

アニマルフリー培地添加剤

● リコンビナントタンパク質

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
Albumin, Human, Recombinant expressed in Rice, Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷蔵	12880-81	1 g	10,000
			12880-94	5 g	43,000
【代替品】 Albumin, Human, Recombinant expressed in Rice, Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷凍	19597-01	1 g	11,000
			19597-14	5 g	45,000
Insulin, Human, Recombinant expressed in Yeast, Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷凍	12878-86	50 mg	9,000
			12878-44	250 mg	33,500
Transferrin, Human, Recombinant expressed in Rice, Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷蔵	12879-34	100 mg	11,500
			12879-05	500 mg	44,500
			12879-21	1 g	78,000

● アミノ酸

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
L- α -Alanine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	12998-32	25 g	7,500
L-Arginine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	11984-32	25 g	5,150
			11984-45	500 g	44,400
L-(+)-Arginine Monohydrochloride, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	12999-22	25 g	4,600
L-Asparagine Monohydrate, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13000-42	25 g	5,900
L-Aspartic Acid, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13002-22	25 g	4,500
L-Cysteine Hydrochloride Monohydrate, Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷蔵	11983-42	25 g	7,050
			11983-55	500 g	58,600
L-Cystine Dihydrochloride, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13003-12	25 g	9,650
L-Glutamic Acid, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13012-92	25 g	4,300
L-Glutamine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13004-02	25 g	5,050
			13004-15	500 g	38,200
Glycine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	12997-42	25 g	2,600
L-Histidine(free base), Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13014-72	25 g	6,150
L-Histidine Monohydrochloride Monohydrate, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13017-42	25 g	6,700
L-Hydroxyproline, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13018-32	25 g	18,400
L-(+)-Isoleucine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13035-02	25 g	11,200
L-Leucine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13036-92	25 g	5,400
L-Lysine Monohydrochloride, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13037-82	25 g	4,400
L-Methionine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13038-72	25 g	6,300
L-(-)-Phenylalanine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13039-62	25 g	7,100
L-(-)-Proline, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13040-22	25 g	7,400
L-Serine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13041-12	25 g	8,900
L-Threonine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13042-02	25 g	7,700
L-Tryptophan, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13043-92	25 g	9,700
L-Tyrosine Disodium Salt Dihydrate, Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷蔵	11985-22	25 g	6,600
			11985-35	500 g	94,000
L-Valine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13046-62	25 g	7,650

● ビタミン

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
p-Aminobenzoic Acid, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13047-52	25 g	5,000
L(+)-Ascorbic Acid, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13048-42	25 g	4,100
D-Biotin, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13049-61	1 g	21,450
Choline Chloride, Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷蔵	13050-34	5 g	6,650
myo-Inositol, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13051-82	25 g	5,150
Pyridoxine Hydrochloride, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13053-04	5 g	4,900
Vitamin B ₁ Hydrochloride, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13052-14	5 g	4,600
Vitamin B ₁₂ , Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷蔵	13054-94	100 mg	7,200

● その他

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
D-(+)-Glucose, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13057-35	500 g	6,250
Glutathione(Reduced Form), free acid, Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷蔵	13056-61	1 g	5,000
Hypoxanthine, Animal-Free	SP(細胞培養用)	室温	13055-71	1 g	5,200
Sodium Pyruvate, Animal-Free	SP(細胞培養用)	冷蔵	13058-12	25 g	6,150

培地添加剤

● Y-27632

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
Y-27632	SP(生化学研究用)	冷凍	08945-71	1 mg	13,200
			08945-84	5 mg	39,000
			08945-42	25 mg	148,000

● リコンビナント FGF2 タンパク質

製品名	メーカー名	貯法	製品番号	容量	価格
Recombinant Human FGF-basic (146 a.a.)	PeproTech	冷凍	100-18C	10 µg	18,000
				50 µg	45,000
Recombinant Human FGF-basic (154 a.a.)	PeproTech	冷凍	100-18B	10 µg	18,000
				50 µg	45,000
StemBeads FGF2	StemCultures	冷蔵	SB500	3.0 mL	76,000

● リコンビナント LIF タンパク質

製品名	メーカー名	貯法	製品番号	容量	価格
Recombinant Human LIF	Nacalai USA	冷蔵	NU0013-1	1.0 mL (10 ⁶ units/mL)	58,000
Recombinant Human LIF	Nacalai USA	冷蔵	NU0013-2	1.0 mL (0.5 X 10 ⁷ units/mL)	155,000
Recombinant Mouse LIF	Nacalai USA	冷蔵	NU0012-1	1.0 mL (10 ⁶ units/mL)	58,000
Recombinant Mouse LIF	Nacalai USA	冷蔵	NU0012-2	1.0 mL (10 ⁷ units/mL)	204,000

● その他

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
200mmol/l L-Alanyl-L-glutamine Solution(100x)	SP(細胞培養用)	冷蔵	04260-64	100 mL	6,550
Colcemid Solution(10 µg/ml)	SP(細胞培養用)	冷蔵	09356-74	10 mL	6,000
Dimethyl Sulfoxide	SP(細胞培養用)	室温	13408-64	5 X 5 mL	8,800
Ethanol(99.5)	SP (バイオテクノロジーグレード)	室温	09666-85	500 mL	6,550
200mM-L-Glutamine Stock Solution	SP(細胞培養用)	冷凍	16948-04	100 mL	3,050
1mol/l-HEPES Buffer Solution	SP(細胞培養用)	冷蔵	17557-94	100 mL	12,500
MEM Non-Essential Amino Acids Solution(100x)	SP(細胞培養用)	冷蔵	06344-14	20 mL	2,700
			06344-56	100 mL	2,800
100mM-Sodium Pyruvate Solution(100x)	SP(細胞培養用)	冷蔵	06977-34	100 mL	1,800
apo-Transferrin from Human	SP(細胞培養用)	冷蔵	34401-84	100 mg	15,600
			34401-55	500 mg	50,500
Water deionized & sterilized	SP (バイオテクノロジーグレード)	室温	06442-95	500 mL	2,200

細胞分散用試薬

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
Accutase	SP(細胞培養用)	冷凍	12679-54	100 mL	6,500
0.5mmol/l-EDTA/PBS Solution	SP(細胞培養用)	室温	13567-84	100 mL	3,100
0.2g/l-EDTA Solution	SP(細胞培養用)	冷蔵	14367-74	100 mL	2,500
2.5g/l-Trypsin Solution	SP(細胞培養用)	冷凍	35555-54	100 mL	2,300
5.0g/l-Trypsin/5.3mmol/l-EDTA Solution	SP(細胞培養用)	冷凍	35556-44	100 mL	4,200
2.5g/l-Trypsin/1mmol/l-EDTA Solution	SP(細胞培養用)	冷凍	35554-64	100 mL	2,000
2.5g/l-Trypsin/1mmol/l-EDTA Solution, with Phenol Red	SP(細胞培養用)	冷凍	32777-44	100 mL	1,800
			32777-15	500 mL	6,800
0.5g/l-Trypsin/0.53mmol/l-EDTA Solution	SP(細胞培養用)	冷凍	35553-74	100 mL	2,200
0.5g/l-Trypsin/0.53mmol/l-EDTA Solution, with Phenol Red	SP(細胞培養用)	冷凍	32778-34	100 mL	1,800
			32778-05	500 mL	6,800

平衡塩類(詳細な平衡塩類組成は 35 ページをご参照ください。)

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
D-PBS(-) without Ca and Mg, liquid	SP(細胞培養用)	室温	14249-95	500 mL	1,350
			14249-24	10 X 500 mL	10,700
D-PBS(-) without Ca and Mg, liquid(10x)	SP(細胞培養用)	室温	11482-15	500 mL	2,250
D-PBS without Ca and Mg, Powder	SP(細胞培養用)	室温	07269-84	100 g	3,000
D-PBS(+)Preparation Reagent(Ca, Mg Solution)(100x)	SP(細胞培養用)	室温	02492-94	30 mL	2,400
HBSS(+) with Ca, Mg and Phenol Red, liquid	SP(細胞培養用)	室温	17459-55	500 mL	2,200
HBSS(+) with Ca, Mg, without Phenol Red, liquid	SP(細胞培養用)	室温	09735-75	500 mL	2,000
HBSS(-) without Ca and Mg, with Phenol Red, liquid	SP(細胞培養用)	室温	17460-15	500 mL	1,300
HBSS(-) without Ca, Mg and Phenol Red, liquid	SP(細胞培養用)	室温	17461-05	500 mL	1,950
Phosphate Buffered Saline without KCl(pH 7.2)	SP(細胞培養用)	室温	11480-35	500 mL	1,600
Phosphate Buffered Saline without KCl(10x)(pH 7.2)	SP(細胞培養用)	室温	11481-25	500 mL	3,200
Phosphate Buffered Saline without KCl(pH 7.4)	SP(細胞培養用)	室温	13397-85	500 mL	1,600

細胞数測定用試薬

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
Cell Count Reagent SF	SP(細胞数測定用)	冷蔵	07553-15	500 tests	15,400
			07553-44	2,500 tests	42,600
MTT Cell Count Kit	SP(細胞数測定用)	冷凍	23506-80	1 kit	15,000
0.5%-Trypan Blue Stain Solution	SP(細胞数測定用)	室温	29853-34	100 mL	2,800
【代替品】 Trypan Blue Solution	SP(細胞培養用)	室温	20577-34	100 mL	2,800

細胞凍結保存液

製品名	規格	貯法	製品番号	容量	価格
Cell Reservoir One (with DMSO)	SP(細胞培養用)	冷蔵	07485-44	100 mL	11,000
Cell Reservoir One (without DMSO)	SP(細胞培養用)	冷蔵	07579-24	100 mL	14,800
Cell Reservoir One, Vitriify	SP(細胞培養用)	冷蔵	11325-62	25 mL	18,000

抗生物質

● コンタミネーション予防用抗生物質

IVV : InvivoGen

製品名	組成	メーカー / 規格	貯法	製品番号	容量	価格
Antibiotic-Antimycotic Mixed Stock Solution(100x)	Penicillin 10,000 u/mL	SP (細胞培養用)	冷凍	02892-54	100 mL	6,700
Antibiotic-Antimycotic Mixed Stock Solution(100x)(Stabilized)	Streptomycin 10,000 µg (力価)/mL Amphotericin B 25 µg (力価)/mL	SP (細胞培養用)	冷凍	09366-44	100 mL	5,400
Fungin	10 mg/mL	IVV	冷凍	ant-fn-1	75 mg (5 X 1.5 mL)	40,000
				ant-fn-2	200 mg (1 X 20 mL)	86,000
Gentamicin Sulfate	—	SP (細胞培養用)	冷蔵	08975-81	1 g	11,000
				08975-94	5 g	38,000
Gentamicin Sulfate Solution (10mg/ml)	10 mg (力価)/mL	SP (細胞培養用)	冷蔵	16672-04	10 mL	2,500
Gentamicin Sulfate Solution (50mg/ml)	50 mg (力価)/mL	SP (細胞培養用)	冷蔵	11980-14	10 mL	8,100
Kanamycin Monosulfate	—	SP (細胞培養用)	室温	08976-71	1 g	5,200
				08976-84	5 g	12,300
Kanamycin Sulfate Solution (50mg/ml)	50 mg (力価)/mL		冷蔵	11981-04	20 mL	6,000
Normocin	50 mg/mL	IVV	冷凍	ant-nr-1	500 mg (10 X 1 mL)	45,000
				ant-nr-2	1 g (1 X 20 mL)	66,000
Penicillin-Streptomycin Mixed Solution	Penicillin 10,000 u/mL	SP (細胞培養用)	冷凍	26253-84	100 mL	3,950
Penicillin-Streptomycin Mixed Solution(Stabilized)	Streptomycin 10,000 µg (力価)/mL	SP (細胞培養用)	冷凍	09367-34	100 mL	3,450
Penicillin-Streptomycin Mixed Solution	Penicillin 5,000 u/mL Streptomycin 5,000 µg (力価)/mL	SP (細胞培養用)	冷凍	26252-94	100 mL	3,250
Penicillin-Streptomycin-Glutamine Mixed Solution	Penicillin 10,000 u/mL Streptomycin 10,000 µg (力価)/mL L-Glutamine 29.2 mg/mL	SP (細胞培養用)	冷凍	06168-34	100 mL	3,900
Plasmocin prophylactic	2.5 mg/mL	IVV	冷凍	ant-mpp	25 mg (10 X 1 mL)	36,000
Plasmocin treatment	25 mg/mL	IVV	冷凍	ant-mpt	50 mg (2 X 1 mL)	53,000
Plasmocure	100 mg/mL	IVV	冷凍	ant-pc	100 mg (1 mL)	75,000
Primocin	50 mg/mL	IVV	冷凍	ant-pm-1	500 mg (10 X 1 mL)	47,000
				ant-pm-2	1 g (1 X 20 mL)	72,000
Streptomycin-Sulfate	—	SP (細胞培養用)	冷蔵	32204-34	5 g	2,450
				32204-92	25 g	4,450

● 選択用抗生物質

IVV : InvivoGen

製品名	組成	メーカー / 規格	貯法	製品番号	容量	価格	
Blasticidin S (solution)	劇	10 mg/mL	IVV	冷凍	ant-bl-1	100 mg (10 X 1 mL)	67,000
					ant-bl-5	500 mg (50 X 1 mL)	293,000
G 418 Disulfate	-	GR	室温	16512-36	250 mg	4,800	
				16512-81	1 g	9,700	
				16512-94	5 g	40,000	
				16512-52	25 g	151,000	
G 418 Disulfate	-	SP(細胞培養用)	室温	08973-01	1 g	12,500	
				08973-14	5 g	49,000	
G 418 Disulfate Aqueous Solution	50 mg (力価) /mL	SP(細胞培養用)	冷蔵	09380-86	20 mL	15,000	
				09380-44	100 mL	59,000	
G 418(solution)	100 mg/mL	IVV	冷凍	ant-gn-1	1 g (10 X 1 mL)	25,000	
Hygromycin B	-	SP (生化学研究用)	冷蔵	07296-66	100 mg	3,700	
				07296-11	1 g	14,000	
				07296-24	5 g	53,000	
Hygromycin B Solution	50 mg (力価) /mL	SP(細胞培養用)	冷蔵	09287-84	20 mL	15,400	
Hygromycin B Gold (solution)	100 mg/mL	IVV	冷凍	ant-hg-1	1 g (10 X 1 mL)	38,000	
				ant-hg-5	5 g (1 X 50 mL)	110,000	
Phleomycin (powder)	-	IVV	冷蔵	ant-ph-2p	250 mg	75,000	
Phleomycin (solution)	20 mg/mL		冷凍	ant-ph-1	100 mg (5 X 1 mL)	39,000	
				ant-ph-5	500 mg (25 X 1 mL)	150,000	
Puromycin (solution)	10 mg/mL	IVV	冷凍	ant-pr-1	100 mg (10 X 1 mL)	35,000	
				ant-pr-5	500 mg (50 X 1 mL)	150,000	
Zeocin (powder)	-	IVV	冷蔵	ant-zn-1p	1 g	50,000	
Zeocin (solution)	100 mg/mL		冷凍	ant-zn-1	1 g (10 X 1 mL)	52,000	
				ant-zn-5	5 g (50 X 1 mL)	195,000	
				ant-zn-5b	5 g (50 mL)	190,000	

● その他抗生物質

製品名	組成	メーカー / 規格	貯法	製品番号	容量	価格
Actinomycin D Solution(1mg/ml)	1 mg/mL	SP(細胞培養用)	冷凍	00393-41	1 mL	8,500
Mitomycin C Solution(1mg/ml)	1 mg/mL	SP(細胞培養用)	冷凍	20898-21	1 mL	8,500

ご注意ください 試験・研究用以外には使用しないでください。

※掲載内容は予告なく変更になる場合があります。
※掲載価格は2023年4月現在のものです(消費税は含まれていません)。

ナカライテスク株式会社

■販売取扱店

〒604-0855 京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町 498

URL <https://www.nacalai.co.jp/>

価格・納期のご照会

試験はここに
0120-489-552

製品に関する技術的なご照会

<https://www.nacalai.co.jp/ss/Contact/>
TEL:075-211-2703