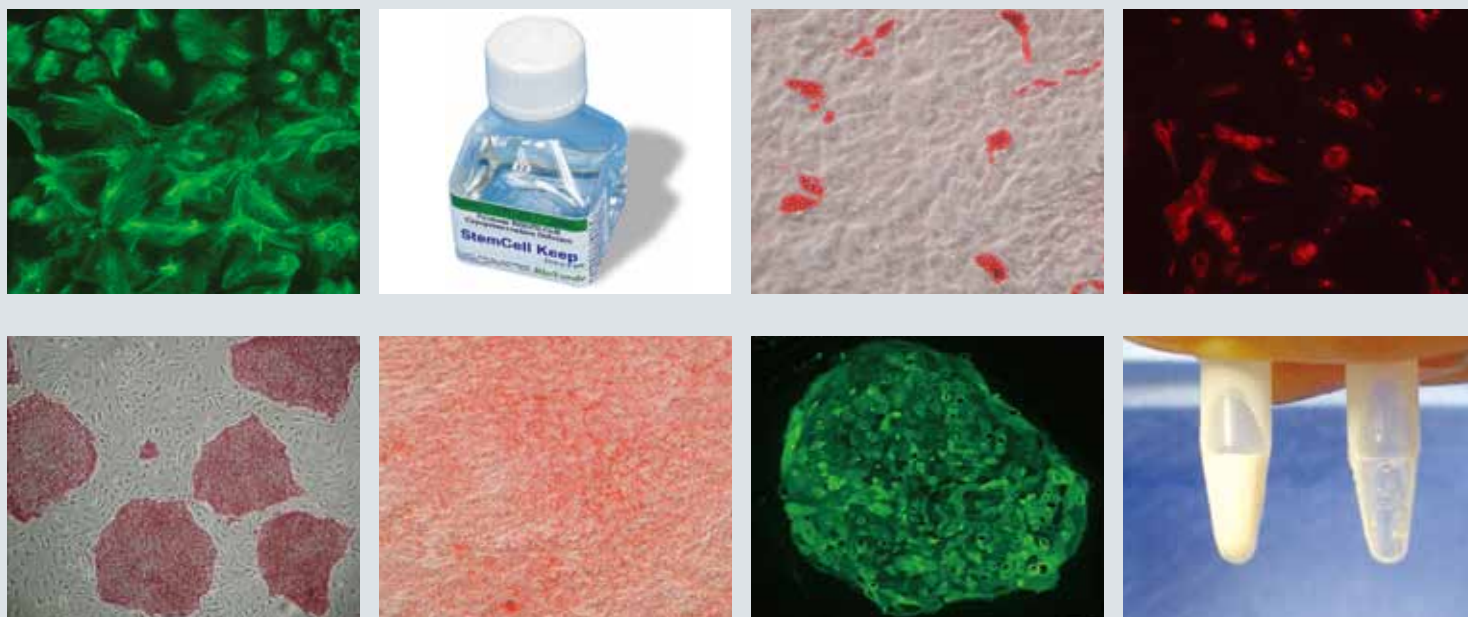




BioVerde 細胞・組織保存用製品カタログ 2013

霊長類 ES / iPS 細胞に適したガラス化凍結保存液

ステムセルキープ p.2

歯牙組織・骨片用冷蔵保存液

SK キープ p.5

動物由来成分フリーの組換え体ヒト血清アルブミン

IBUKI p.5

DMSO フリーの皮膚および神経組織用冷蔵保存液

セリオキープ p.6

緑茶ポリフェノール由来抗酸化物質

エピガロカテキンガレート p.7

DMSO フリーで高生存率の細胞用凍結保存液

クライオスカーレス DMSO フリー p.8

SAMPLE
サンプル品あります

マークで示した製品はサンプル品をご用意しています。ご希望の方は
当社テクニカルサポート（試薬に関して：最終ページ参照）までお問い合わせ下さい。

ステムセルキープ

SAMPLE
サンプル品あります

ステムセルキープは、ガラス化能を高く維持したまま細胞毒性を低く抑えるよう最適化された、霊長類 ES / iPS 細胞用のガラス化凍結保存液です。

特 長

- 分化に影響を与えと言われる DMSO や、動物性タンパク質成分を含んでいません。
- ガラス化法での保存によりコロニーのまま凍結保存できます。
- 幹細胞の多分化能（未分化状態）を維持したまま凍結保存できます。
- 安全性が高い新規凍結保護物質（特許出願中）の、高い細胞保護作用とガラス状態維持作用により、さらに効率よく ES / iPS 細胞のコロニーを凍結保存できるようになりました。
- プロトコルに従って使用した場合、100 バイアル分の保存が可能です。
- 無菌試験により細菌、真菌、マイコプラズマの混入がないことを確認しています。
- 本製品は 4℃ で長期間安定に保存できます（有効期間 2 年）。



MEMO

ガラス化凍結法とは

ガラス化凍結法は、細胞を液体窒素に直接急速浸漬するなどして水の結晶化を防ぎ、非晶質のガラス状態で凍結する方法です。水の体積膨張がないため、細胞へのダメージが少ないという利点があります。霊長類の ES / iPS 細胞は、通常の凍結法では解凍後の生存率が非常に低いため、ガラス化凍結法が推奨されています。しかしながら、ガラス化には高い溶質濃度を必要とするため、溶質による細胞毒性が高くなりやすいという問題があり、毒性の低い凍結保存液の登場が待ち望まれていました。



右：ガラス化がうまくいっている例
左：再結晶化が起こり、白濁した例

MEMO

DAP213 など DMSO を含む保存液の問題点について

DMSO は一般的に細胞凍結保護成分として保存液に添加されていますが、人体に有害な成分として知られており、特に皮膚からの吸収性が高くなっています。細胞毒性を示すだけでなく、下記の論文で報告されているように、細胞の分化にも影響を及ぼす因子の一つであることが明らかになっています。従って ES / iPS 細胞の保存に DMSO を使用することは望ましくありません。既存のガラス化凍結保存液である DAP213 は、高濃度の DMSO に加えて発癌性が指摘されているアセトアミドも含んでいます。また高い溶質濃度を有するため、浸透圧による毒性も指摘されています。また、DAP213 の場合は 10 ~ 30 秒以内に保存しなければ解凍後の生存率が大幅に低下しますが、ステムセルキープは 1 分以内が目安のため操作がしやすくなっています。熟練した技術は必要ありません。

参考文献：

- ・ヒト骨髄性白血病細胞株 HL-60 は DMSO により顆粒球へ分化する Jiang, G., *et al.*, *Int. Immunopharmacol.*, **6** (7), 1204 ~ 1213 (2006).
- ・マウスの骨髄間葉系幹細胞は DMSO により心筋細胞へ分化する Young, D. A., *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **322** (3), 759 ~ 765 (2004).
- ・ヒト ES 細胞を DMSO 含有保存液で凍結保存すると、未分化マーカーである Oct-4 の発現が低下する Katkov, I. I., *et al.*, *Cyobiology*, **53** (2), 194 ~ 205 (2006).

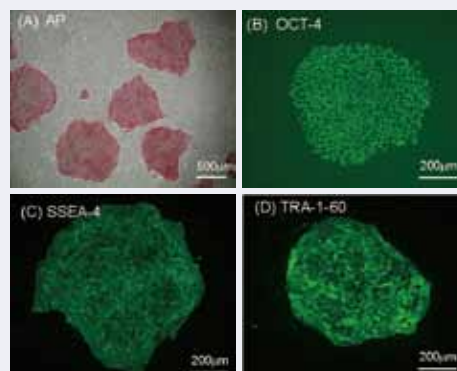
※操作法概略については、フナコシホームページ (<http://www.funakoshi.co.jp/contents/4472>) をご覧下さい。

品 名	メーカー	商品コード	包 装 /	価 格 (¥)
StemCell Keep	BVD	VPL-A1	20 ml /	19,000

p.3 ~ 4 にもステムセルキープの使用例を掲載しています

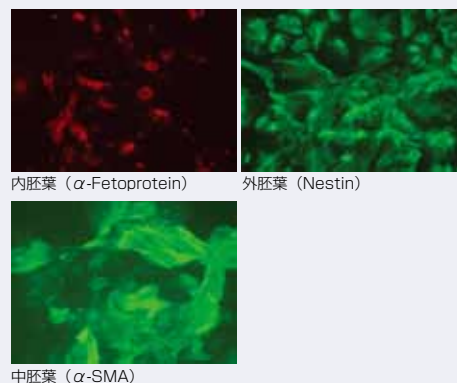
使用例

iPS 細胞への適用例



ステムセルキープで凍結したヒト iPS 細胞の解凍後の未分化マーカーの発現

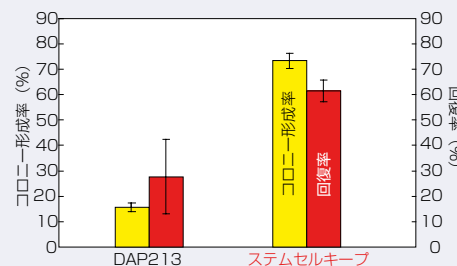
(A) アルカリホスファターゼ (AP), (B) OCT-4, (C) SSEA-4, (D) TRA-1-60 のいずれも陽性で、未分化状態が維持されていることがわかる。



中胚葉 (α-SMA)

ステムセルキープで凍結したヒト iPS 細胞の解凍後の多能性評価

解凍後の iPS 細胞を未処理プレート上で培養し、胚様体を作製後、通常の培養プレートにて 1 週間培養した。三胚葉由来のタンパク質が検出された。



ヒト iPS 細胞の凍結保存

ヒト iPS 細胞を既存のガラス化凍結液 (DAP213) およびステムセルキープで 1 週間凍結保存し、解凍翌日のコロニー形成率および 4 日後の細胞数 (回復率) を非凍結群に対する割合 (%) として示した。ステムセルキープで凍結した系では明らかに高い保護効果が見られた。

ユーザー様ご使用例

ヒト iPS 細胞 (201B7 株, 理研 BRC) の凍結解凍時におけるステムセルキープと DAP213 との比較検討

(データ提供: 山梨大学様)

【方法】

ヒト iPS 細胞 (201B7 株, 理研 BRC)¹⁾ について, ステムセルキープおよび DAP213 を添加後, 液体窒素に浸漬するまでの時間を 15, 45, 90 秒として, 液体窒素中で 6 日間保存した。解凍後, 6 日間培養し, その間のコロニー密度, コロニーの大きさ, コロニー面積率を計測した。

参考文献:

1) Takahashi, K., *et al.*, *Cell*, **131** (5), 861~872 (2007) .

【結果】

コロニー密度

ステムセルキープで凍結した hiPS 細胞のコロニー密度は, DAP213 添加 15 秒後に凍結処理を行った場合と同程度の結果であった。DAP213 で凍結した hiPS 細胞のコロニー形成は, 浸漬までの時間に著しく影響を受けるが, ステムセルキープでは浸漬までの時間が解凍後のコロニー形成に与える影響はほとんどなかった (図 1)。

コロニーの大きさ

図 2 にコロニーの大きさを示した。DAP213 で凍結した場合, ステムセルキープで凍結した場合と比較して, コロニーの大きさが若干小さくなる傾向が認められた。粘性の高いステムセルキープではピペッティングによる水勢が抑えられ, 結果として DAP213 よりもコロニーが崩れないと考えられる。

コロニーの面積率

hiPS 細胞のコロニーは単層で均一な構造を成しているため, コロニーの面積の広さが細胞数をそのまま反映していると考えられる。ステムセルキープで凍結した hiPS 細胞のコロニーの占有面積率は, DAP213 添加 15 秒後に凍結処理を行った場合と同程度の結果であった (図 3)。その中でも, ステムセルキープで添加 45 秒および 90 秒後に凍結処理を行った場合に, ばらつきが少なく, 安定して解凍後の回復を行えた。

【結論】

DAP213 を用いた凍結は, 凍結処理までの時間が短いため熟練した技術が必要とした。しかしながら, ステムセルキープを使用することによって様々な問題が解消される。今回の比較検討では, 45 秒という凍結に十分な時間を確保しつつ, hiPS 細胞の解凍後の回復を十分に果たすことを確認できた。ただし, ステムセルキープは試薬の粘性が高いため, 採取しにくい, 混和しにくいという問題点がある。混和の際には, 時間をかけても良いので, 緩やかにしっかりと 5 回程度混和する必要がある。

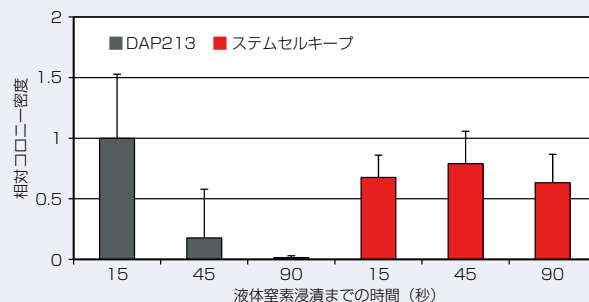


図 1: 解凍後 6 日目におけるコロニーの密度 (相対値)

解凍後 6 日目における hiPS 細胞のコロニー密度の相対値を示した。DAP213 添加 15 秒後に凍結処理を行った hiPS 細胞のコロニー密度を 1 としたときの各コロニー密度を示した。

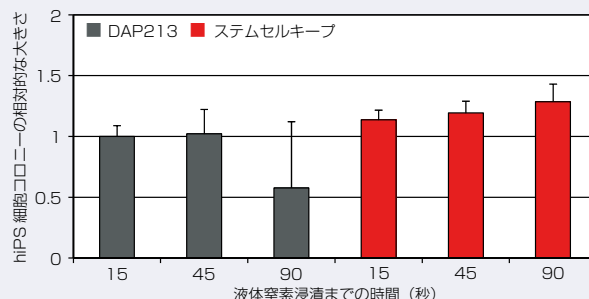


図 2: 解凍後 6 日目におけるコロニーの大きさ (相対値)

解凍後 6 日目における hiPS 細胞コロニーの大きさの相対値を示した。DAP213 添加 15 秒後に凍結処理を行った hiPS 細胞のコロニーの大きさを 1 とした相対値により示した。

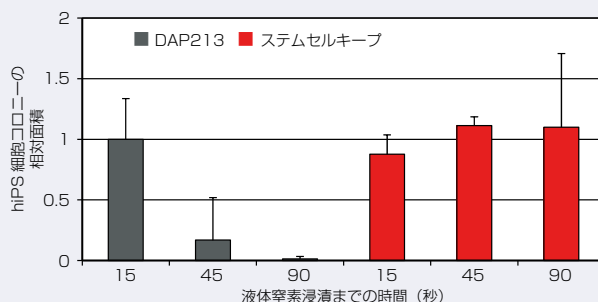


図 3: 解凍後 6 日目におけるコロニーの面積 (相対値)

解凍後 6 日目における hiPS 細胞コロニーの面積の相対値を示した。DAP213 添加 15 秒後に凍結処理を行った hiPS 細胞の面積を 1 とした相対値により示した。

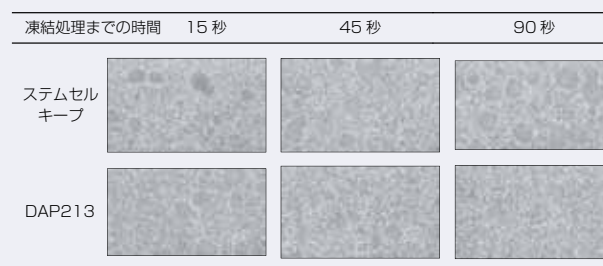


図 4: 培養 6 日目における培養状態

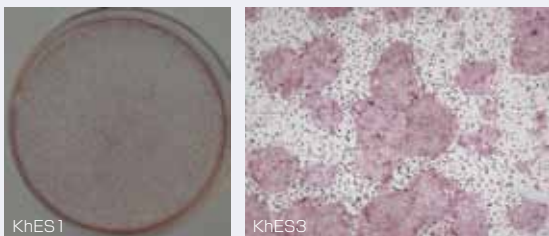
培養 6 日目における hiPS 細胞のコロニーの様相を示した (40 倍)。

使用例

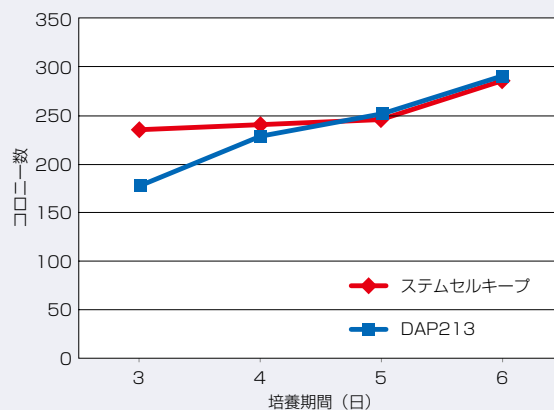
京都大学由来ヒト ES 細胞 (KhES1, KhES3) をステムセルキープで保存後の各種バイオマーカーおよび表現型の分析



SNL フィーダー細胞上 (A, B) および Matrigel (BD 社製品) をコートしたプレート上 (C, D) で培養した。いずれも ES 細胞が成長している。

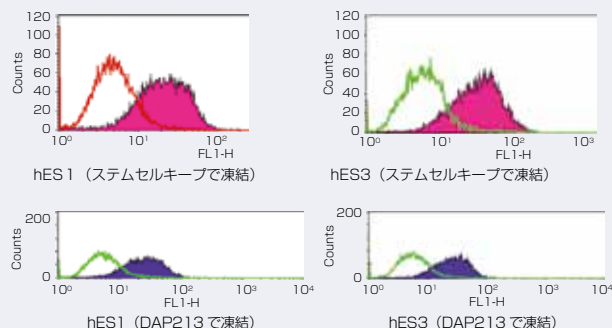


5 日間培養後、AP (アルカリホスファターゼ) の発現を確認した。

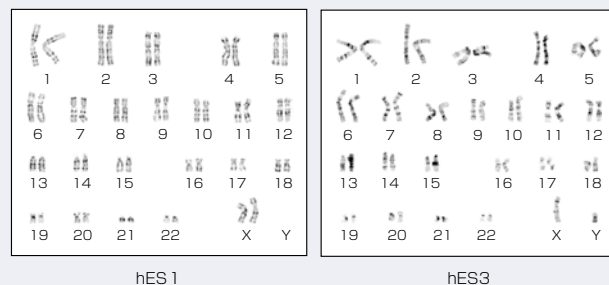


	3日目	4日目	5日目	6日目
ステムセルキープ				
DAP213				

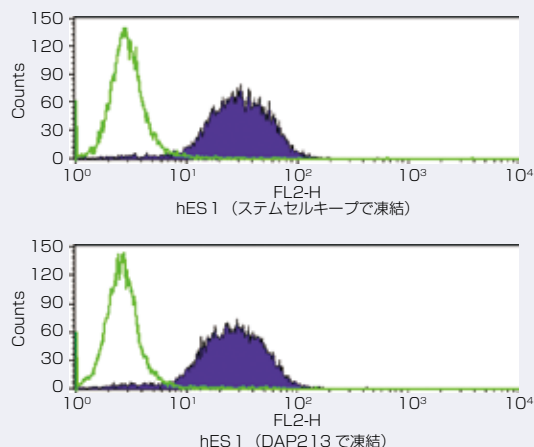
hES1 細胞を SNL フィーダー細胞に播種して培養後 3, 4, 5, 6 日に AP 染色を行い、コロニー数を計測すると、ステムセルキープで保存した細胞は 3 日目からコロニーができ、6 日目までそのコロニーが大きくなった。DAP213 で保存した細胞は 2 日目では少なく、その後 3 日目でステムセルキープで保存した細胞と同じくらいのコロニー数になったが、コロニーの大きさはステムセルキープの方が大きかった。



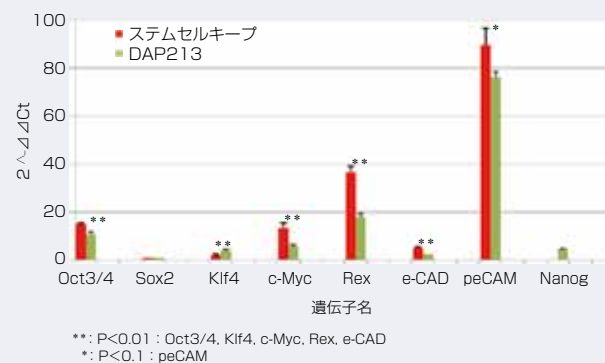
ステムセルキープまたは DAP213 で凍結した ES 細胞を解冻後、幹細胞マーカー TRA-1-60 の発現をフローサイトメトリーにより解析した。



ステムセルキープで保存した細胞の核型 (カリオタイプ) に変化がないことを確認した。



ステムセルキープで保存した細胞での、Nanog の発現量は DAP213 と同程度であった。図の青紫色の部分 (Nanog 陽性細胞) は、緑色の部分はコントロール細胞を示す。ステムセルキープ保存率は 97.6%、DAP213 保存率は 96.2% が陽性であった。



RT-PCR による各 mRNA 発現量の解析は $\Delta\Delta C_t$ 法で行った。その結果、SOX2 を 1 とした時、hES 細胞の未分化能を示す転写因子や接着因子について、Nanog を除いてステムセルキープは DAP213 と同等の発現率を示した。

SK キープ

SAMPLE
サンプル品あります

歯牙組織または骨片を、最大2日間安定に保存できる冷蔵保存液です。一時保存に最適です。

特長

- 摘出した歯牙組織は、その周囲にある歯周組織（特に歯根膜）の状態により、埋植時の長期安定性が左右されます。本製品は、摘出した歯牙周囲の組織を、冷蔵で安定的に最大2日間（48時間）保存することができます。
 - 骨片も同様に保存可能で、骨芽細胞の生存率を維持することができます。
 - 沈殿は生じません。
 - 無菌試験により細菌、真菌、マイコプラズマの混入がないことを確認しています。
 - エンドトキシン濃度は0.1 EU/ml以下です。
 - 原料には化学合成品のみを用いており、DMSO、血清および動物由来原料は含まれていません。
 - 本製品は4℃（暗所）で長期間安定に保存できます（有効期間1年）。
- ※ 冷凍保存のデータはありません。
- ※ 抗生物質は添加していません。



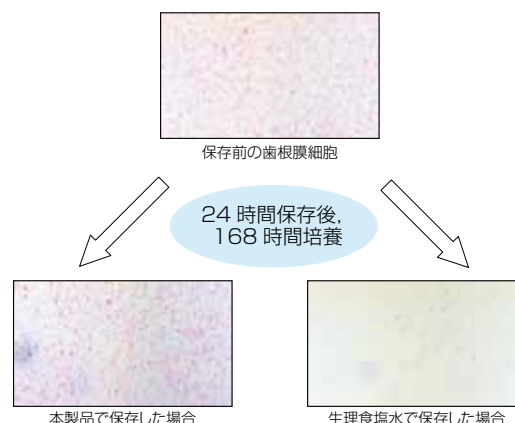
保存後の細胞増殖率の比較

ヒト歯根膜細胞	0時間	6時間	12時間	24時間
本製品	+++	+++	+++	+++
MEM 培地	+++	+++	++	++
PBS (-)	+++	++	+	+
生理食塩水	+++	+	+	-

ヒト骨芽細胞	0時間	6時間	12時間	24時間
本製品	+++	+++	+++	+++
MEM 培地	+++	+++	++	++
PBS (-)	+++	++	+	±
生理食塩水	+++	+	±	-

+++：極めて良好に増殖，++：良好に増殖，+：やや良好に増殖，±：増殖なし，-：減少

コンフルエントになったヒト歯根膜細胞またはヒト骨芽細胞を洗浄後、表に示した各保存液を添加し、25℃で保存した。各時間経過後に通常の培養系（10% FBS 含有培地、37℃）で培養し、168時間（7日）後の細胞増殖率を比較した。本製品で保存した細胞は、24時間の保存後でも、高い細胞増殖率を維持していることがわかる。



操作方法概略

1. 実験動物より摘出した歯牙組織または骨片を、直接本製品の容器に浸して冷蔵保存する。または、組織培養用プラスコや無菌容器に、歯牙組織または骨片が完全に浸漬する量の本製品を加えて冷蔵保存する。
2. 保存した歯牙組織または骨片を冷 PBS に浸して軽く洗浄し、試験用培地に移す。組織が生きている状態で実験に用いる。

- ※ 培養する場合は、早期に通常の生理活性温度（37℃など）に戻して下さい。
- ※ スライドなどの組織標本を作製する場合は、速やかに固定を行って下さい。
- ※ 組織内物質などを抽出する場合は、あらかじめ冷 PBS 中でよく洗浄して下さい。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格(¥)
SK Keep < 歯牙・骨片保存液 >			
BVD	SKK-A1	100 ml /	16,000

動物由来成分フリーの組換え体ヒト血清アルブミン

IBUKI

IBUKI

イネ（*Oryza sativa*）の胚乳中で産生した組換え体ヒト血清アルブミン（Human Serum Albumin：HSA）です。ヒト血清から精製した天然アルブミンと同様の構造、特性、生理活性を有しています。植物で産生しているため動物由来成分を含まず、ウイルスやプリオン汚染の心配もありません。

特長

- イネに HSA 遺伝子を導入し、種子である米の胚乳に組換え体タンパク質を大量に蓄積させる技術を用いて産生しています。
- HSA 全長タンパク質として発現しており、天然型と同様の分子量、等電点（pI）を示します。糖鎖付加もありません。
- ヒトおよび動物由来アルブミンの代替品として、細胞培養や細胞の保存、ワクチン研究など各種用途に使用できます。
- ロット間差がなく、安定した活性を示します。

- 天然型 HSA と同様に培地添加物として使用できます。脂肪酸や毒性のある成分から細胞を保護し、細胞膜を安定化し、浸透圧を維持して細胞の培養状態を良好に保ちます。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格(¥)
IBUKI < Albumin, Human Serum, Recombinant >			
BVD	IBK-A1-1	1 g /	30,000
BVD	IBK-A1-10	10 g /	250,000

掲載されている製品はすべて研究用です。医薬・診断等の用途には使用出来ません。

セリオキープ

SAMPLE
サンプル品あります

セリオキープは DMSO や血清タンパク質を含まない、上皮・内皮組織および神経組織に最適な冷蔵保存液です。

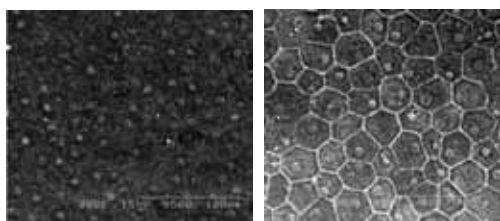
特長

- 物理的に脆弱な組織の膜形態を維持し、増殖機能を保持したまま 1～2 週間冷蔵 (4～10℃) 保存できます。
- 緑茶ポリフェノール (エピガロカテキンガレート: EGCG) の保護作用により、薄く壊れやすい組織を保存します。
- 上皮・内皮組織のほか、神経組織にも使用できます。末梢神経の場合は、電気生理学的な機能も維持されます。
- ヒト、マウス、ラットだけでなく、広範囲の哺乳動物組織に適用できます。
- 保存した組織は洗浄後、適切な培地を用いた各種実験に使用可能です。
- 血清およびタンパク質成分や、DMSO、グリセロールなどの保存剤は含まれていません。
- 無菌試験により細菌、真菌、マイコプラズマの混入がないことを確認しています。
- 本製品は液体および固形保存剤が各 1 本ずつセットになっており、未開封 (調製前) の状態では 4℃ で約 1 年間保存できます。
- 組成: 無機イオン類、D- グルコース、アミノ酸、pH 調整剤 (液体保存剤)、エピガロカテキンガレート (EGCG)、フェノールレッド (固形保存剤)

※ 冷凍保存のデータはありません。

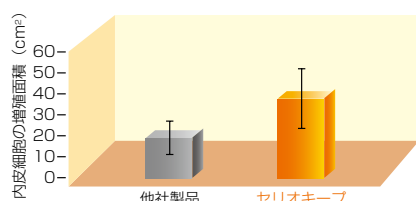


使用例



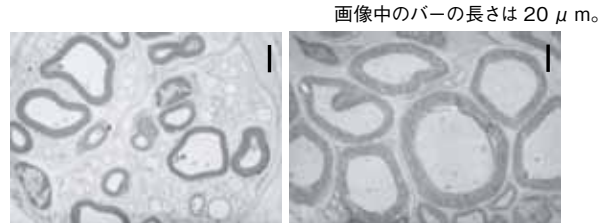
他社製品

セリオキープ



ヒト角膜内皮組織の形態および増殖速度の比較

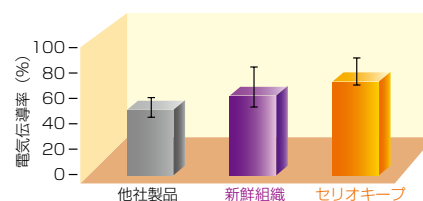
ヒト角膜内皮組織を、セリオキープ (右) または他社製品 (左) 中で 2 週間 (4℃) 保存した後の形態を比較した (上図)。セリオキープを用いて保存した組織は六角形の細胞膜形態が維持されている。これに対し、他社製品で保存した組織では細胞膜形態が完全に消失していることがわかる。またセリオキープを用いて保存した組織は約 2 倍の速度で増殖していることが確認できた (下図)。



画像中のバーの長さは 20 μm。

他社製品

セリオキープ



神経組織の形態および電気伝導率の比較

ラット末梢神経組織をセリオキープ (右) または他社製品 (左) 中で、4℃ で 2 週間保存後、別のラットに移植し、更に 24 週間後に取り出した時の透過電子顕微鏡による形態 (上図) と運動神経伝導速度 (MCV: 下図)。新鮮組織は、保存していない神経を移植した時の値を示す。移植前の神経の MCV 値を 100% とした。セリオキープを用いて保存した組織は移植 24 週間後においても形態萎縮せずに維持されており、機能も保たれていることが確認できた。

参考文献:

Ikeguchi, R., et al., *Experimental Neurology*, **184**, 688～696 (2003).
Ikeguchi, R., et al., *Transplantation*, **79**, 688～695 (2005).

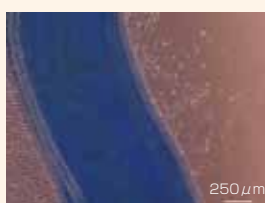
ユーザー様ご使用例

セリオキープで保存したヒト培養骨膜シートの再培養

(データ提供: 新潟大学医歯学系 歯科基礎移植・再生学分野 川瀬 知之 先生)

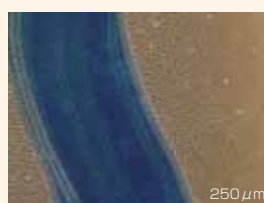
参考文献: Kamiya, M., et al., *Biopreservation and Biobanking*, **10** (3), 245～252 (2012).

セリオキープで保存したヒト培養骨膜シートを再度培養した場合、細胞増殖が受ける影響について検討した。冷蔵保存に先立って、21 日間を要して組織片培養から形成した骨膜シートの先端部分をマークした。



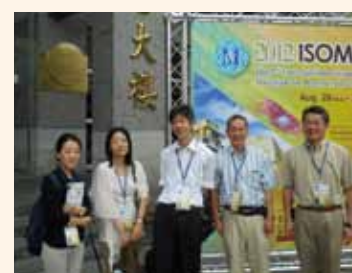
培養再開直後

ヒト培養骨膜シートを 4℃ でセリオキープに 2 日間保存後、37℃ で培養を再開した。



培養再開 24 時間後

Outgrowth した細胞数 (ラインの右側) から判断して、培養再開直後から細胞周期が回り出して、増殖が再開されたものと考えられる。



川瀬先生 (右端) と研究室の皆様

ユーザー様ご使用例

ヒト由来培養口腔粘膜上皮細胞シートにおける保存前後の評価

(データ提供：大阪大学 大学院 医科学研究科 脳神経感覚器外科 眼科学 香取 良祐 先生，林 竜平 先生)

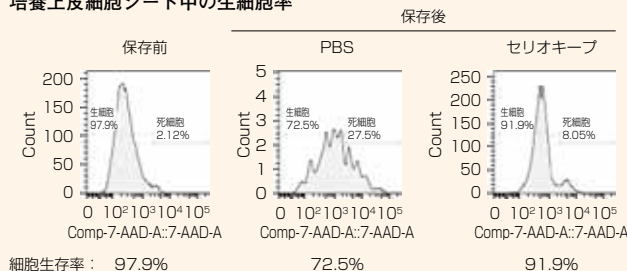
- 細胞：ヒト由来培養口腔粘膜細胞シート
- 培養皿：35 mm UpCell® ((株) CellSeed 製)
- 培養条件：37 °C 5% CO₂ 14 日間
- 保存条件：4 °C，7 日間

ヒト由来口腔粘膜上皮細胞を 35 mm UpCell® 上で、NIH-3T3 と共に 14 日間共培養し、培養上皮細胞シートを作製した。続いて、培養上皮細胞シートを各保存液 (PBS, セリオキープ) に浸漬し、4 °C で 7 日間静置した。保存後 7 日目に、細胞シートを回収し、総細胞数、生細胞率測定 (フローサイトメトリーによる 7-AAD 染色の解析) および HE 染色を行い、保存前後の状態を比較した。

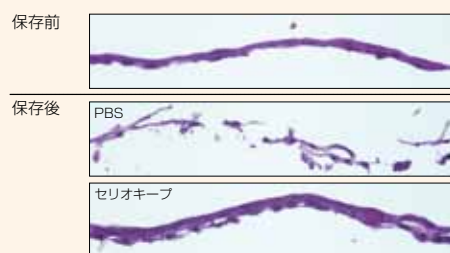
培養上皮細胞シートの回収試験 / 1 シート当たりの総細胞数



培養上皮細胞シート中の生細胞率



HE 染色像



香取先生 (前右), 林先生 (中央) と研究室の皆様

操作方法概略

1. 保存剤 (EGCG) の入った付属のマイクロチューブに、本製品約 0.5 ml を無菌的に入れて溶解した後、全量をセリオキープのボトルに戻して攪拌する。
2. 保存剤が完全に溶解したことを確認した後、溶液を遠沈管などに数 ml 入れ、4 ~ 10 °C に冷却する。
※調製した溶液は、できるだけ速やかにご使用下さい。小分けした場合は、-20 °C で 1 ~ 2 週間保存できます。
3. 実験動物より摘出した上皮・内皮組織を 2. の溶液に浸漬し、ふたをして 4 °C で保存する。
4. 3. の状態で保存された組織を冷 PBS 内で軽く洗浄後、試験用培地に移し、組織が生きている状態で実験に用いる。

- ※培養する場合は、早期に通常の生理活性温度 (37 °C など) に戻して下さい。
- ※スライドなどの組織標本を作製する場合は、速やかに固定を行って下さい。
- ※組織内物質などを抽出する場合は、あらかじめ冷 PBS 中でよく洗浄して下さい。

品 名	メーカー	商品コード	包 装 / 価 格 (¥)
ThelioKeep			
BVD		TPO-A1	100 ml / 16,000

緑茶ポリフェノール由来抗酸化物質

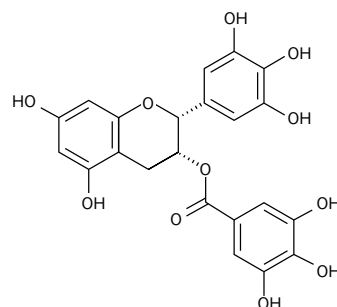
(-)-Epigallocatechin Gallate

エピガロカテキンガレート (EGCG)

エピガロカテキンガレート (EGCG) は、緑茶ポリフェノールの主要成分であるフェノール性の抗酸化物質で、様々な生理活性が報告されています。本製品は純度 90% 以上で、大量に使用する研究に最適です。

品 名	メーカー	商品コード	包 装 / 価 格 (¥)
(-)-Epigallocatechin Gallate			
BVD		E-5737	1 g / 30,000

[989-51-5], M.W.: 458.37, 純度: > 90%, 形状: 淡黄白色 ~ 淡赤色結晶性粉末, m.p.: 215 ~ 216 °C



DMSO フリーで高生存率の細胞用凍結保存液

CryoScarless® DMSO-Free

クライオスカーレス DMSO フリー

SAMPLE
サンプル品あります

クライオスカーレス DMSO フリーは、タンパク質や DMSO を含まない、各種細胞用の凍結保存液です。解凍後も様々な培養細胞で高い生存性を示し、幹細胞の多分化能（未分化状態）も維持されます。

特長

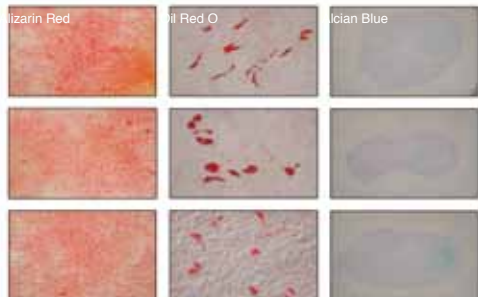
- 血清およびタンパク質成分は含まれていないため、アルブミンやグロブリンなどのタンパク質による影響を受けません。
- DMSO による毒性やタンパク質の影響が無いため、安全かつ高い生存率での細胞の凍結保存が可能です。
- ヒト/マウスの正常細胞、腫瘍細胞株、幹細胞など、様々な細胞で、凍結・解凍後でも約 90%の生存率を示します（下表参照）。
- 幹細胞も分化能を維持したまま凍結保存できます。
- 無血清培養にも適しています。
- 無菌試験により細菌、真菌、マイコプラズマの混入がないことを確認しています。
- 本製品は 4℃で長期間安定に保存できます（有効期間 2 年）。



実験例

骨芽細胞への分化 脂肪細胞への分化 軟骨細胞への分化
(アリザリンレッド染色) (オイルレッド O 染色) (アルシアンブルー染色)

非凍結群

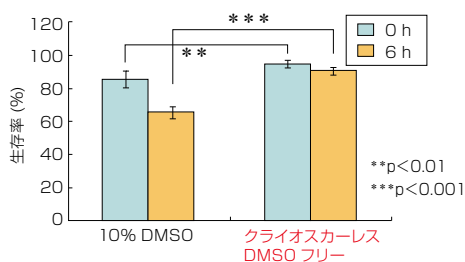


10%
DMSO

クライオ
スカーレス
DMSO フリー

ヒト間葉系幹細胞の分化能

クライオスカーレス DMSO フリーで凍結保存したヒト間葉系幹細胞の解凍後の分化能を調べ、非凍結群および 10% DMSO の場合と比較した。クライオスカーレス DMSO フリーで凍結した細胞は、いずれの分化能も良く維持されていることがわかる。



ラット間葉系幹細胞の生存率

クライオスカーレス DMSO フリーで凍結保存（1 週間）したラット間葉系幹細胞の解凍後の生存率と、6 時間後の生存率を測定し、10% DMSO の場合と比較した。解凍直後（0 h）、接着後（6 h）の生存率も共にクライオスカーレス DMSO フリーで凍結した場合の方が高い値を示した。

使用実績のある細胞と凍結保存効果

細胞株	生存率 (%) *
L929	マウス線維芽細胞 97.5 ± 1.2
MG63	ヒト骨肉腫細胞 93.1 ± 2.3
HT1080	ヒト線維肉腫細胞 90.2 ± 4.3
Colon26	マウス結腸癌細胞 92.3 ± 2.3
B16F1	マウスメラノーマ細胞 94.2 ± 0.6
KB	ヒト口腔癌細胞 91.8 ± 0.9
Caco2	ヒト結腸癌細胞 93.7 ± 1.9
MC3T3	マウス骨芽細胞 94.4 ± 0.5
Jurkat E6-1	ヒト白血病細胞 88.4 ± 2.5
HUVEC	ヒト臍帯静脈内皮細胞 89.9 ± 0.4
HCAEC	ヒト冠動脈内皮細胞 90.1 ± 1.6
MEF	マウス胎児線維芽細胞 94.4 ± 0.8
hACh	ヒト軟骨細胞 93.5 ± 0.7

* - 80℃で3か月凍結保存・解凍後 24 時間目

操作方法概略

1. 培養細胞をチューブに入れ、遠心分離し、上清を除去する。
2. クライオスカーレス DMSO フリーを加えて $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cells/ml になるように細胞を懸濁し、1 ml ずつ保存用チューブに分注する。
3. -80℃のディープフリーザーに入れて凍結させる。
※長期保存の場合には液体窒素中で保存する。
4. 3. の状態で保存された細胞を、37℃の恒温槽中で振とうしながら速やかに解凍し、適切な培地（10 ml 程度）で遠心洗浄する。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
CryoScarless DMSO-Free			
BVD	CPL-A1		100 ml / 12,000

NOTE

- ※ 本紙に記載されている価格は、2012 年 11 月 1 日現在です。
- ※ 本紙に掲載されている製品は、すべて研究目的用のみ販売しています。医薬品、診断用医薬品、食品、食品検査等の用途には使用できません。また、医薬品の製造、品質管理、各種診断、治療等、その使用目的にかかわらず人体には使用しないで下さい。
- ※ 外観・仕様は改善のため、予告なく変更することがあります。
- ※ 記載されている会社および商品名は、株式会社バイオベルデの商標または登録商標です。
- ※ 表示価格に、消費税等は含まれていません。一部価格が予告なく変更される場合がありますので、あらかじめご了承ください。
- ※ ご注文の際は、【品名、メーカー（BVD）、商品コード、包装、数量】をお知らせ下さい。

フナコシのライフサイエンス研究用試薬と機器

販売店



古紙再生適性
印刷用の紙にリサイクルできます
不要となった際は、古紙回収・リサイクルに出してください



ISO 14001
JQA-EM5844



フナコシ株式会社

〒113-0033 東京都文京区本郷 2 丁目 9 番 7 号
http://www.funakoshi.co.jp/ e-mail: info@funakoshi.co.jp
試薬に関して: Tel. 03-5684-1620 Fax 03-5684-1775
e-mail: reagent@funakoshi.co.jp
機器に関して: Tel. 03-5684-1619 Fax 03-5684-5643
e-mail: kiki@funakoshi.co.jp