

Media Supplement Guide (CM3000, CM4000 使用方法)

Hepatocyte Plating Supplement Pack (製品番号 CM3000)、Hepatocyte Maintenance Supplement Pack (製品番号 CM4000) には、それぞれ William's E 培地 500 mL に対する必要量が入っており、William's E 培地に添加した後は、1 カ月以内でご使用いただくことを推奨しております。ただし、リスクを避けるうえで少量ずつ分注し、ご使用前に添加することをお勧めします。

そこで効率的にお使いいただくため各サプリメントをはじめに必要量ずつ小分けして保存し、試験当日に William's E 培地に添加いただくことをお勧めしております (Dex は少量のため小分けしていただかなくても問題ございません)。Coctail と Dex は 4°C、FBS は -20°C で保存してください。

なお、William's E 培地への添加量は表 3、表 4 をご覧ください。

CM3000-Thawing/Plating Supplement Pack

William's E 培地 (製品番号 A1217601)

アプリケーション: 凍結保存肝細胞の融解およびプレート培養・新鮮な肝細胞のプレート培養

構成成分:	最終濃度
→ Fetal Bovine Serum	(5%)
→ Dexamethasone in DMSO (10 mM)	(1 µM)
→ Thawing/Plating Cocktail A, containing (18 mL total volume):	
• 5 mL Penicillin/Streptomycin (10,000 U/mL / (10,000 µg/mL))	(1%)
• 500 µL Human Recombinant Insulin (4 mg/mL)	(4 µg/mL)
• 5 mL GultaMax (200 mM/100 X)	(2 mM)
• 7.5 mL HEPES, pH 7.4 (1M)	(15 mM)

調整方法:

- 500 mL の培地を調整する場合
 - Fetal Bovine Serum (25 mL)
 - 50 µL Dexamethasone in DMSO
 - Thawing/Plating Cocktail A (18 mL)

CM4000-Cell Maintenance Supplement Pack

William's E 培地 (製品番号 A1217601)

アプリケーション: 細胞の懸濁、肝細胞培養のメンテナンス用のインキュベーション培地

構成成分:	最終濃度
→ Dexamethasone in DMSO (10 mM)	(0.1 µM)
→ Cell Maintenance Cocktail B, containing (20 mL total volume):	
• 2.5 mL Penicillin/Streptomycin (10,000 U/mL / (10,000 µg/mL))	(0.5%)
• 5 mL ITS+	
○ human recombinant insulin (0.625 mg/mL)	(6.25 µg/mL)
○ human transferrin (0.625 mg/mL)	(6.25 µg/mL)
○ selenous acid (0.625 µg/mL)	(6.25 ng/mL)
○ bovine serum albumin (BSA)-(0.125 g/mL)	(1.25 mg/mL)
○ linoleic acid (0.535 mg/mL)	(5.35 µg/mL)
• 5 mL GultaMax (200 mM/100 X)	(2 mM)
• 7.5 mL HEPES, pH 7.4 (1M)	(15 mM)

調整方法:

- 500 mL の培地を調整する場合
 - 5 µL Dexamethasone in DMSO
 - Cell Maintenance Cocktail B (20 mL)

表3 Cocktail Aに対する各試薬の量

William's E培地	Cocktail A	FBS	Dex
50 mL	1.8 mL	2.5 mL	5 μ L
100 mL	3.6 mL	5 mL	10 μ L
200 mL	7.2 mL	10 mL	20 μ L
300 mL	10.8 mL	15 mL	30 μ L
400 mL	14.4 mL	20 mL	40 μ L
500 mL	18 mL	25 mL	50 μ L

表4 Cocktail Bに対する各試薬の量

William's E培地	Cocktail B	Dex
50 mL	2 mL	0.5 μ L
100 mL	4 mL	1 μ L
200 mL	8 mL	2 μ L
300 mL	12 mL	3 μ L
400 mL	16 mL	4 μ L
500 mL	20 mL	5 μ L