
F-hiSIECTM

Culture Medium AL

取扱説明書

本製品は日本国内でのみ、ご使用ください。

この度は富士フイルム株式会社「F-hiSIEC™ Culture Medium AL」を購入いただき、誠にありがとうございます。ご使用前に本取扱説明書をご一読いただき、ご使用ください。

1. 製品特徴

F-hiSIEC™ Culture Medium ALは、F-hiSIEC™の気液培養に適した培養培地です。

2. 梱包内容

F-hiSIEC™ Culture Medium AL 10 mL



3. 保管方法

到着後、ただちに開梱いただき、-20℃にて保存してください。

⚠️ ドライアイスによる凍傷、窒息にご注意ください。

4. 使用例 (Cell Culture Insert による気液培養)

4.1 細胞の解凍および播種

4.1.1 解凍前にご準備いただくもの

- 器材

- Cell Culture Insert : 24 well Plate
Corning 製トランスウェル (プレートとインサートのセット : #3413)

- 試薬

- Matrigel Matrix Growth Factor Reduced (CORNING #354230)
- DMEM / F12 (1:1) (Gibco #11330-032)
- F-hiSIEC™ Seeding Medium
- F-hiSIEC™

- 解凍前に行う作業

- ・マトリゲルのコーティング
(細胞を解凍する前日～1週間前に使用する容器にマトリゲルをコートする)

マトリゲルをDMEM/F12で30倍希釈し、コート液をつくる



Cell Culture Insert を0.1 mL/well でコーティングし、4℃で静置保存する

4.1.2 解凍および播種方法

- 使用するもの

- ・事前にマトリゲルコートされた Cell Culture Insert
(Cell Culture Insertは、24 well plate 上にセットしたまま使用)
- ・ F-hiSIEC™ Seeding Medium (解凍後当日のみ使用可能)
- ・ F-hiSIEC™
- ・ ウォーターバス
- ・ 安全キャビネット
- ・ 操作に使用する電動ピペッターやマイクロピペット
- ・ 遠心機
- ・ 細胞数をカウントするもの
血球計算板はC-Chip Burker-Turk (Nano EnTeck DHC-B02) をご使用ください
- ・ CO₂ インキュベーター
- ・ Cell Culture Insert をつまむ、精密作業に適したピンセット等
- ・ 10 mL / 2 mL のピペット (電動ピペッター用)
- ・ 1,000 μL / 200 μL のチップ (マイクロピペット用)
- ・ 15 mL の遠沈管

解凍および播種

※安全キャビネット内で作業してください

マトリゲルコートをした Cell Culture Insert を 30 分以上室温に静置

37°C に設定したウォーターバスにて F-hiSIEC™ Seeding Medium を融解
(融けたら 10 分以内に取り出す)

安全キャビネットに入れ、電動ピペッターと 10 mL のピペットを用いてよく混ぜる
15 mL の遠沈管に 9 mL を移す

マトリゲルを抜き取り、F-hiSIEC™ Seeding Medium を、マイクロピペットを用いて
Cell Culture Insert に 75 $\mu\text{L}/\text{well}$ 、24 well plate 側に 600 $\mu\text{L}/\text{well}$ 添加する

※ Cell Culture Insert 側への添加には 200 μL のチップ、
24 well plate 側には 1,000 μL のチップをご使用ください。

バイアルを 37°C に設定したウォーターバスにて融解
(約 2~3 分。小さい氷塊が残る程度に加温する)

電動ピペッターと 2 mL のピペットを用いて細胞懸濁液を回収し
すぐに、9 mL の F-hiSIEC™ Seeding Medium を入れた遠沈管に全量添加
バイアルを共洗いし、すべての細胞を移す

遠心：200 $\times g$ 、5 分間、室温

上清を吸い取り、軽くタッピングして cell pellet を崩す。マイクロピペットと
1,000 μL のチップを用いて 1 mL の F-hiSIEC™ Seeding Medium を
添加しゆっくり 2~3 回ピペッティングする

セルカウント

※お客様ご自身で生細胞数をカウントいただいた結果、出荷検査表の弊社測定結果よりも
多い場合は、弊社測定結果の数値を元に播種量を計算いただくよう、お願いいたします。

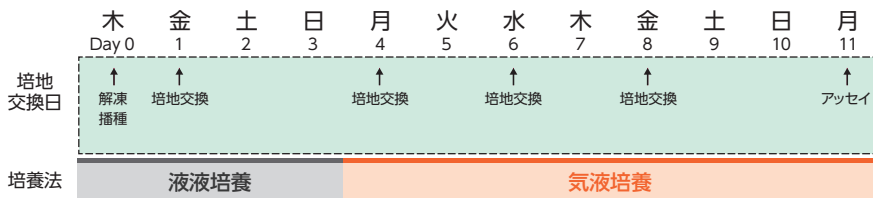
事前に F-hiSIEC™ Seeding Medium を 75 μL 添加した well に $1.0\sim 1.5 \times 10^5$ cells/well 播種する。
細胞を均一に播種するため一度だけゆっくりピペッティングを行う

37°C 5% CO_2 に設定した CO_2 インキュベーターへ入れる

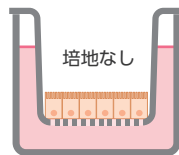
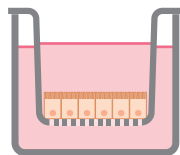
4.2 培地交換

- ・土曜日及び日曜日の培地交換を避ける場合は、使用例の通り、木曜日に解凍・播種し、培養を開始してください。本使用例においては、11日目月曜日の試験実施を推奨します。
- ・本使用例においては、気液培養は培養4日目から開始することを推奨します。

使用例



- ・初日の播種の際はF-hiSIEC™ Seeding Mediumをご使用ください。
- ・培養期間中の培地交換の際はF-hiSIEC™ Culture Medium ALをご使用ください。



- 使用するもの

- ・ F-hiSIEC™ Culture Medium AL (解凍後当日のみ使用可能)
- ・ ウォーターバス
- ・ 操作に使用する電動ピペッターやマイクロピペット
- ・ 安全キャビネット
- ・ CO₂ インキュベーター
- ・ Cell Culture Insertをつまむ、精密作業に適したピンセット等
- ・ 10 mLのピペット(電動ピペッター用)
- ・ 1,000 μ L / 200 μ Lのチップ(マイクロピペット用)

培地交換方法

※安全キャビネット内で作業してください

F-hiSIEC™ Culture Medium ALを37℃に設定したウォーターバスにて融解
(融けたら10分以内に取り出す)

F-hiSIEC™ Culture Medium AL を電動ピペッターと10 mLのピペットを用いてよく混ぜる

【Day 1, 4】 24 well plate 側の培地をマイクロピペットと1,000 μ Lのチップで抜き取る
【Day 6, 8】 Cell Culture Insert内に150 μ L/wellの F-hiSIEC™ Culture Medium ALを壁面に沿って添加後、24 well plate 側の培地をマイクロピペットと1,000 μ Lのチップで抜き取る

【Day1のみ】 Cell Culture Insert 内の培地を、細胞に触れないように注意しながら
マイクロピペットと200 μ Lのチップで抜き取り150 μ L/wellの
F-hiSIEC™ Culture Medium AL を壁面に沿って添加する

【Day4以降】 Cell Culture Insert内の培地を、細胞に触れないように注意しながら
マイクロピペットと200 μ Lのチップで抜き取る

マイクロピペットと1,000 μ Lのチップを用いて24well plate 側に
600 μ L/wellのF-hiSIEC™ Culture Medium ALを添加する

37℃ 5% CO₂ インキュベーターに入れ培養

4.3. アッセイ例 (化合物の透過試験)

- 使用するもの

- HBSS-A(pH 6.5)※
- HBSS-B(pH 7.4)※
- ウォーターバス
- 操作に使用する電動ピペッターやマイクロピペット
- Cell Culture Insertをつまむ、精密作業に適したピンセット等
- 10 mLのピペット(電動ピペッター用)
- 1,000 μ L / 200 μ Lのチップ(マイクロピペット用)

※ HBSS-AおよびHBSS-Bの調整方法はF-hiSIEC™ HPの「よくあるご質問」をご参照ください。

http://asset.fujifilm.com/www/jp/files/2022-06/c2595c56a30a34bf9cc47f2ef368e96f/f_hisiec_manu_faq_202206.pdf

透過試験方法

※安全キャビネット内で作業してください

HBSS-A (pH6.5)、HBSS-B (pH7.4)を37℃に設定した
ウォーターバスにて加温する

マイクロピペットを用いて 24 well plate 側の培地を抜き取り、
HBSS-Aを Cell Culture Insert内に150 μ L、HBSS-Bを24 well plate 側に600 μ L 添加する
※Cell Culture Insert 側の添加には200 μ Lのチップ、24 well plate 側の添加には1,000 μ Lのチップをご使用ください
添加は Cell Culture Insert → 24 well plate の順で実施ください

37℃で60分間静置

HBSS-A に任意の化合物を溶かす

マイクロピペットを用いて24 well plate 側、および Cell Culture Insert 内のHBSSを
抜き取り、基質を溶かした HBSS-A を Cell Culture Insert 内に200 μ L 添加する
※Cell Culture Insert 側の添加には200 μ Lのチップをご使用ください

添加直後に Cell Culture Insert 内より50 μ L サンプルングし、
初期濃度測定用とする

マイクロピペットを用いて24 well plate 側に、HBSS-Bを600 μ L 添加する
※24 well plate 側の添加には1,000 μ Lのチップをご使用ください

所定時間、37℃で静置し、Cell Culture Insert内と24 well plate側よりサンプルングする

測定

補償について

本製品によって生じたいかなる事故、損害についても、弊社では責任を負いかねますので、ご了承ください。

FUJIFILM

富士フイルム株式会社 ライフサイエンス事業部

Tel: 03-6271-3030

<https://www.fujifilm.com/jp/ja/business/regenerative/ips-cells/f-hisiec>

本製品は富士フイルム和光純薬株式会社で販売しております。

2024.9.第5版