



# 取扱説明書

スフェロイド培養系  
ヒト腎臓近位尿細管上皮細胞

創薬研究用ヒト腎細胞

3D-RPTEC<sup>®</sup>

(96well-Single)

日機装株式会社

## はじめに

本製品を受領および使用するにあたり、以下の「同意事項」について了承して頂いたこととみなします。

### 同意事項

- 1) 受領者は、日機装株式会社の商業用製品に係る「取扱説明書」に記載された事項（製品の取り扱い方法や注意事項を含む）を遵守することに同意します。受領者は、本製品を使用する自らの権利については、当該商業用製品に係る「取扱説明書」及び本同意事項の遵守を条件とすることに同意します。
- 2) 受領者は、①人体または動物への使用（治験、臨床研究、治療目的または診断目的の使用を含みますが、これらに限定されるものではありません）、②本製品の不死化处理（不死化遺伝子の導入を含みますが、これらに限定されるものではありません）、③本製品を用いた商業化行為、④本製品またはその改造品の第三者への譲渡ならびに第三者による本製品の使用について、それらを明示的に除き、本製品は受領者による内部研究または利益のためにのみ使用できることに同意します。なお、「商業化行為」とは、本製品の販売（もしくは対価と引き換えに行われる譲渡）、販売を目的とした本製品の他製品への組み込み、販売を目的とした他製品の製造のための本製品の使用を意味します。本製品を用いた「受託試験」については商業化行為とはみなしません。
- 3) 上記の使用範囲を超える本製品の使用については有料のライセンスを別途要するものとします。
- 4) 受領者は本製品の培養または加工にかかる発明等の技術的成果（遺伝子改変を含むがこれに限られない）を成したときは、日機装株式会社にご連絡ください。当該技術的成果の帰属については協議の上決定するものとし、当該協議を経ないで出願およびその他の知的財産権の権利化に向けた手続きを行わないことに同意します。なお、本製品を用いた研究について学会や論文などの公の場で発表する際は日機装株式会社の社名記載にご協力お願い致します。
- 5) 日機装株式会社は受領者の本製品の使用に起因して発生した偶発的損害、補償的損害、懲罰的損害、結果損害、間接損害、特別損害その他類似の損害につき、一切の賠償責任を負わないものとします。

このたびは、”3D-RPTEC®”をお買い上げいただきありがとうございます。本製品は、お手元に届いてすぐに使用可能なスフェロイド培養系のヒト腎臓近位尿細管上皮細胞です。ご使用前に本取扱説明書を必ずお読みになった上で、お取り扱いいただけますようお願いいたします。

## 目次

1. 本製品（3D-RPTEC）の特徴 .....	- 4 -
2. 梱包内容と取扱い方法 .....	- 4 -
2-1. 開梱方法 .....	- 4 -
2-2. 梱包内容の確認 .....	- 5 -
2-4. 返送方法 .....	- 7 -
3. 培養方法 .....	- 7 -
4. 問い合わせ先 .....	- 10 -

## 1. 本製品（3D-RPTEC）の特徴

- ヒト腎臓に近い薬物トランスポーターを発現しているスフェロイドです。
- 96 ウェルプレート内に播種した状態でお届けしますので、納品後すぐにご使用いただけます。
- 長期間培養でも安定的に薬物トランスポーターの発現を確認しております。
- 常温で輸送を行っても製品の品質に問題がないことを確認しております。

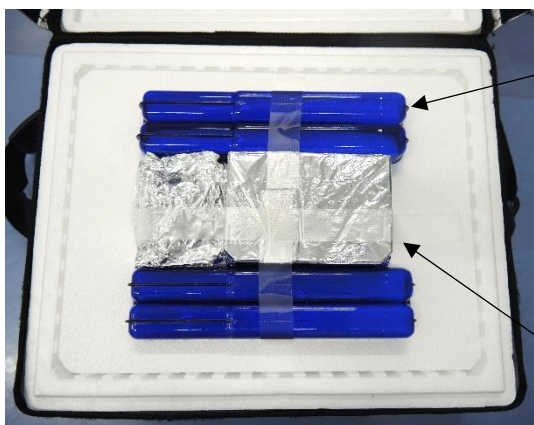
## 2. 梱包内容と取扱い方法

### 2-1. 開梱方法

本製品は、細胞が入った 96 ウェルプレート常温下で輸送し、培地は冷蔵下で輸送いたします。納品日は原則、火曜日または水曜日としております（ご要望のある場合は納品日についてご相談ください）。常温下で送付した細胞製品の到着後は直ちに下記のように開梱し、細胞が入った 96 ウェルプレートを取り出してください。



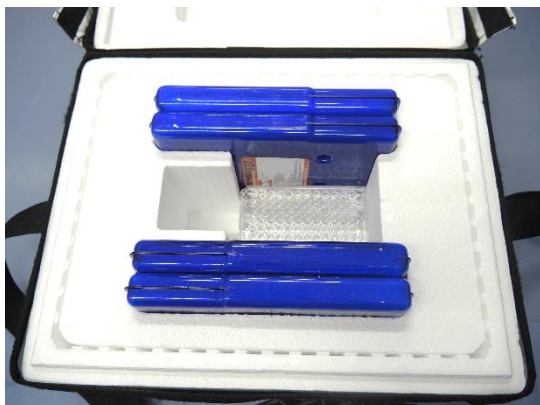
① 到着したら、ただちに破損や上下逆ではないか等の外観の異常についてご確認の上、開梱ください。



蓄熱材（室温に維持します）

② 中身に関しても破損などがなければご確認後、緩衝材を取り除いてください。

緩衝材（重し）の下に培養プレートが入っています。



③ 細胞培養 96 ウェルプレートを取り出してください。

製品以外に同梱していた物品に關しましては、お手数ですがそのままご返送ください（2-4 参照）。

## 2-2. 梱包内容の確認

以下の製品をそれぞれ室温と冷蔵で別送しておりますので、ご確認ください。商品到着後はまず、製品の破損や培地の液漏れの有無、細胞の状態（紛失や生存状態など）についてご確認ください。なお、本製品の製造ロットごとの CoA\*（品質試験成績書）を当社ウェブサイト（<https://www.nikkiso.co.jp/products/industrial/3drptec/>）よりダウンロードできます。ロット番号とメールアドレスを入力すると CoA の PDF が送付されます。

プレート内の細胞につきましては、96 ウェル中 90 ウェル以上あることを保証しております。細胞はプレートシールが貼付された状態で顕微鏡観察が可能です。プレートシールを剥離前にご確認ください。万が一、細胞が 90 ウェルに満たない場合や細胞の不良等#がございましたら、大変お手数ですが納品日の当日中に 4 項の問い合わせ先までご連絡をお願いします。代替品（品質検査済みの培養プレート）を再送いたします。

\*：CoA 記載のスフェロイド生存率（Viability）及び OAT1 発現・P-gp 発現については当社で同じ製造ロットについて測定した結果であり、実測を保証するものではありません。

#：プレートシールを剥離して培養開始後は、納品先の責任下にて取り扱ってください。

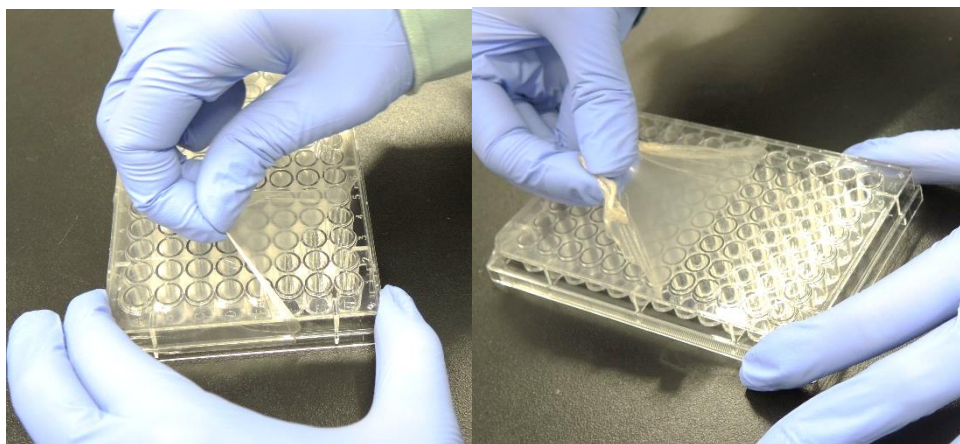
品名	型番	規格/容量	保管方法	輸送方法
3D-RPTEC (96well-Single) 専用培地セット	NCP01SP	細胞・専用培地の セット	—	—
3D-RPTEC (96well-Single)	NCP02RP	V 底低接着 96 ウェル プレート	CO <sub>2</sub> インキュベーター （37 °C, 5% CO <sub>2</sub> ）	室温
専用培地	NCP03CM	100 mL	冷蔵（2～8 °C）	冷蔵

## 2-3. 受け取り後の取扱い方法

### 細胞培養 96 ウェルプレート（状態確認と開封作業）：

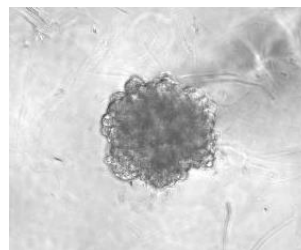
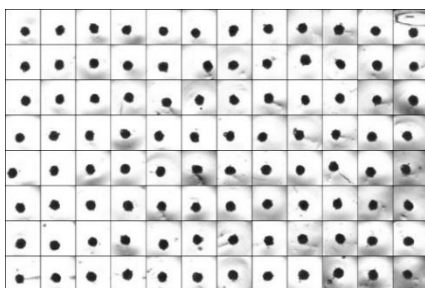
到着後はすみやかに細胞の状態<sup>#</sup>を確認し、プレートについているシールを安全キャビネット内で下図のように剥がし、インキュベーター内で培養を開始してください。

<sup>#</sup>：プレートシールを剥離前に細胞を観察してください。細胞がウェル底に沈んでいないこともあるため、シールを剥がす前にプレート遠心機（設定例として 160g、3 分間）の使用を推奨します。シールに付着した培地を落とした場合も剥離前の遠心を推奨します。



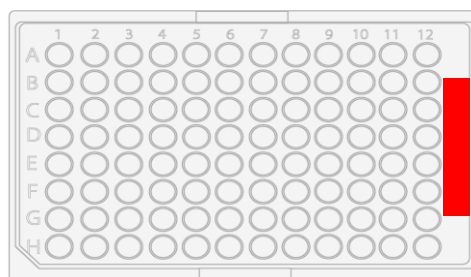
端からシールを剥がし、一気にすべて剥がしてください。  
（剥がしにくい場合はピンセット等で端から剥がしてください）

1 つのウェルに 1 つのスフェロイドが入っています。（直径 200～300  $\mu\text{m}$ ）



拡大図

製造ロット番号は培養プレートのプレート蓋にレーザーマーカで印字されています。  
左図の赤塗部分に製造ロット番号が印字されています。





培地交換を受領後およそ 24 時間以内（納品日または納品日翌日）に実施してください。細胞は培養開始翌日より実験に使用可能です。なお、翌日の培地交換時に薬物評価等の実験を開始することも可能です。その後は 2～3 日に 1 回の頻度で培地交換をしてください。詳しくは 3. 培養方法 をご参照ください。

細胞は、培養開始後 30 日まで安定して培養できることを弊社内で確認しておりますが、納品後はできるだけお早めにご使用ください。

#### 専用培地：

培地は到着後、冷蔵（2～8℃）で保存し、ご使用前に必要量を分注し恒温槽で 37℃に温めてご使用ください。使用期限は納品後約 2 週間（培地ボトルに使用期限が記載）になりますが、開封後はできるだけ早めにご使用ください。

## 2-4. 返送方法

3D-RPTEC と専用培地を取り出した後、輸送容器の表面にある送り状（着払い伝票）をご確認ください。送り状にご担当者様の名前を記載し、輸送容器の表面に入れて輸送容器ごとそのままご返送ください（送り状は直接貼らずにケースに入れて見えるようにして返送をお願いします）。

## 3. 培養方法

ここでは、本製品の培養方法の推奨例をお示しします。

#### **【準備するもの】**

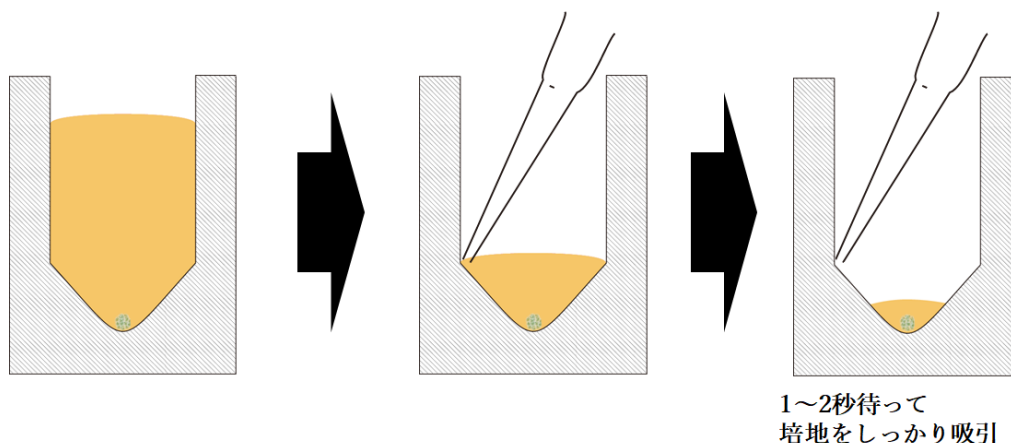
- 安全キャビネットまたはクリーンベンチ
- ウォーターバス
- CO<sub>2</sub> インキュベーター（37℃, 5% CO<sub>2</sub>）
- 専用培地
- アスピレーター（シングルまたはマルチのアスピレーターを使用）
- マイクロピペットおよびチップ（12 連マルチピペットまたは 8 連マルチピペットを推奨）
- P200 広口チップ（FastGene セルセーバーチップ 200μL, 型番 FG-FB205R）

#### **【方法】**

操作は全て、安全キャビネットまたはクリーンベンチ内にて行ってください。

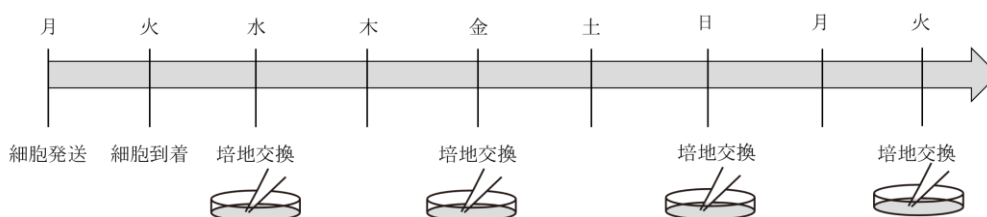
- ① 専用培地をご使用分のみ 15mL チューブなどに分取し、37℃のウォーターバスで温めてください（培地は加温を繰り返さないように必要量をご使用ください）。

- ② 培地交換は下図のように、アスピレーターでV底の途中(ウェルが傾斜する位置)にチューブを当て、培地を吸引してください。チップ先端を底面まで下ろすと、細胞を吸引してしまう恐れがあります。なお、アスピレーターは吸引部の先端に P2 チップまたは P10 チップ をご利用することを推奨しております。

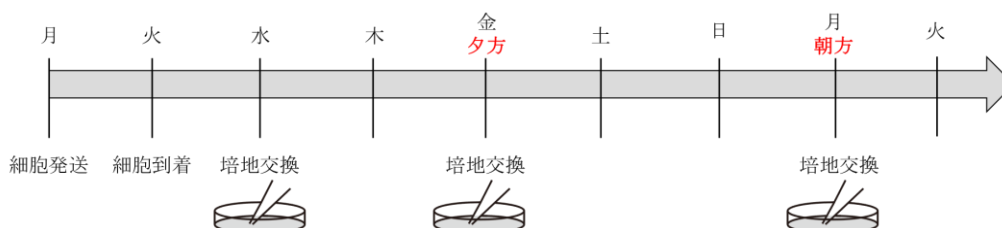


- ③ 加温した培地を各ウェルに 100  $\mu$ L ずつ追加してください。培地交換直後は細胞がウェル底に沈みきっていない場合もあります。5 分間程度、自然沈降を待つことでウェル底に沈んだスフェロイドを確認することができます。
- ④ 培地交換は 2~3 日に一度実施してください。下記に培地交換のスケジュール例をお示しします。土日に培地交換をしない場合は、金曜夕方に培地交換して月曜朝に培地交換することを推奨しております。

土日に培地交換をするスケジュール例

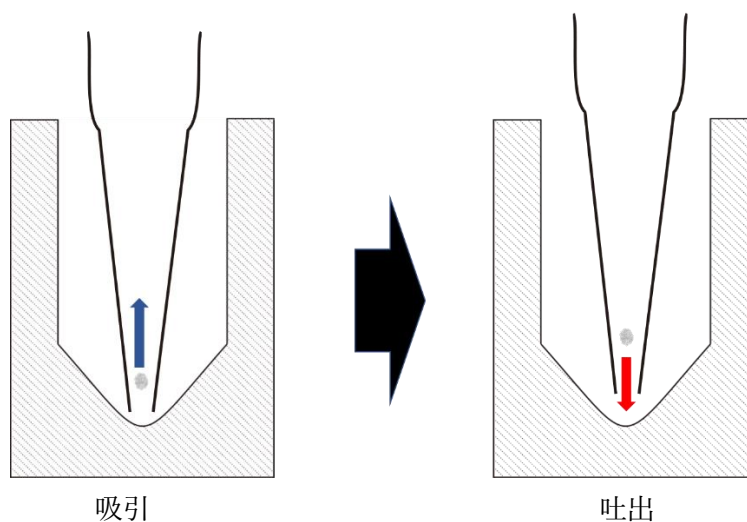


土日に培地交換をしないスケジュール例





- ⑤ 細胞の紛失があった場合、下図のように別ウェルのウェル底付近にチップ先端を付け、まっすぐ培地とともに細胞を吸引し、移動するウェルにゆっくりと吐出してください。細胞を傷付けないように P1000 チップまたは **P200 広口チップ** の使用を推奨しております。



なお、吸引した細胞を別のプレートに移して使用したい場合は市販の V 底低接着プレートを使用可能です。以下のプレートにて使用実績がありますので参考にしてください。

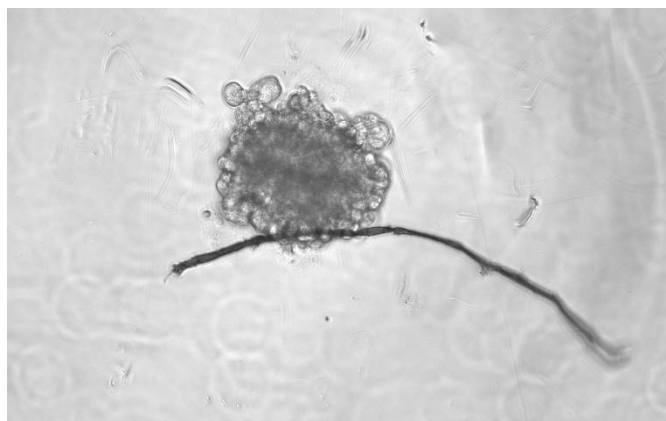
- PrimeSurface プレート 96V (型番 MS-9096V、住友ベークライト社)
- Cell-Repellent 96 ウェルマイクロプレート V 底 (型番 651970、Greiner Bio-One)

- ⑥ ご使用後は、適切な処理にて廃棄をお願いします。

#### 培地中成分について：

本製品の専用培地にはタンパク質を由来とした成分を含んでおります。本成分は精製工程上でデブリを含むことがあるため、培地交換を継続中に下図のような含有タンパク質に起因したデブリが観察される場合があります。培養ウェル中に下図のようなデブリがある場合も 3D-RPTEC としての性能や ATP 量には影響ありませんので、通常の実験には問題なくご利用可能です。細胞付近にデブリがある場合やデブリが細胞に接着してる場合に、細胞の形態評価などで影響が懸念される際は上記の方法⑤に従って細胞を入れ替えてください。

なお、培地中のデブリを懸念される場合は事前に培地を遠心（400g、3 分間）してから使用することも可能です。



#### 4. 問い合わせ先

日機装株式会社

創薬研究用ヒト腎細胞お問い合わせアドレス

Mail: 3D-RPTEC@nikkiso.co.jp

HP: <https://www.nikkiso.co.jp/products/medical/3drptec/>

TEL: 03-3443-3751

