



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[®]

(6well-Multi)

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、各製品の名称とお取り扱い方法	- 4 -
2-1. 開梱方法	- 4 -
2-2. 梱包内容	- 5 -
2-3. 受け取り後の取り扱い方法	- 6 -
2-4. 返送方法	- 7 -
3. 培養方法	- 8 -
3-1. 浮遊振盪培養	- 8 -
3-2. 静置培養	- 8 -
3-3. 培地交換	- 10 -
4. 問い合わせ先	- 11 -

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たスフェロイドです。
- 低接着 6 ウェルプレート内で培養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トランスポーターが発現していることを確認しております。
- 室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。

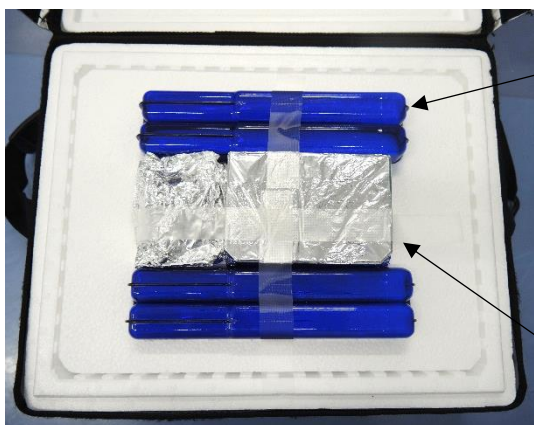
2. 梱包内容、各製品の名称とお取り扱い方法

2-1. 開梱方法

本製品は、細胞が入った 6 ウェルプレートを室温下で輸送し、培地は冷蔵下で輸送いたします。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 6 ウェルプレートを取り出してください。



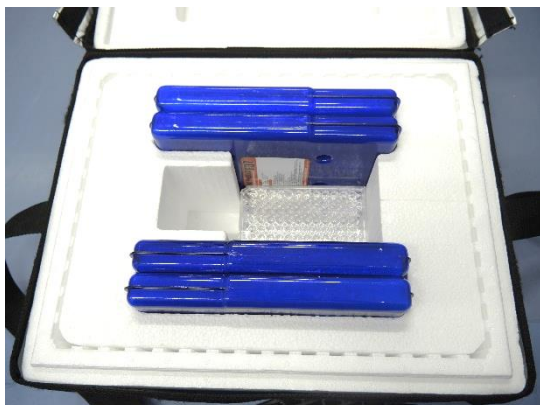
① 到着したら、ただちに破損や上下逆ではないか等の外観の異常についてご確認の上、開梱ください。



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 6 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関しては、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

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（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。

なお、プレートシールを剥離前に細胞の状態を顕微鏡で観察可能です。万が一、不良#等がございましたら、大変お手数ですが、納品日の営業時間中（8:30～17:10）に 4 項の問い合わせ先までご連絡をお願いします。

*：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ロットについて測定した結果であり、実測値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。

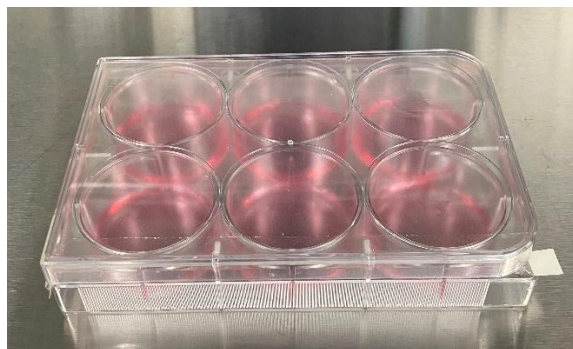
製品名	Cat. No.	規格/容量	保管方法	輸送方法
3D-RPTEC (6well-Multi) 専用培地セット	NCP04SP	細胞・専用培地の セット	—	—
3D-RPTEC (6well-Multi)	NCP05RP	低接着 6 ウェルプレート	CO ₂ インキュベーター (37 °C、5% CO ₂)	室温
専用培地	NCP03CM	100 mL	冷蔵 (2～8 °C)	冷蔵

2-3. 受け取り後の取り扱い方法

低接着 6 ウェル浮遊プレート：

到着後はすみやかに細胞の状態を確認[#]し、すみやかにプレートについているシールを安全キャビネット内で剥がしてください。

[#]：プレートシールを剥離前に細胞を観察してください。

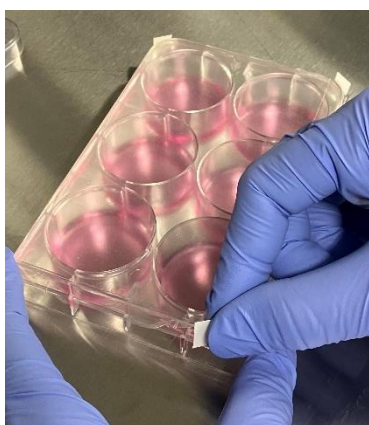


① 到着時の 6 ウェル浮遊プレートの状態を確認



② 左図の取っ手部分を掴んでシールを剥がしてください。

うまく剥がせない場合は右図の取っ手やピンセット等を使って剥がしてください。



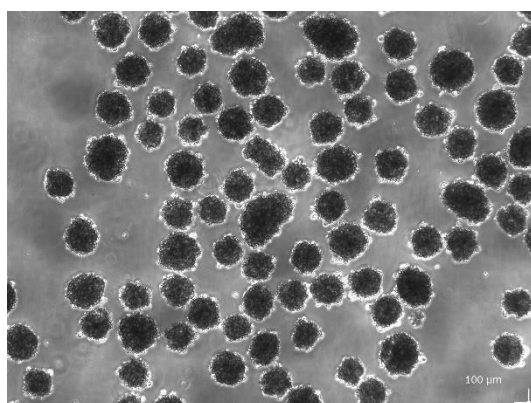
③ 端からシールを剥がし、一気にすべて剥がしてください。

- ④ 各ウェルを 2mL/well の専用培地で培地交換（3-3 項を参照）した後、インキュベーター内で培養してください。

※輸送時はウェル内の培地量を多くしているため、培地交換してからインキュベーター内で培養を開始してください。

細胞：

6 ウェルプレートでは 1 ウェルにつき 約 500 個のスフェロイドが浮遊状態で培養されています（96 ウェルプレート製品の約 20 枚分、6 ウェル分の回収細胞数の目安は 1×10^6 cells ～ 2×10^6 cells）。製造工程上、スフェロイドの長径にバラツキ（約 90% の細胞で長径が 200 ～ 350 μ m）がありますが、3D-RPTEC としての品質基準を満たしていることを確認済みです。



細胞は納品日（通常は午前中に納品予定）から納品日翌日までを目安にできるだけお早めにご使用ください。納品日はご要望に応じて相談いたします。なお、長期培養する際の培地交換や培養方法についての詳細は 3. 培養方法 を参照ください。

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

本製品は受領後できる限りお早めのご使用を推奨しておりますが、継続して維持培養する場合は以下の方法を参照ください。

3-1. 浮遊振盪培養

長期間培養する場合は、下図のようにプレートシェーカーをインキュベーター内に入れて浮遊振盪培養を行ってください(下図例:水平往復型シェーカーで1往復/秒の往復振盪)。振盪浮遊培養を行った場合、2～3日に1回の培地交換(3-3.参照)によって1ヶ月間維持することが可能です。なお、振盪培養を行う際は2mL/wellで振盪してください。
シェーカーの使用例:ラボシェーカー、BC-730(バイオクラフト社)



3-2. 静置培養

ここでは、1ウェルあたりのスフェロイド数を100個以下に減らすことで、静置状態で維持培養する方法をお示しします(受領日に実施して6日後まで性能維持を確認済み)。

【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
- CO₂インキュベーター(37℃、5% CO₂)
- 低接着6ウェルプレート、型番3471(Corning社)
- 専用培地
- 広口チップもしくはP1000チップ

【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 15mL チューブなどに必要量のみ分取し、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保管してください）。
- ② 6 ウェルプレートを下図のように斜め*にしてしばらく待ち、スフェロイドが手前側のウェル底に沈んだことを確認します。

*：輸送直後はウェル内の培地量が多いため、事前にウェル上層を吸引除去してからプレートを斜め*にしてください。



- ③ 広口チップもしくは P1000 チップを用いて、培地とともにスフェロイドを 1.5mL チューブなどに回収してください（1 ウェル分、約 500 個のスフェロイド）。
- ④ チューブ内でスフェロイドが底に沈んだことを確認したのち、培地上清を除去します。（卓上遠心機などで短時間の遠心により沈降させることも可能）。新たに専用培地を 1mL 添加します。
- ⑤ 低接着 6 ウェルプレートをご準備ください。広口チップもしくは P1000 チップを用いて穏やかにピペッティングしてスフェロイドを培地中で分散させます。そのまま 200μL（約 100 個）または 100μL（約 50 個）ずつウェルへ分配します。
- ⑥ 分配したウェルの培地量が 2mL となるように専用培地を添加してください。
- ⑦ 本操作を製品受領後すぐに実施いただき、2～3 日に 1 回の培地交換（3-3.参照）を行うことで、受領後 6 日目まで静置培養で維持できます。

3-3. 培地交換

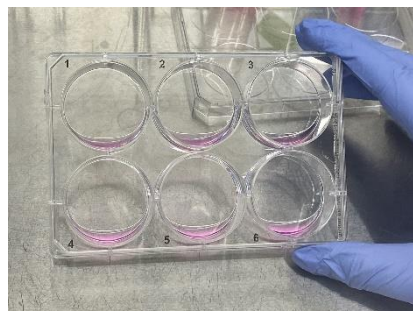
【準備するもの】

- 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
- CO₂ インキュベーター (37 °C、5% CO₂)
- 専用培地
- マイクロピペットおよびチップ

【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 15mL チューブなどに必要量のみ分取し、37°C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保管してください）。
- ② 6 ウェルプレートを下図のように斜めにして*しばらく待ち、スフェロイドが手前側のウェル底に沈んだことを確認します。
*: 輸送直後はウェル内の培地量が多いため、事前にウェル上層を吸引除去してからプレートを斜めにしてください。
- ③ マイクロピペットを用い、ウェル手前の培地上層部分からゆっくりと吸引除去します。ウェル内の培地は、底に沈んだスフェロイドが浸る程度(200～300μL ほど)を残した状態まで吸引除去します。



- ④ ウェル壁から専用培地を添加してください（2 mL/well）。以降、2～3 日に 1 回の頻度で培地交換を行ってください。



- ⑤ ご使用後は、適切な処理にて廃棄をお願いします。

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

