

# どうやって培養するの？



## ① 推奨培地の準備

基本培地

添加因子セット  
(Single Quote)

Bullet Kit 構成成分を混和して完全培地を調整。  
使用期限：冷蔵保存 / 1ヶ月以内

## ② 凍結バイアル溶解/播種

凍結バイアル

1-2分以内  
37°Cウォーターバス

凍結バイアルを融解し、  
すぐに培養を開始する

完全培地

ウォーターバスで1分程度溶解したら、プレインキュベーションしておいた完全培地へ播種して培養開始（遠心はしない）。

## ③ 培地交換：翌日

16 ~ 24hr 以内に  
培地交換を実施

完全培地

播種翌日 (16-24hr 以内) に培地交換を実施 (凍結保存培地に含まれていた DMSO 除去のため)。その後は、2日に1回の頻度で培地交換を実施する。

## ④ 継代

D-PBS ReagentPack™  
Subculture Reagents  
(Lonza Catalog No.  
CC-5034) を  
使用してください

トリプシン/EDTA

トリプシン中和液

遠心回収し播種継代

播種密度：  
2,500 viable cells/cm<sup>2</sup>

70-85% コンフルエンスの状態になったら、培地を除き HEPES-BSS で培地成分を洗浄する。トリプシン処理後、中和液で反応を停止させたら、細胞を遠心回収 [200 x g 5分] して複数枚のディッシュに播種して継代培養する。

## 応用例 血管新生 (Angiogenesis)

48-96 well プレートにプレコーティング\*  
EGM-2 増殖培地 (★を含む) で  
30分~インキュベーションする。  
8 well-plate の調整培地：125 ml  
96 well-plate の調整培地：75 ml

2X 血管新生の  
促進因子 / 抑制因子\*  
血管新生  
抑制用のコントロール試薬：  
Suramin [Sigma-S2671]  
終濃度 15 μM および  
30 μM も使用可能

継代回収後、EGM-2 増殖培地で  
HUVEC を懸濁する。  
HUVEC 播種密度：  
65,000-80,000 cell/cm<sup>2</sup>

※プレスクリーン済み HUVEC 使用

**HUVEC Tube formation**  
プレコーティングした 48-well plate を用いて、Lonza EGM™-2 培地で 16 時間培養した後、倍率：5X で観察

### ■ お受け取り後の保管

細胞：液体窒素 [-196°C]  
基礎培地 [4°C ~ 8°C]：冷蔵  
添加因子：冷凍 [-20°C]

### ■ メンテナンス

解凍翌日に培地交換した後は、一日おきに培地\*交換を行います。その際の培地量は下記の通りです。  
細胞密度 25-45%：1.5 mL/5 cm<sup>2</sup>  
細胞密度 >45% 2 mL/5 cm<sup>2</sup>  
※培地は必要量を分注して、プレインキュベーションしてから使用してください。

### ■ 継代

継代は必ず専用継代試薬キット [CC-5034] を使用してください。継代は、細胞密度が 70-85% の状態で行い、必要量の継代試薬を室温に戻して使用します。

\*Matrigel® Corning 社製

## HUVEC 製品一覧

カタログ番号	製品名	製品情報	サイズ	定価	
臍帯静脈	C2517A	HUVEC – 臍帯静脈内皮細胞 HUVEC – Human Umbilical Vein Endothelial Cells	正常新生児 (単一)	≥5.0 × 10 <sup>5</sup>	50,000円
	C2517AS	HUVEC – 臍帯静脈内皮細胞【スクリーニング済】 HUVEC – Human Umbilical Vein Endothelial Cells	正常新生児 (単一)	≥5.0 × 10 <sup>5</sup>	98,000円
	C2519A	HUVEC – 臍帯静脈内皮細胞 HUVEC – Human Umbilical Vein Endothelial Cells	正常新生児 (プール)	≥5.0 × 10 <sup>5</sup>	38,000円
	C2519AS	HUVEC – 臍帯静脈内皮細胞【スクリーニング済】 HUVEC – Human Umbilical Vein Endothelial Cells	正常新生児 (プール)	≥5.0 × 10 <sup>5</sup>	75,000円
	00191027	HUVEC-XL – 臍帯静脈内皮細胞【大容量】 HUVEC-XL – Human Umbilical Vein Endothelial Cells	正常新生児 (プール)	≥1.0 × 10 <sup>7</sup>	150,000円
CC-3162	EGM™-2 BulletKit™ EGM™-2 Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit™		基本培地および添加因子	21,000円	
CC-3156	EBM™-2基本培地 EBM™-2 Endothelial Cell Basal Medium-2		500 ml	18,000円	
CC-4176	EGM™-2 SingleQuotes™ 添加因子セット EGM™-2 Endothelial Cell Growth Medium-2 SingleQuotes™ Supplements and Growth Factors		1セット	18,000円	
臍帯静脈	CC-2517	HUVEC – 臍帯静脈内皮細胞 HUVEC – Human Umbilical Vein Endothelial Cells	正常新生児 (単一)	≥5.0 × 10 <sup>5</sup>	50,000円
	CC-2519	HUVEC – 臍帯静脈内皮細胞 HUVEC – Human Umbilical Vein Endothelial Cells	正常新生児 (プール)	≥5.0 × 10 <sup>5</sup>	38,000円
	CC-3124	EGM™ BulletKit™ EGM™ Endothelial Cell Growth Medium BulletKit™		基本培地および添加因子	26,000円
	CC-3121	EBM™ 内皮細胞基本培地 EBM™ Endothelial Cell Basal Medium		500 ml	18,000円
	CC-4133	EGM™ SingleQuotes™ 添加因子セット EGM™ Endothelial Cell Growth Medium SingleQuotes™ Supplements and Growth Factors		1セット	18,000円
CC-3024	EGM™ 完全培地【添加因子混合済み】 EGM™ Complete Endothelial Cell Growth Medium	完全培地	500 ml	23,300円	
臍帯静脈	CC-2935	HUVEC – 臍帯静脈内皮細胞 HUVEC – Human Umbilical Vein Endothelial Cells	正常新生児 (単一)	≥5.0 × 10 <sup>5</sup>	50,000円
	CC-5035	EGM™-Plus BulletKit™ EGM™-Plus Endothelial Cell Growth Medium BulletKit™		基本培地および添加因子	27,000円
	CC-5036	EBM™-Plus 内皮細胞基本培地 EBM™-Plus Endothelial Cell Basal Medium		500 ml	19,000円
	CC-4542	EGM™-Plus SingleQuotes™ 添加因子セット EGM™-Plus Endothelial Cell Growth Medium SingleQuotes™ Supplements and Growth Factors		1セット	19,000円

## HUVEC と推奨培地の選択ガイド

細胞 カタログ番号	単離に用いた 培地	推奨培地	Bullet Kit™ カタログ番号	BBE	VEGF	hEGF	備考
C2517A (単一) C2519A (複数) 00191027 (複数, 大量)	EGM™-2	EGM™-2	CC-3162	—	含有	含有	
C2517AS (単一) C2519AS (複数)	EGM™-2	EGM™-2	CC-3162	—	含有	含有	血管新生マーカー (eNOS, Axl, Tie-2, VEGFr2) の発現が陽性である事を確認済
CC-2517 (単一) CC-2519 (複数)	EGM™	EGM™	CC-3124	含有	—	含有	
CC-2935 (単一) <b>New!</b>	EGM™-Plus	EGM™-Plus <b>New!</b>	CC-5035	含有	—	含有	増殖が早い

## 培地含有成分

カタログ番号	製品名	内容
CC-3162	EGM™-2 BulletKit™	内皮細胞増殖培地-2 BulletKit™ 2% FBS 含む
CC-3156	EBM™-2 基本培地	内皮細胞基本培地-2, 無血清 添加により EBM™-2 を EGM™-2 として使用可能
CC-4176	EGM™-2 SingleQuotes™ キット	hEGF, 0.5 ml; ヒドロコルチゾン, 0.2 ml; FBS, 10 ml; VEGF, 0.5 ml; hFGF-B, 2 ml; R3-IGF-1, 0.5 ml; アスコルビン酸, 0.5 ml; GA-1000, 0.5 ml, ヘパリン, 0.5 ml (BBE なし)
CC-3124	EGM™ BulletKit™	内皮細胞増殖培地 BulletKit™ 2% FBS 含む
CC-3121	EBM™ 基本培地	内皮細胞基本培地, 無血清 添加により EBM™ を EGM™ として使用可能
CC-4133	EGM™ SingleQuotes™ キット	BBE, 2 ml; hEGF, 0.5 ml; ヒドロコルチゾン, 0.5 ml; FBS, 10 ml; GA-1000, 0.5 ml
CC-3024	EGM™ 完全培地	内皮細胞増殖培地 2% FBS 含む
CC-5035	EGM™-Plus BulletKit™	内皮細胞増殖培地™ BulletKit 2% FBS 含有
CC-5036	EGM™-Plus 基本培地	内皮細胞基本培地, 無血清
CC-4542	EGM™-Plus SingleQuotes™ キット	BBE 1ml; L-グルタミン 25 ml; hEGF 0.5 ml; ヒドロコルチゾン 0.5 ml; FBS 10 ml; GA-1000 0.5ml; アスコルビン酸 0.5 ml; ヘパリン 0.5 ml

## ロンザジャパン株式会社

バイオサイエンス事業部

〒104-6591 東京都中央区明石町8-1 聖路加タワー 39階

セールス TEL: 03-6264-0660  
E-mail: bioscience.sales.jp@lonza.com

技術サポート TEL: 03-6264-0663  
E-mail: bioscience.technicalsupport.jp@lonza.com

受注・在庫照会 TEL: 03-6264-0620

<http://www.lonzabio.jp>