



Product manual

For research use only. Not for clinical diagnosis.

Catalog No. CMC12C

Cardiomyocyte (Mouse)

May. 20, 2019

Principle

Cardiomyocyte is one of the cell groups that compose heart. Cardiomyocyte is known as beating involuntary striated muscle cells. The beat that is the feature of the cardiomyocyte can be widely used for a pharmacologic and electrophysiology assays, because it responds to a variety of stimuli including hormones, drugs and electricity. Cells are isolated from mouse embryos' heart, and cardiomyocytes are enriched by removal of non-cardiomyocytes. The involuntary beat of the cells can be seen in culture using Cardiomyocyte (Catalog No. CMC12C) .

Warranty

Cosmo Bio warrants that product (cells) will be viable until the expiration date, and is valid only if the product is stored and cultured according to the information indicated in this product data sheet. Cosmo Bio has optimized the cell culture media formulation which is ideal for the product. While other, unspecified cell culture media may also produce satisfactory results, a change in cell culture media or the absence of an additive(s) from the recommended cell culture media may affect recovery, growth and/or function of the product. If an alternative cell culture medium formulation is used to culture the product, the Cosmo Bio warranty for cell viability is no longer valid.

Components/Storage

Product Name	Size	Quantity	Storage Conditions	Expiration date
Cardiomyocyte (Mouse) (Catalog No. CMC12C)	2×10 ⁶ cells/vial (0.5mL/vial)	1	Liquid Nitrogen	6 months

*Shipping: dry ice

Optimized Culture Medium (selling separately)

Product Name	Size	Quantity	Storage Conditions	Expiration date
Cardiomyocyte Culture Medium (Catalog No. CMCM)	500 mL	1	-20°C (Store at 4°C after thawing)	- Written on the bottle (stored at -20°C)
Fibronectin coat solution (Catalog No. SFN01)	12 mL	1		- Please use up early after thawing (stored at 4°C)

Culture Medium components:

Catalog No. CMCM : D-MEM/F-12, FBS, antibiotic, etc.

Catalog No. SFN01 : bovine, plasma derived, concentration 20 µg / mL

*Shipping: dry ice



Materials required but not provided

- Variable volume pipettes
- Cardiomyocyte Culture Medium (Catalog No. CMCM)
- Fibronectin coat solution (Catalog No. SFN01)
- 24-well culture plate (flat bottom)
- 15 ml centrifuge tube.

Precautions

- Read the instructions carefully before beginning the culture.
- This kit is for research use only, not for human or diagnostic use.
- Always wear gloves and lab coat when handling the cell culture.
- Upon receiving, cryovials are immediately transferred to and stored in liquid nitrogen until ready to use. It is recommended to use cell vial immediately upon receiving.

Protocols

< Prepare a fibronectin coated Culture 24-well plate >

【Things to prepare】

- 24 well plate for culture
- Fibronectin coat solution (Catalog No. SFN01)
- Sterilized ultra pure water

1. Thaw fibronectin solution in a refrigerator (4 ° C) in advance.
2. Add 0.5 ml of fibronectin solution to each well.
(Add 0.25 ml/cm² of solution to each well in other types of culture plates.)
3. Leave the plate at 37°C in 5% CO₂ humidified incubation overnight.
4. Aspirate remaining material and rinse plates with sterile ultra pure water twice. Plates are ready for use.

<1-1. Cultured with the 24well-plate>

A seeding density of 2.0×10⁵ cells/well is recommended.

1. Thaw the Cardiomyocyte Culture Medium (cat# CMCM) at 4 ° C .
2. 4.5 mL of Cardiomyocyte Culture Medium into a 15 ml centrifuge tube and warm the to 37 ° C.
3. Quickly thaw the Cardiomyocyte vial for 1min 15sec in a 37°C water bath.
4. Transfer the vial contents of thawed cells into a 15 ml centrifuge tube containing 4.5 ml of Culture Medium.
5. Gently mix gently the cell suspension by slow pipetting up and down, and adjust cell density to 2.0×10⁶ cells/5 ml solution in the tube.
6. Transfer 0.5 ml of cell suspension to each well of fibronectin-coated 24-well plate.
7. Incubate the plate at 37°C in a 5 % CO₂ humidified incubator.
8. The next day, gently add 0.5 ml of fresh pre-warmed culture medium to each well.
9. Exchange the medium with fresh and pre-warmed culture medium every day or every other day until the culture reaches 80-100% of cell confluent.

* Culture reaches its confluent within 3-5 days, and cardiomyocytes begin beating.



* Do NOT use cold culture medium. Please pre-warm culture medium at 37°C before use to ensure the viability of cardiomyocytes.

* If you incubate at a volume of 0.5 mL or more, the beating rate may drop or the beating may stop.

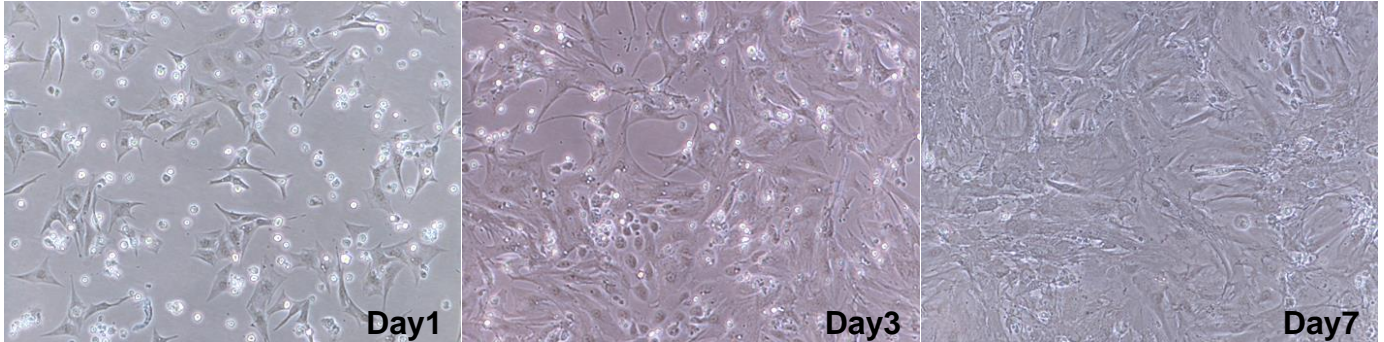


Fig. 1 Morphology of cardiomyocyte

<1-2. Culture adding 5-Bromo-2'-deoxyuridine>

It is recommended to supplement 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) to culture in order to increase the purity of cardiomyocytes (BrdU prevents non-cardiomyocytes from developing). Preparation of BrdU: Dissolve BrdU (Sigma Cat. No. B-9285 or the similar product) in culture medium to a concentration of 10mM and filter sterilization. Fresh BrdU solution should be used for cardiomyocyte culture.

10. Prepare cell suspension as described above in steps 1-5(<1-1. Cultured with the 24well-plate>).
11. Transfer 0.5 ml of cell suspension to each well of fibronectin-coated 24-well plate and add 5 µl of 10mM BrdU to each well (0.1 mM BrdU-final concentration).
12. Incubate the plate at 37°C in a 5 % CO₂ humidified incubator.
13. The next day, exchange the medium with fresh 0.5 ml of the medium containing 0.1 mM BrdU.
14. On day 3 of the culture, replace the medium with fresh 0.5 ml of the medium without BrdU.

For research use only. Not for clinical diagnosis.



COSMO BIO Co., LTD.

[JAPAN]

TOYO EKIMAE BLDG. 2-20, TOYO 2-CHOME,
KOTO-KU. TOKYO 135-0016, JAPAN
Phone: +81-3-5632-9610
FAX: 81-3-5632-9619
URL: <https://www.cosmobio.co.jp/>



COSMO BIO USA

[Outside Japan]

2792 Loker Ave West, Suite 101
Carlsbad, CA 92010, USA
email: info@cosmobioussa.com
Phone/FAX: (+1) 760-431-4600
URL: www.cosmobioussa.com



マウス心筋細胞

【 Mouse Cardiomyocyte, Code No.CMC12C】

本製品は研究目的にのみご使用になれます。

2019年4月15日改訂

製品概要

心臓を構成している細胞群の一つである心筋細胞は、横紋を有する不随意筋で収縮と弛緩を繰り返して運動する細胞として知られています。心筋細胞の特徴である拍動は、様々なホルモンや薬物、電気刺激に反応するため、薬理的・電気生理学的なアッセイに幅広く利用することができます。

本製品の心筋細胞は、マウス胎児の心臓から様々な方法で大部分の非心筋細胞を取り除いた細胞群を凍結保存したのになります。この凍結細胞から起こした心筋細胞には拍動を観察することができます。

使用前注意事項

本マニュアルを使用前に必ずご確認ください。

本製品はすべて【無菌操作】で実施して下さい。バイオセーフティーレベルは【レベル 1】です。

本製品の培養には別売の専用メディウムをご使用下さい。

製品の保証について

細胞を液体窒素にて正しく保存し、専用メディウム及び試薬を用いてマニュアル通りに培養された場合のみ、培養開始後の増殖不良に関して保証致します。

当社、製品サポート(メール:primarycell@cosmobio.co.jp)までご連絡下さい。

保証期限は【製品お受け取りから6ヶ月以内】です。

メディウムや使用方法に変更を加えられた場合や、再凍結した細胞を使用された場合は、保証の対象になりませんのでご注意ください。

製品構成

構成	容量	本数	保存方法	有効期限
マウス心筋細胞 (凍結細胞)	2×10 ⁶ cells/vial (0.5mL/vial)	1本	液体窒素保存	6ヶ月

※受け取り後、直ちにご使用にならない場合は凍結細胞を液体窒素にて保存してください

細胞の由来

ICR マウス(胎児)の心臓から分離させた心筋細胞を含む細胞群

専用メディウム&培養容器コート溶液(別売)

品名	品番	容量	保存方法	有効期限
心筋細胞用培養メディウム	CMCM	500 mL	-20℃保存 (解凍後は4℃保存)	ボトル記載(-20℃保存) 解凍後3ヶ月(4℃保存)
フィブロネクチンコート溶液	SFN01	12 mL	-20℃保存 (解凍後は4℃保存)	ボトル記載(-20℃保存) 解凍後3ヶ月(4℃保存)

培地の主成分:DMEM/F-12、血清、抗生剤、その他

操作方法

※本製品は【継代不可】です。



COSMO BIO CO., LTD.

Inspiration for Life Science

コーティング方法

※培養容器は細胞解凍の前に予めフィブロネクチンでコーティングしてください。

※コラーゲン I でコーティングした培養容器でも可能ですが、心筋細胞の接着がやや低下します。

【準備するもの】

- 培養用 24well プレート
- フィブロネクチンコート溶液(別売)

1. フィブロネクチン溶液を予め冷蔵(4℃)で解凍してください。
2. フィブロネクチン溶液を 1well あたり 0.5 mL ずつ入れてください。
※ 他の培養容器に使用する場合は、培養面積 1 cm²あたり 0.25 mL 入れてください。
3. フィブロネクチン溶液が入っている培養容器を 37℃インキュベーター内で一晩静置してください。
4. 使用直前に well 内のフィブロネクチン溶液を除去し、さらに well 内に滅菌水 1 mL を入れて洗浄してください。洗浄を 2 回した後に培養容器を使用してください。

細胞解凍・播種

※下記は、24well プレートで培養する場合のプロトコールになります。

※心筋細胞用培養メディウムは細胞の解凍前に予め、冷蔵で解凍しておいてください。

【準備するもの】

- 培養用 24well プレート(フィブロネクチンでコーティングしたもの)
- 心筋細胞用培養メディウム
- 滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 凍結細胞のバイアルを、37℃温水にて 75-80 秒間加温して解凍してください。
2. 解凍した細胞液は、予め 37℃に加温した心筋細胞用培養メディウム 4.5 mL が入っている 15 mL 遠心管に移し混和した後、遠沈管内の培養メディウムを 1 mL 分取し、バイアルを共洗いして細胞液を回収してください。
※37℃に温めていないメディウムを使用した場合は、心筋細胞の生存率に大きく影響します。
培養メディウムは必ず 37℃に温めて使用してください。
3. 細胞懸濁液をフィブロネクチンコートした 24well プレートの 1 ウェルあたり 0.5 mL 播種し、5%CO₂ 存在下の 37℃インキュベーターで培養してください。
4. 翌日、接着しなかった細胞を取り除くために 37℃に保温した心筋細胞用培養メディウムで洗浄を数回行って下さい(1well あたり 0.5 mL)。洗浄後、1well あたり 0.5 mL のメディウムを加え、再度 5%CO₂ 存在下の 37℃インキュベーターで培養してください。
5. 培地交換の頻度は、100%コンフルエントまでは 1 日おきに、それ以降は毎日行ってください。

※播種してから 2~3 日後から心筋細胞が拍動し始め、3~5 日後にコンフルエントになります。

※**0.5mL 以上のメディウム量で培養すると拍動率の低下または拍動が停止する場合があります。**

5-Bromo-2'-deoxyuridine での培養方法

心筋細胞の純度をより高めたい場合は 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を添加することをお勧め致します。BrdU を添加することで増殖能が高い非心筋細胞内に BrdU が取込まれ、細胞の増殖を抑えることができます。

【準備するもの】

•5-Bromo-2'-deoxyuridine (Sigma Cat.No. B-9285 または同等品)を 10mM になるように培養メディウムで溶解し、ろ過滅菌してください(用時調製)。

1. 細胞解凍・播種方法の 1~2 を行います。
2. 24well プレート(フィブロネクチンコート済み)に 1well あたり細胞懸濁液 0.5 mL ずつ播種し、さらに 10 mM BrdU を 5μL 添加(終濃度 0.1 mM)してから 5%CO₂ 存在下の 37℃インキュベーターで培養してください。
3. 翌日、37℃に保温した培養メディウム(0.1mM BrdU を含む)で 1well あたり 0.5 ml ずつ培地交換してください。播



COSMO BIO Co., LTD.

Inspiration for Life Science

種後 2~3 日間は BrdU を含む培養メディアウムで培養し、それ以降は BrdU を含まない培養メディアウムに交換し引き続き培養してください。

《本製品をご利用になられた文献、発表データ》

本製品をご利用いただき投稿された論文、学会発表パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

送付先: 〒047-0261 北海道小樽市銭函 3 丁目 513 番 2

コスモ・バイオ株式会社 札幌事業部 あて郵送

または primarycell@cosmobio.co.jp あて PDF ファイル送信



コスモ・バイオ株式会社

COSMO BIO Co., LTD.

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル

URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

● 営業部 (お問い合わせ)

TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619

TEL : (03) 5632-9620

● 札幌事業部 (技術的なお問い合わせ)

TEL : (0134) 61-2301 FAX : (0134) 61-2295

E-mail : primarycell@cosmobio.co.jp

URL : <http://www.primarycell.com/>