



# Osteoblast from cranial bone

(Rat Osteoblast from cranial bone)

May 14, 2019

## Principle

Bone metabolism is composed of balanced bone formation of osteoblasts and bone resorption of osteoclasts. Osteoblast from cranial bone (OBC02C) contains frozen osteoblasts isolated from rat calvariae. Osteoblast from cranial bone (OBC02C) is a useful to study osteoblast and osteogenesis.

## 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cell culture medium formulation is used to culture the product, the Cosmo Bio warranty for cell viability is no longer valid.

## Precautions

- Read the instructions carefully before beginning the culture.
- Remove the cryovial from the dry ice packaging and immediately place into liquid nitrogen storage until use.

## Components

| Product Name              | Size                              | Quantity | Storage Conditions             | Expiration date |
|---------------------------|-----------------------------------|----------|--------------------------------|-----------------|
| Osteoblast, cryopreserved | 1.0x10 <sup>6</sup><br>cells/vial | 1        | Liquid Nitrogen<br>vapor phase | 6 months        |

\*Shipping: dry ice



### Optimized Culture Medium (selling separately)

| Catalog No. | Product Name              | Size   | Quantity | Storage Conditions | Expiration date         |
|-------------|---------------------------|--------|----------|--------------------|-------------------------|
| OBCM        | Osteoblast Culture Medium | 500 mL | 1        | -20°C<br>Freezer   | - Written on the bottle |
|             |                           |        |          | 4°C                | 3month after thawing    |

Culture Medium components:  $\alpha$ -MEM, FBS, antibiotics, etc.

### Materials required but not provided

- ✧ Variable volume pipettes
- ✧ Culture vessels
- ✧ 0.05% Trypsin/EDTA
- ✧ HBSS or PBS(-)

### Protocol

- A) Cultured with the 25 cm<sup>2</sup> flask
- 1) Carefully remove the cryovial from liquid nitrogen and thaw cells in a water bath at 37°C for 120 seconds.
  - 2) Transfer thawed cells into a 15 ml centrifuge tube containing 10 ml of culture medium and Transfer 1mL of culture medium in the same conical tube back to the cryovial and pour the contents back to 15mL conical tube.
  - 3) Centrifuge for 5 minutes at 4°C at 600 x g for 5 minutes.
  - 4) Remove the supernatant, and re-suspend the cell pellet in approximately 5 ml of culture medium.
  - 5) Transfer the cell suspension to 25 cm<sup>2</sup> flask and incubate the flask at 37°C under 5% CO<sub>2</sub> and 100% humidity.
  - 6) The next day, Replace the medium with fresh pre-warmed culture medium.  
※Approximately 2-3 days of culture, cells become confluent. For subculture, please refer to the protocol below. Subculture of the cells can be performed up to passage 2.



B) Subculture

- 1) When the cells reach 70 - 90% of confluent, they should be subcultured.
  - 2) Aspirate the medium. Rinse the dish with 10mL of HBSS or PBS (-). Repeat twice.
  - 3) Remove HBSS or PBS (-) and then add 3 ml of trypsin/EDTA solution into flask (25 cm<sub>2</sub> flask).
  - 4) Gently rock the flask to make sure that the cells are covered by trypsin/EDTA solution and then immediately remove trypsin/EDTA solution.
  - 5) Incubate the flask in a 37°C incubator until cells are completely rounded up (monitored with inverted microscope). Approximately it takes 2 to 3 minutes.
  - 6) Add culture medium to the flask and transfer detached cells to centrifuge tube, and then centrifuge the centrifuge tube at 4°C at 600 x g for 5 minutes.
  - 7) After removing the supernatant, re-suspend cells in culture medium and centrifuge .for 5 minutes at 4°C at 600 x g.
  - 8) Remove the supernatant, and re-suspend cells in culture medium. Count cells and plate cells in a new plate or flask (Adjust cell density to the desired experiment).
- ※Approximately 2-3 days of culture, cells become confluent when seeding density is 30,000 cells/ cm<sup>2</sup>.



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](mailto:info@cosmobioussa.com)  
Phone/FAX: (+1) 760-431-4600  
URL: [www.cosmobioussa.com](http://www.cosmobioussa.com)

**For research use only. Not for clinical diagnosis.**



凍結株化細胞製品

# ラット頭蓋由来骨芽細胞

## 【 Rat Osteoblast from cranial bone, Code No. OBC02C 】

本製品は研究目的にのみご使用になれます。

2018年11月6日作成

### I. 製品概要

現在、わが国では高齢化社会の到来に伴い骨粗鬆症等の骨代謝異常疾患が年々増加の一途をたどっています。骨量は、骨芽細胞による骨形成と、破骨細胞による骨吸収とのバランスによってコントロールされています。本製品は、ラット頭蓋由来の骨芽細胞(凍結細胞)です。骨形成や骨代謝等の研究にご利用ください。

### II. 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。

### III. 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](mailto: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。

### IV. 製品構成

| 構成                | 容量                           | 本数 | 保存方法   | 保証期限 |
|-------------------|------------------------------|----|--------|------|
| ラット骨芽細胞<br>(凍結細胞) | 1×10 <sup>6</sup> cells/vial | 1本 | 液体窒素保存 | 6か月  |

※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

### V. 細胞の由来

SDラット新生児の頭蓋由来



## VI. 専用メディアウム(別売)

| 品名          | 品番   | 容量     | 保存方法                   | 使用期限                            |
|-------------|------|--------|------------------------|---------------------------------|
| 骨芽細胞用メディアウム | OBCM | 500 mL | -20°C保存<br>(解凍後は4°C保存) | ボトル記載(-20°C保存)<br>解凍後3か月(4°C保存) |

培地の主成分:α-MEM、血清、抗生剤、その他

## VII. 操作方法

※本製品は【2回まで継代可能】です。

### 細胞解凍・播種

※下記は、25 cm<sup>2</sup>フラスコで培養する場合のプロトコールになります。

#### 【準備するもの】

- ・骨芽細胞用メディアウム(品番:OBCM)
- ・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°C温水にて2分間加温して解凍してください。
2. 解凍した細胞液は、予め骨芽細胞用メディアウム・10mLが入っている15mL遠心管に移し混和した後、遠沈管内のメディアウムを1mL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。
3. 4°C、600xgで5分間遠心してください。
4. 上清を除去し、骨芽細胞用メディアウムを5mL加え細胞浮遊液とします。
5. 細胞浮遊液・5mlを25cm<sup>2</sup>フラスコ・1個に播種し、5%CO<sub>2</sub>存在下の37°Cインキュベーターで培養してください。
6. 翌日、保温した骨芽細胞用メディアウムで培地交換し、任意の実験系に供してください。

※播種してから2~3日後にコンフルエントになります。

### 細胞継代

#### 【準備するもの】

- ・HBSS(-)もしくはPBS(-)
- ・0.05%トリプシン-0.53mM EDTA 溶液
- ・骨芽細胞用メディアウム(品番:OBCM)
- ・滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 70~90%コンフルエントになった細胞をCO<sub>2</sub>インキュベーターから取り出して下さい。
2. 上清を吸引除去し、HBSS(-)もしくはPBS(-)を5mL添加し、フラスコを洗浄して下さい。(この操作を2回繰り返して下さい)。



COSMO BIO Co., LTD.

Inspiration for Life Science

3. HBSS(-)もしくはPBS(-)を吸引除去し、0.05% Trypsin-EDTA を 3mL 添加して培養表面に行き渡らせた後、直ちにフラスコ内のトリプシン-EDTA 溶液を吸引除去してください。  
フラスコを 37°C インキュベーターに静置して酵素処理をおこなってください。
4. 検鏡で細胞が丸くなるのを確認し、フラスコを軽くたたき培養面から細胞が剥がれるまで酵素処理をおこなって下さい(酵素処理時間は通常 2~3 分間程度)。  
  
※トリプシンは細胞を損傷するため、剥離度合いを顕微鏡下で観察しながら、ほぼ全ての細胞が剥離したら速やかに次の処理に移って下さい。
5. フラスコ内に骨芽細胞用メディウムを加えて酵素処理を停止し、分散した細胞を遠心管に回収してください。
6. 4°C、600xg で 5 分間遠心してください。
7. 上清を除去し、骨芽細胞用メディウムを加えて細胞浮遊液を調製した後に、血球計算盤で細胞数をカウントし、任意の実験系に適切な細胞密度になるように調整し播種してください。

※細胞密度を  $3.0 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$  で播種した場合、2~3 日後にコンフルエントになります。

《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いて投稿された論文、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/>