細胞培養用器材

ad-MED ビトリゲル®シリーズ

ad-MED ビトリゲル®は、組織再構築に有用なコラーゲンビトリゲル®膜を使用した細胞培養用インサートです。従来のプラスチックメンブレンと比較して優れた細胞接着・伸展活性を有し、様々な細胞に対して良好な細胞培養を可能とします。

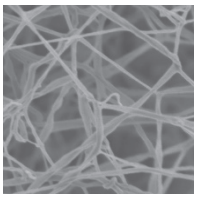
本パンフレットではad-MED　ビトリゲル®のほか、専用の経上皮電気抵抗測定装置や眼刺激性試験法「Vitrigel®-EIT法」についての情報も掲載しております。組織モデル構築や新規評価系開発のツールとしてお役立てください。

ビトリゲル®とは？

コラーゲン溶液はpH、温度およびイオン強度条件に応じてゲルを形成します。コラーゲンゲルの水分が除去されるとコラーゲン線維密度が増加し、ゲルはメンブレン（膜）状に変化します。この脱水プロセスは「ガラス化：ビトリフィケーション」と呼ばれるので、この方法で製造されたメンブレンを「ビトリゲル®」と呼びます。

コラーゲンゲル

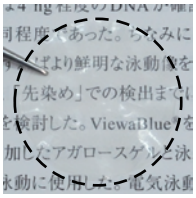
目視



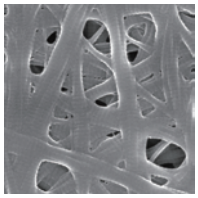
SEM

Vitrification

コラーゲンビトリゲル®



目視



SEM

「ビトリゲル」は、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構による登録商標です。
ad-MED ビトリゲル®は、農林水産省 「アグリ・ヘルス実用化研究促進プロジェクト（ビトリゲル®）」の支援を受けて、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構と共同で開発されました。

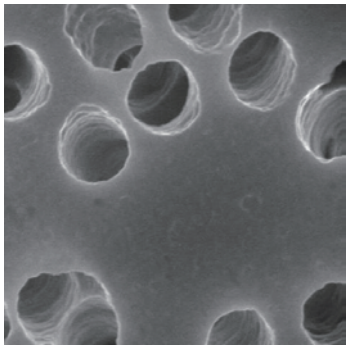
関東化学株式会社

ビトリゲル®膜の特徴

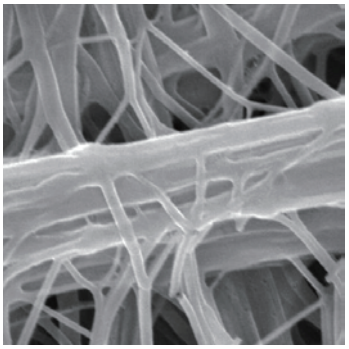
1．膜構造

ビトリゲル®膜はコラーゲン線維が絡み合ったメッシュ状の構造を有します。

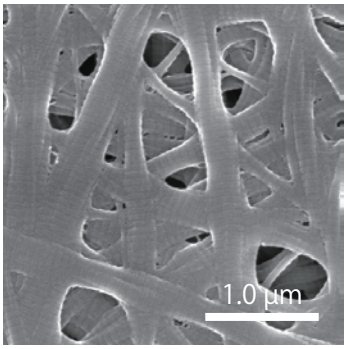
各種メンブレンのSEM観察像



他社品A
（PET, 0.4 μm）



他社品B
（PTFE）

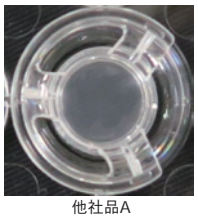


ad-MED ビトリゲル®2
（コラーゲンビトリゲル®2膜）

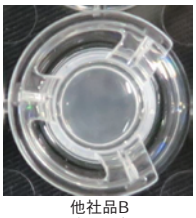
2．透明性

ビトリゲル®膜は可視光領域の吸光度が低いため、PET膜及びPTFE膜と比較して透明性が高く、
目視及び光学顕微鏡下で視認性が良好です。

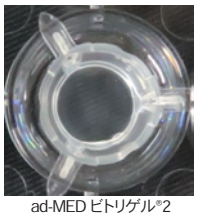
水和した各種メンブレンインサートの目視像（左）、可視光領域における吸光度比較（右）



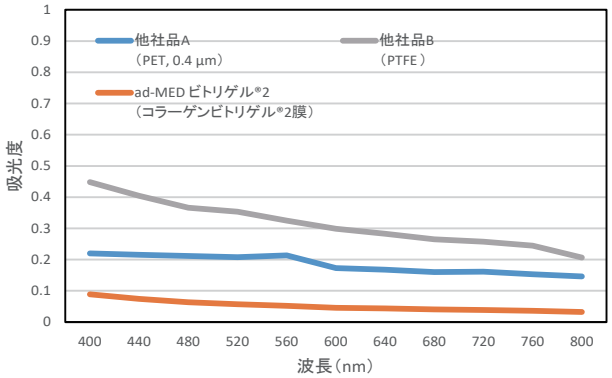
他社品A
（PET, 0.4 μm）



他社品B
（PTFE）



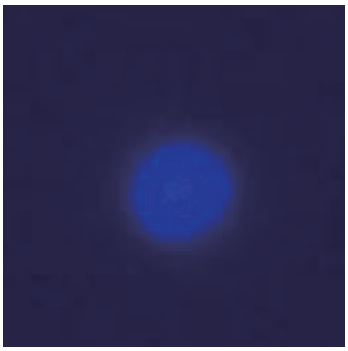
ad-MED ビトリゲル®2
（コラーゲンビトリゲル®2膜）



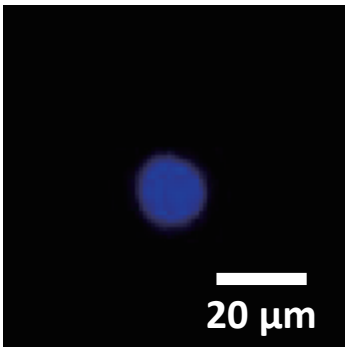
3．低自家蛍光

ビトリゲル®膜はPET膜に比べ自家蛍光が低く、蛍光観察下でのバックグラウンドの上昇が抑えられます。

細胞核染色時の蛍光観察像



他社品A
（PET, 0.4 μm）



ad-MED ビトリゲル®2
（コラーゲンビトリゲル®2膜）

細胞：Caco-2

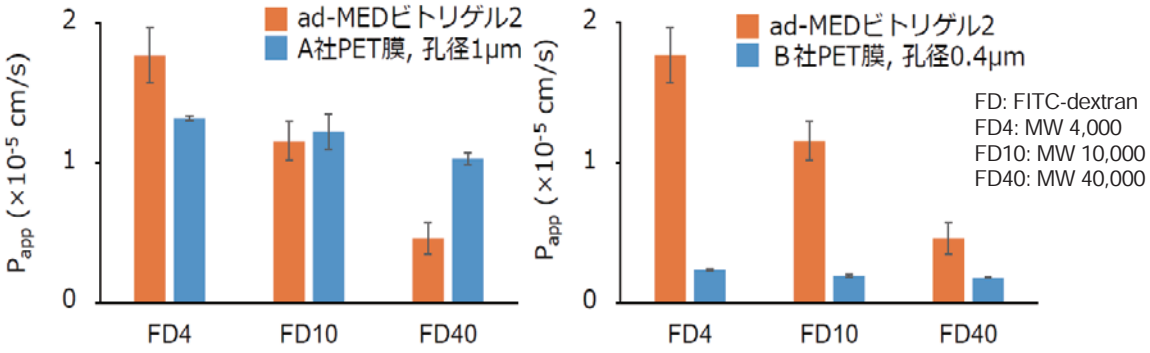
青：Nucleus

ad-MED ビトリゲル®の特徴

4. 物質透過性

ビトリゲル®膜は物質の分子量に依存した透過性を有します。

各種メンブレンとad-MED ビトリゲル®2の蛍光標識デキストランを用いた透過係数の比較

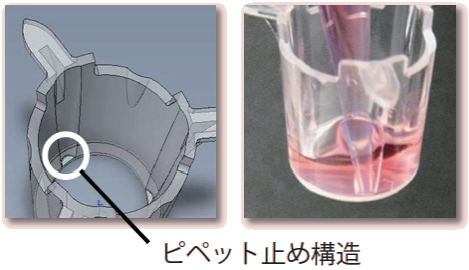


＊本データは特定の試験条件下で得られたデータであり、製品の性能を保証するものではありません

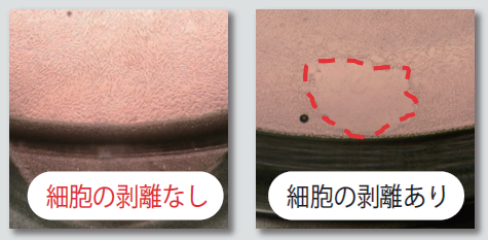
5. ピペット止め構造

ad-MED ビトリゲル®シリーズのセルカルチャーインサートはピペット止め構造を有しているため、ピペットの先端が膜や細胞に直接触れず、細胞の剥離を最小限に抑え培養液を交換できます。

ad-MED ビトリゲル®2の外観図（左）、
培養液交換の様子（右）

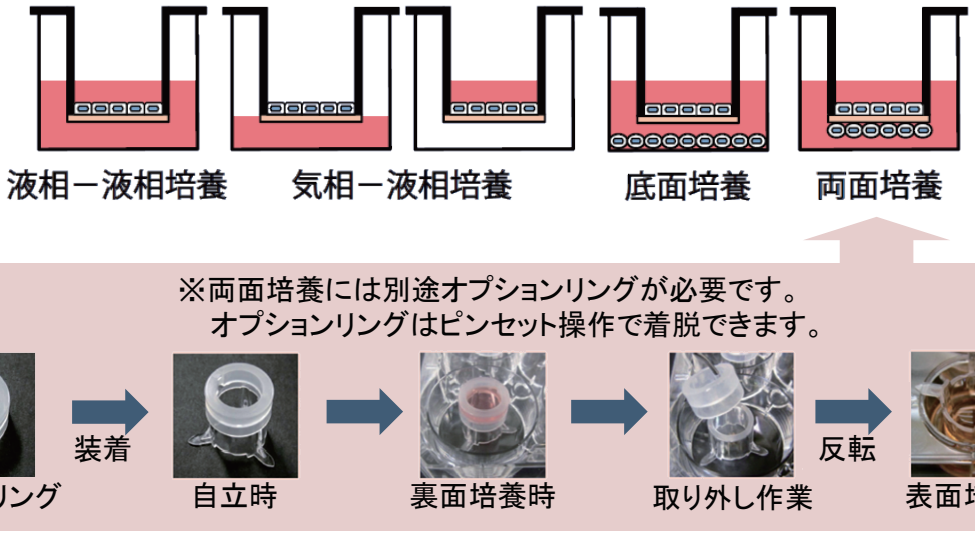


培養液交換後の細胞の様子（細胞：NIH3T3）
ad-MED ビトリゲル®2（左）、他社PET樹脂製品（右）



6. 共培養システム

ad-MED　ビトリゲル®シリーズは液相ー液相培養以外にも液相ー気相培養など生体内の環境を模した条件での培養が可能です。また、物質透過性にも優れているため、異種細胞の底面及び両面での共培養による相互作用解析にも有用です。

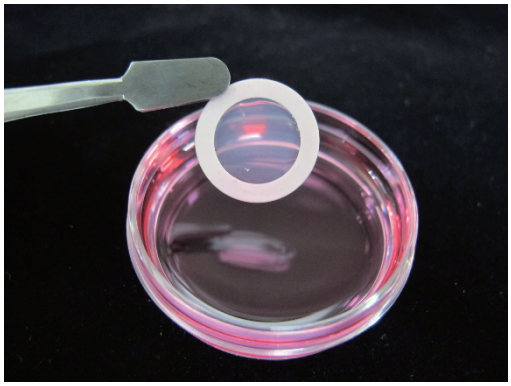


ビトリゲル®膜について

当社ではad-MED ビトリゲル®シリーズの製造ノウハウを活かし、ビトリゲル®膜を各種サイズのメンブレン状に加工する技術を有しております。ビトリゲル®膜の詳細については弊社までお問い合わせください。

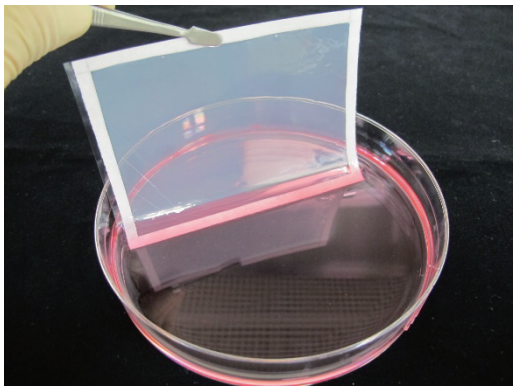
例1）　円形メンブレン（φ15 ㎜、φ21 ㎜）

φ21 ㎜はad-MEDビトリゲル®2 12ウェル、
φ15 ㎜はad-MEDビトリゲル®2 24ウェルの
底面に相当するサイズ



例2）　シート状メンブレン（104 ㎜×74 ㎜）

特注製造品の一例（カタログ品のご用意はございません）



＊本品は試験研究用試薬です
　ヒトや動物を対象にした医療や診断目的には使用しないでください

参考文献

Generation of Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Functional Enterocyte-Like Cells for Pharmacokinetic Studies.
S.Yoshida, T.Honjo, K.Iino, R.Ishibe, S.Leo, T.Shimada, T.Watanabe, M.Ishikawa, K.Maeda, H.Kusuhara, N.Shiraki, S.Kume
Stem Cell Reports. 2021;16(2):1-14.
薬物動態試験のためのhiPS細胞由来機能性腸様細胞の作製

Adipose-derived stromal/stem cells improve epidermal homeostasis.
Moriyama M, Sahara S, Zaiki K, Ueno A, Nakaoji K, Hamada K, Ozawa T, Tsuruta D, Hayakawa T, Moriyama H.
Scientific Reports. 2019;9(1):18371.
ヒト初代表皮ケラチノサイトと脂肪由来間葉系幹細胞の共培養

Collagen vitrigel promotes hepatocytic differentiation of induced pluripotent stem cells into functional hepatocyte-like cells.
Nakai S, Shibata I, Shitamichi T, Yamaguchi H, Takagi N, Inoue T, Nakagawa T, Kiyokawa J, Wakabayashi S, Miyoshi T, Higashi E, Ishida S, Shiraki N, Kume S
Biology Open. 2019;8(7).
hiPS細胞由来内胚葉細胞の肝細胞への分化誘導

Prediction of Human Hepatic Clearance for Cytochrome P450 Substrates via a New Culture Method Using the Collagen Vitrigel Membrane Chamber and Fresh Hepatocytes Isolated from Liver Humanized Mice.
Watari R, Kakiki M, Yamasaki C, Ishida Y, Tateno C, Kuroda Y, Ishida S, Kusano K.
Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2019;42(3):348-353.
ヒト肝細胞キメラマウス由来新鮮ヒト肝細胞の代謝活性評価

Fabrication of a Corneal Model Composed of Corneal Epithelial and Endothelial Cells via a Collagen Vitrigel Membrane Functioned as an Acellular Stroma and Its Application to the Corneal Permeability Test of Chemicals.
Yamaguchi H, Takezawa T.
Drug Metabolism and Disposition. 2018;46(11):1684-1691.
ヒト角膜細胞を用いた角膜モデルの透過性評価

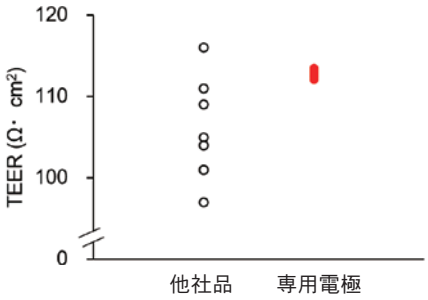
経上皮電気抵抗（TEER）測定装置

本製品は、ad-MED ビトリゲル®またはad-MED ビトリゲル®2で培養した細胞の経上皮電気抵抗（Transepithelial electrical-resistance; TEER）を測定できます。細胞のバリア機能の評価にご使用いただけます。

特徴

1．専用電極により安定した測定が可能

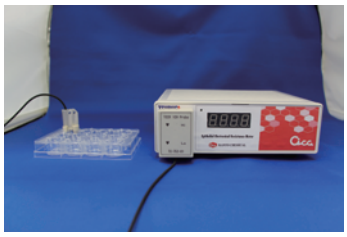
ad-MED ビトリゲル®シリーズに対応した専用電極を開発し、インサートにしっかりと固定することによって、TEER値のわずかな変化も正確に測定できます。



ad-MED ビトリゲル®専用電極（左）、同一サンプルを10回繰り返し測定した場合のTEER値の分布（右）

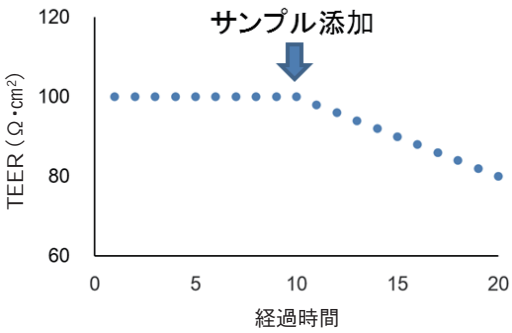
2．PCによるデータ保存・解析に対応

付属のデータ転送ソフトによるPCへのデータ保存、閲覧が可能です。また、保存したデータを表計算ソフト等で加工・解析も可能です。



3．TEER値を測定しながらインサート内へのアクセスが可能

専用電極をセットした状態でインサート内に被験物質を添加できます。ad-MED ビトリゲル®またはad-MED ビトリゲル®2で培養した組織モデルに対する被験物質の影響をリアルタイムにモニタリングできます。

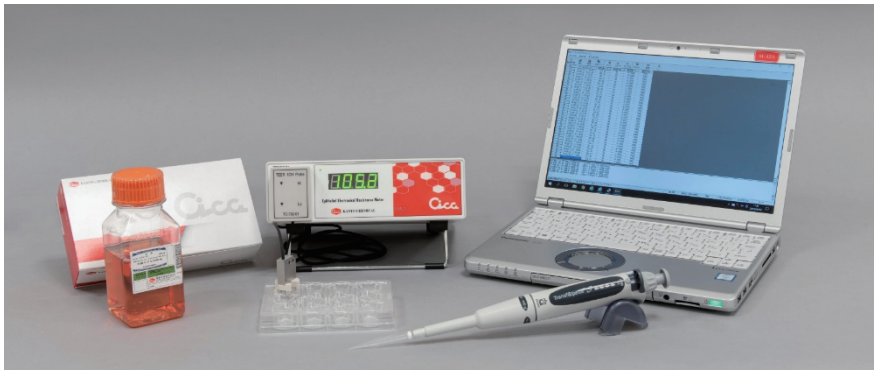


眼刺激性試験法「Vitrigel®-Eye Irritancy Test（Vitrigel®-EIT法）」

眼刺激性試験とは、化学物質が眼に付着することによって引き起こされる傷害の重篤性を評価するための試験法です。従来はウサギの眼に被験物質を滴下して、傷害の程度を観察する動物実験（ドレイズ試験）によって行われてきましたが、動物の代わりに培養細胞等を利用した各種の試験法（動物実験代替法）が開発されています。

特徴

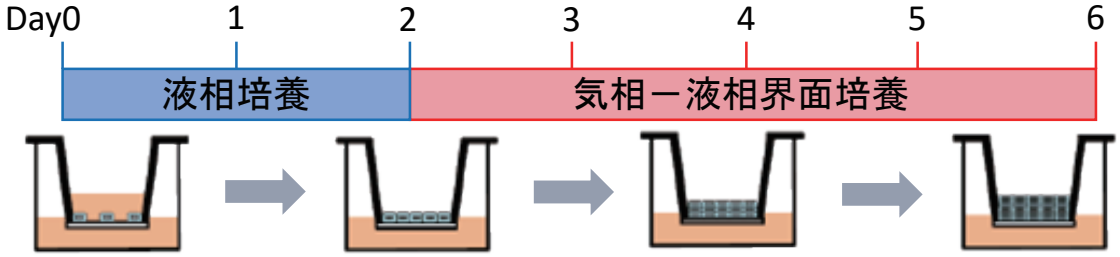
Vitrigel®-EIT法は、ad-MED ビトリゲル®またはad-MED ビトリゲル®2（12ウェル）上に作製したヒト角膜上皮モデルを用いた眼刺激性試験法です。本試験法はヒト角膜上皮モデルへの被験物質の曝露による上皮バリア機能の破壊を指標として、簡便な操作で短時間に被験物質の刺激性を検出できます。



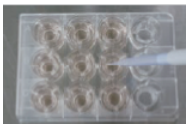
操作手順

ad-MED ビトリゲル®上にヒト角膜上皮由来の細胞を培養することによって、ヒト角膜上皮に類似した構造と、上皮バリア機能を持つ角膜上皮モデルを構築します。

1．角膜モデルの構築

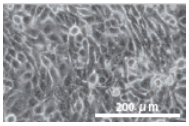


0日目　ad-MED ビトリゲル®上にヒト角膜上皮細胞（HCE-T細胞）を播種



インサート内に0.5 mL、ウェル内に1.5 mLの培養液を添加する

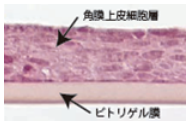
2日目　気相ー液相界面培養開始



HCE-T細胞がコンフルエントになった様子
（モノレイヤーが形成）

インサート内の培地を空にして
界面培養を開始する

6日目　ヒト角膜上皮モデル完成



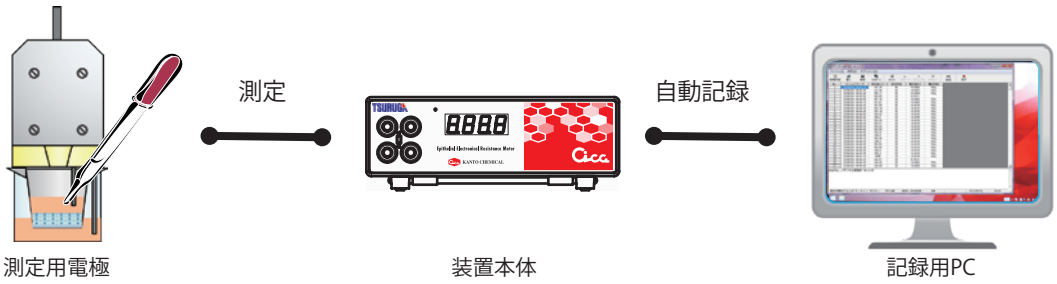
角膜モデルのHE染色像
（界面培養により細胞が多層化）

TEER値を測定し、既定の値に達したモデルを
眼刺激性試験法に使用

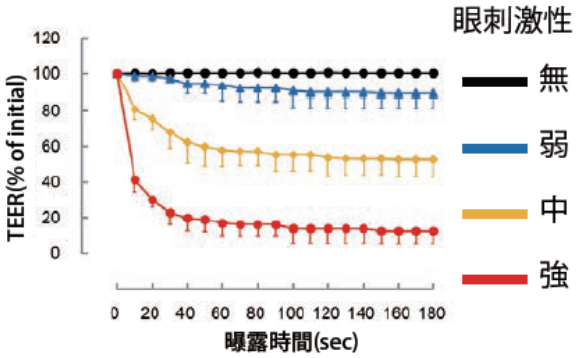
眼刺激性試験法「Vitrigel®-Eye Irritancy Test（Vitrigel®-EIT法）」

上皮バリア機能の健全性を簡便に評価する指標として、経上皮電気抵抗値（TEER）があります。健全なバリア機能を有する組織が高いTEER値を示すのに対して、バリア機能が障害されるとTEER値は低下します。Vitrigel®-EIT法では、角膜上皮モデルに化学物質を滴下してTEER値の変化を専用の装置で測定することで、わずか3分間で化学物質の眼刺激性の有無を判定することができます。

2．角膜モデルに被験物質を暴露し、TEER値の経時変化を3分間測定



【測定例：角膜モデルに4種類の被験物質を添加した際のTEER値の経時変化】



・測定電極を固定したまま被験物質を滴下可能

・装置付属の専用ソフトにより、10秒毎のTEER値の変化を自動的に測定、記録

3．測定結果をデータシートに入力し、眼刺激性の有無を判定

【参考文献】

1．Yamaguchi H, Kojima H, Takezawa T. Predictive performance of the Vitrigel-eye irritancy test method using 118 chemicals. *Journal of Applied Toxicology.* 2016;36:1025-1037

2．Yamaguchi H, Kojima H, Takezawa T. Vitrigel-eye irritancy test method using HCE-T cells. *Toxicological Sciences.* 2013;135:347-355

＊Vitrigel®-EIT法の詳細について説明をご希望の際は弊社までお問い合わせください

OECDテストガイドライン

Vitrigel®-EIT法は2019年6月に国際的な公定法であるOECDテストガイドライン* No.494として収載されました。2021年6月には適用範囲を拡大した改訂試験法が収載され、被験物質調製液の状態を調べる予試験を実施することで、液体物質のみならず固体物質にも適用可能となりました。今後実験動物を用いない簡便かつ迅速な試験法として、より安全性の高い化粧品等の開発に活用されることが期待されます。

＊OECDテストガイドラインとは?
化学物質が人の健康や生態系へ及ぼす影響等を国際的に共通の方法で評価することを目的として、経済協力開発機構（OECD）が収載した試験法のリストです。複数施設によるバリデーション試験や、専門家による第三者評価によって有効性や信頼性を認められた試験法がOECDの審査を経てテストガイドラインに収載されます。

眼刺激性試験法「Vitrigel®-EIT法」は、農林水産省「アグリ・ヘルス実用化研究促進プロジェクト」の支援を受け、
国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構と共同で開発されました。

製品情報

製品名	包装	参考価格(¥)	製品番号
細胞培養用インサート ad-MED ビトリゲル®シリーズ			
ad-MED ビトリゲル®2（12ウェル）	12個/セット	24,000	08363-96
ad-MED ビトリゲル®2（24ウェル）	24個/セット	29,500	08364-96
ad-MED ビトリゲル®2（96ウェル）	96ウェル/セット	60,000	08368-96
ad-MED ビトリゲル® 専用オプションリング（12ウェル用）	24個（6個×4）	4,700	08369-96
ad-MED ビトリゲル® 専用オプションリング（24ウェル用）	24個（6個×4）	4,700	08373-96
ad-MED ビトリゲル®2（96ウェル）用リザーバープレートセット	1セット*1	10,500	32448-67

*1　リザーバープレートセットは、ad-MED ビトリゲル2（96ウェル）から、8連インサートを除く
フタ、インサートガイド、シングルウェルプレート、96ウェルプレートのセットとなります。

製品名	包装	参考価格(¥)	製品番号
メンブレン製品			
ビトリゲル®2 メンブレン（φ21 ㎜）、滅菌済	24枚（6枚×4）	31,500	44126-67
ビトリゲル®2 メンブレン（φ15 ㎜）、滅菌済	24枚（6枚×4）	31,500	44125-67

製品名	包装	参考価格(¥)	製品番号
経上皮電気抵抗（TEER）測定用装置 *4			
経上皮電気抵抗（TEER）測定装置（1CH用）	1台*2	250,000	40225-97
TEER測定用電極（12ウェル、1CH用）*3	1本	77,000	14136-97
TEER測定用電極（24ウェル、1CH用）*3	1本	88,000	14166-97

*2　装置にはユーティリティーソフト、RS-232Cケーブルが同梱されております。
PCと接続して使用する際は別途RS-232C-USB変換ケーブルをご用意ください。
*3　測定用電極はad-MEDビトリゲル®シリーズ専用です。
他社セルカルチャーインサートには使用できませんので、ご注意ください。
*4　TEER測定装置関連製品の仕様等につきましては、製品の改良などのために
予告なしに変更することがありますのでご了承ください。

製品名	包装	参考価格(¥)	製品番号
眼刺激性試験法（Vitrigel®-EIT法）関連製品			
角膜モデル用培地	200 mL	10,500	25997-96

● 本記載の製品は、試薬（試験、研究用として用いる化学薬品）としての用途にご利用ください。　● 本記載価格に、消費税等は含まれておりません。
● 本記載の製品情報は予告なく変更する場合があります。 最新情報は、弊社ホームページ「Cica-Web」をご確認ください。

関東化学株式会社
試薬事業本部

〒103-0022 東京都中央区日本橋室町 2 丁目 2 番 1 号
TEL : 03-6214-1090
HP　: https://www.kanto.co.jp

BBz-26（202506）