

MF-start

初代細胞スターティング培地
(Code : TMMFS-001)

取扱説明書

<ご注意>

本製品の使用は研究用に限定されています。ヒトまたは動物への適用及び
臨床診断用への使用は出来ません。

この度は、「MF-start / 初代細胞スターティング培地」をお買い上げ頂きありがとうございます。
皆様の研究・評価試験に有効にお使い頂くためにご使用前に必ず、
本取扱説明書をお読み下さい。

TOYOBO

「MF-start／初代細胞スターティング培地」は組織から分離後の初期増殖に最適になるよう調製した培地で、血清量を 10% 含みます。添付の培地添加剤を加えるだけで簡単に調製ができます。

(1) 本品内容

【MF-start（基礎培地）】

◇容量： 225mL ◇本数： 1本 ◇保存温度： 冷蔵 ◇有効期限： 添付ラベル記載の期限、培地調製後は3週間

【Start Supplement（添加剤）】

◇容量： 25mL ◇本数： 1本 ◇保存温度： 冷凍 ◇有効期間： 到着後、冷凍保存で3ヶ月、冷蔵保存で1週間

(2) 製品の受け入れ

製品が入庫したら直ちに開封し、培地等の液漏れはないか、添加剤の不足・破損はないかご確認下さい。異常がある場合は、直ちに 東洋紡(株)バイオプロダクト営業部(大阪 TEL:06-6348-3786、東京 TEL:03-6887-8819) までご連絡下さい。

(3) MF-start(基礎培地)、Start Supplement(添加剤)の保存

MF-start(基礎培地)は冷蔵保存(4℃)して下さい。Start Supplement(添加剤)は冷凍保存(-20℃)して下さい。また、解凍後は冷蔵保存(4℃)して下さい。

的確な実験を行って頂く為にも添付ラベル、取扱説明書に記載の使用期限を守ってご使用下さい。

(4) 製品概要

① MF-start(基礎培地) 225mL

組織から分離後の初期増殖に必要な各種アミノ酸、ビタミン、及び抗生物質(ペニシリン・ストレプトマイシン)を含みます。冷蔵保存で添付ラベル記載の期限内にご使用下さい。冷凍保存は不可です。

② Start Supplement(添加剤) 25mL

細胞の増殖に必要な増殖因子溶液です。到着後、冷凍保存で3ヶ月以内にご使用下さい。

(5) 調製方法

① 培地添加剤を37℃の恒温槽あるいは室温で解凍します。

② 基礎培地及び培地添加剤の容器を 70% エタノールで拭き、クリーンベンチ内に入れます。以下の操作は無菌的に行います。

③ 下記の容量の培地添加剤を基礎培地に添加します。

内容	希釈率	標準混合容量
MF-start (基礎培地)	---	225mL
Start Supplement (添加剤)	10倍希釈	25mL

④ 穏やかに混合します。

(6) 利用方法

① 細切方法、酵素処理方法などにより組織から目的とする細胞を調製します。

② 分離した細胞、若しくは処理した組織を本培地により培養します。

③ 4～10日間 培地交換せず、本培地で培養します。

④ 細胞がコロニー様に増殖しはじめたら、所定の増殖培地で培地交換を行います。細胞増殖が緩慢なときは引き続きMF-startで培養します。

⑤ 以後、定法に従い細胞培養を行います。

※ 増殖培地としては弊社MF-medium®のご使用をお勧め致します。

(7) 使用例

I. マウス骨髄由来間葉系幹細胞

- ① マウス(C54BL/♂)8週齢を頸椎脱臼屠殺し、エタノール消毒をします。
- ② 大腿部皮膚を切開し、関節部を保持したまま、大腿骨を切り出します。
- ③ 大腿骨をPBSで洗浄し、関節両端を鉗で切り落とします。
- ④ 大腿骨の一方の断端から注射器でDMEMを吹込み、骨髄内の細胞塊(プラグ)をシャーレ内に押し出します。
- ⑤ 細胞塊をピペティングでほぐし、細胞を回収します。
- ⑥ 遠心操作を行い、上清を捨てます。
- ⑦ 細胞沈殿をマウス1匹当たり 5~10mL の **MF-start** で浮遊させ、フラスコに植え込みます。
- ⑧ 4~7日間培地交換せず、そのまま培養を行います。
- ⑨ 細胞がコロニー状に増殖してきたら、適当な増殖培地に交換し、以後定法に従い培養を行います。

II. 脂肪前駆細胞、軟骨細胞

- ① 脂肪組織、或いは軟骨組織を摘出し、シャーレ上でメスを用いて約1mm³の大きさに細切します。
- ② 10~20倍量の 0.1%コラゲナーゼ-DMEM に組織を懸濁させ、50mLファルコンチューブに20~30mL容量になるよう分注します。
- ③ 恒温シェーカーなどで37°Cで約1時間攪拌します。
- ④ 未消化残渣をメッシュやストレーナーで除去した後、遠心操作により細胞を回収します。
- ⑤ 細胞沈殿をDMEMでもう一度洗浄します。
- ⑥ 細胞沈殿を適当量の **MF-start** で浮遊させ、フラスコに植え込みます。
- ⑦ 4~7日間培地交換せず、そのまま培養を行います。
- ⑧ 接着細胞が増殖してきたら、適当な増殖培地に交換し、以後定法に従い培養します。

III. 線維芽細胞

- ① 皮膚組織片を細切します。
- ② シャーレ中央部に 100μL の **MF-start** を滴下し、その中に組織片を入れます。
- ③ 組織片の上に滅菌処理したカバーガラスなどをのせ暫く静置します。
- ④ ガラス周縁部の培地が少し乾きはじめたらガラス片を動かさないようにゆっくり **MF-start** を適当量入れます。
- ⑤ 7~10日間培地交換せず、そのまま培養を行います。
- ⑥ 組織周縁部から細胞が遊走増殖してきたら、カバーガラスをゆっくり外し、適当な増殖培地に交換します。以後定法に従い培養します。

※ 培地添加剤を添加後は、冷蔵保存にて3週間以内にご使用下さい。また、継代等にご使用される場合は、必要量だけを37°Cに保温して使うことをお勧めします。

■ご注意

- ・ **本製品は研究用に限定されています。ヒトまたは動物への適用及び臨床診断用への使用は出来ません。**
- ・ **本製品の使用によって生じたいかなる事故あるいは損害についても弊社では責任を負いかねます。ご了承の上ご使用ください。**

本製品に関してご不明な点、ご質問等ございましたら、Toyoboテクニカルラインまでご連絡下さい。

<連絡先> Tel:06-6348-3888 Fax:06-6348-3833 E-mail:tech_osaka@toyobo.jp

■製造・販売元 東洋紡株式会社

(大阪)バイオプロダクト営業部 〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田一丁目13番1号

大阪梅田ツインタワーズ・サウス

Tel:06-6348-3786 FAX:06-6348-3833

(東京)バイオプロダクト営業部 〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目17番10号 住友商事京橋ビル

Tel:03-6887-8819 FAX:03-6887-8951