

#### 凍結初代細胞製品

# マウス胚性線維芽細胞(MEF)

【Mouse Embryonic Fibroblast, 品番: MEF-01C】

2024年7月1日改訂

本製品は研究目的にのみご使用になれます。

#### I. 製品概要

マウス胚線維芽細胞(MEF)は、ヒトやマウスの ES 細胞や iPS 細胞の培養の際にフィーダー細胞として使用されており、MEF が産生する Activin A などが幹細胞の未分化維持に働いています。

本製品はマウス胎児から採取した繊維芽細胞をマイトマイシン C で分裂抑制処理した細胞で、Activin A の産生を確認しております。iPS 細胞や ES 細胞のフィーダー細胞としてご使用ください。

#### 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、培養開始後の状態不良に関して保証致します。

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	保存方法	有効期限
マウス胚性線維芽細胞 (マイトマイシン C 処理済み)	1×10 <sup>6</sup> cells/vial, 1 本または 10 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。

#### V. 細胞の由来

ICR マウス胎児

# VI. 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
MEF 培養用メディウム	MEF-M	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)
0.1%ゼラチンコート溶液	GEL-01	500 mL	4~25℃保存	ボトル記載

培地の主成分: DMEM、血清、抗生剤、その他

#### VII. 操作方法

※本製品は【継代不可】です。

#### コーティング方法

※培養容器は細胞解凍の前に予めゼラチンでコーティングしてください。

#### 【準備するもの】

- ・培養用 100mm ディッシュ
- ・ゼラチンコート溶液 (別売: 品番 GEL-01)
- 1. ゼラチンコート溶液を培養用 100mm ディッシュ 1 枚あたり 4~5 mL ずつ入れてください。
- 2. ゼラチンコート溶液が入っている培養容器を37℃インキュベーター内で30分以上静置してください。
- 3. 使用直前にディッシュ内のゼラチンコート溶液を除去し使用してください。

### 細胞解凍•播種

- ※下記は、100mm ディッシュで培養する場合のプロトコールになります。
- ※MEF 培養用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】

- ・100mm 培養用ディッシュ (ゼラチンでコーティングしたもの)
- ・MEF 培養用メディウム (別売り:品番 MEF-M)
- ・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、状態を確認しながら37℃温水にて約2分間加温して解凍してください。
- 解凍した細胞液を、MEF 培養用メディウム 10mL を含む 15mL 遠心管へ添加し混合した後、4℃、200xg で 5 分間遠心してください。
- 3. 上清を除去し、MEF 培養用メディウム 10mL で再懸濁し、必要に応じて細胞数をカウントし、細胞密度 を調整してください。
- 4. 細胞懸濁液をゼラチンコートした培養用ディッシュに播種し、5%CO₂存在下の37℃インキュベーターで培養してください。

#### VIII. 技術情報



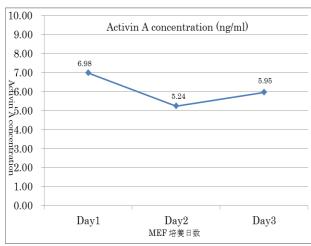


図 1. 播種翌日の MEF 細胞写真

図 2. MEF 培養上清中の Activin A 濃度

# IX. 参考文献

- 1. J Vis Exp. 2012 Jun 21;(64). pii: 3854. doi: 10.3791/3854. Jozefczuk J1, Drews K, Adjaye J. Preparation of mouse embryonic fibroblast cells suitable for culturing human embryonic and induced pluripotent stem cells.
- 2. J Cell Sci. 2005 Oct 1;118(Pt 19):4495-509. Vallier L1, Alexander M, Pedersen RA. Activin/Nodal and FGF pathways cooperate to maintain pluripotency of human embryonic stem cells.
- 3. Int J Dev Biol. 2008;52(4):353-63. Eiselleova L1, Peterkova I, Neradil J, Slaninova I, Hampl A, Dvorak P. Comparative study of mouse and human feeder cells for human embryonic stem cells.