

凍結初代細胞製品

マウス筋芽細胞

【Mouse Skeletal Myoblast, 品番：MYB12C】

2024年7月1日改訂

本製品は研究目的にのみご使用ください

I. 製品概要

本製品は、骨格筋の一つである大臀筋付近の筋肉から筋芽細胞を初代培養（Primary Culture）しています。専用培地で分化誘導することにより筋芽細胞が融合し、徐々に自発的拍動運動を起こす筋繊維を形成いたします。

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アムをご使用下さい。

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、専用メディア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。

保証期限は【製品お受け取りから6ヶ月以内】です。

メディア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	有効期限
マウス筋芽細胞 (凍結細胞)	1×10 ⁶ cells/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

V. 細胞の由来

ICR マウス新生児（2～5日齢）骨格筋由来

VI. 専用メディアム&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
マウス筋芽細胞増殖用 メディアム	MYBGM	125 mL	-20°C保存 (解凍後は4°C保存)	ボトル記載(-20°C保存) 解凍後3ヶ月(4°C保存)
マウス筋芽細胞分化用 メディアム	MYBDM	125 mL	-20°C保存 (解凍後は4°C保存)	ボトル記載(-20°C保存) 解凍後3ヶ月(4°C保存)
コラーゲンコーティング 溶液	SCO	100 mL	4°C	ボトル記載

培地の主成分：DMEM、血清、抗生素、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コラーゲンコーティングを行ってください。

(市販のコラーゲンコーティング済み培養容器でも筋芽細胞の培養は可能です。)

【準備するもの】

- ・培養用 24well プレート
- ・コラーゲンコーティング溶液（品番：SCO）
- ・PBS

1. 使用する培養容器にコラーゲンコート溶液が十分に行き渡る程度加え（24 ウェルプレートの場合 1 ウェル当たり 300~500μL）、1 時間以上（ガラス底ディッシュは一晩）静置後に除去します。
 2. コラーゲンコート溶液を除去し PBS で 2 回洗浄後、PBS を 1 ウェル当たり 0.5mL 加えて 1 時間以上静置してください。
- ※すぐに使用しない場合は PBS を満たした状態のまま、室温で数日間保管可能です。
3. 使用直前に PBS を除去してご使用ください。

細胞解凍・播種

※24well プレートでの培養プロトコルです。

細胞 1 バイアルで、24 ウェルプレートの半分（12 ウェル分）に播種できます。

※筋芽細胞増殖メディウム、筋芽細胞分化用メディウムはご使用前に予め冷蔵で解凍してください。

【準備するもの】

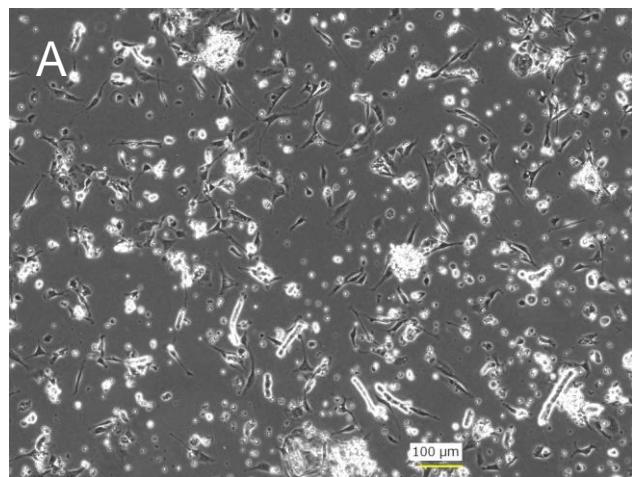
- ・コラーゲンコーティング済みの細胞培養用 24well プレート
- ・筋芽細胞増殖用メディウム（品番：MYBGM）
- ・筋芽細胞分化用メディウム（品番：MYBDM）
- ・滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 解凍した筋芽細胞増殖用メディウム（品番：MYBGM）10 mL を 15 mL 遠沈管へ分注しておきます。
2. 凍結細胞のバイアルを液体窒素から取り出し、37°C温水にて 90~120 秒間程度加温して解凍してください。（小さな氷塊が残る程度）
3. 解凍した細胞液を、1 で用意した筋芽細胞増殖用メディウム 10 mL 入りの 15 mL 遠心管に移し混和した後、4°C、600xg で 5 分間遠心してください。
4. 上清を除去し、筋芽細胞増殖用メディウム（品番：MYBGM）を 6.5mL 加え、細胞浮遊液を調製してください。
5. 細胞懸濁液をコラーゲンコーティング済みの 24well プレートに、1 ウェルあたり 0.5 mL 播種し、5% CO₂ 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、筋芽細胞増殖用メディウムで培地交換（1 ウェル当たり 0.5mL）をおこなってください。
※播種してから 2~4 日後にコンフルエントになります。
7. セミコンフルエント～コンフルエントになったら、筋芽細胞分化用メディウム（品番：MYBDM）に交換し（1 ウェル当たり 0.5mL）、以降 2~3 日おきに培地交換してください。

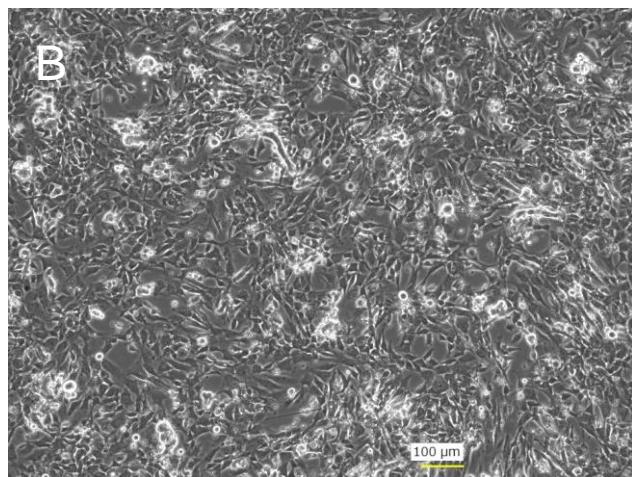
※細胞融合が充分行なわれたところで自発的拍動運動が起こるようになります。この時点まで来ますと、培養底面から剥がれやすくなってしまいます。メディウム交換の際は慎重に行ってください。分化誘導後 10 日前後まで培養は可能です。以降も培養可能ですが、筋肉の動きが激しいためフラスコ底面より剥離する場合があります。実験は分化誘導後 10 日までの間に行なう事をお勧めいたします。

VIII. 技術情報

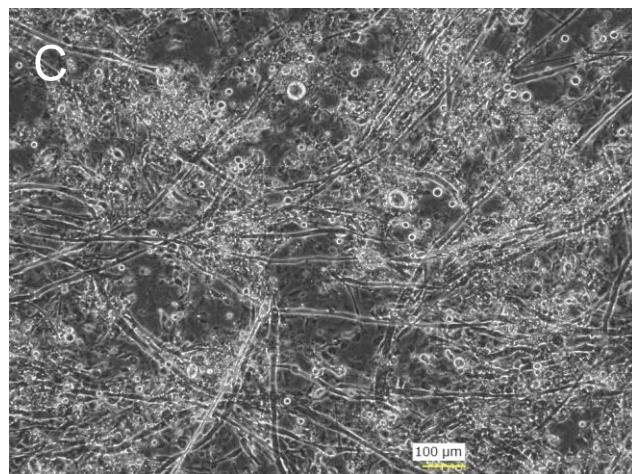
マウス筋芽細胞位相差顕微鏡像



A. 播種翌日



B. 培養 3 日目（増殖用メディアムで培養）



C. 培養 9 日目（増殖用メディアムで 3 日間培養後、分化用メディアムで培養）

IX. 参考文献

- 1) Characteristics of glutamine transport in primary tissue culture of rat skeletal muscle. Labib B. Tadaros, Peter M. Taylor., and Michael J. Rennie. American Physiological Society, E135- 144, (1993)
- 2) Glucose transport in human skeletal Muscle cells in culture. Stimuration by insulin Metaformin. Vivian Saribia, Loretta Lam, Elena Burdett, Lawrence A. Leiter, and Amira Klip. J. Clin. Invest. Vol.90, 1386-1395, (1992).
- 3) Glucose uptake in human and animal muscle cells in culture. Vivian Saribia, Toolsie Ramlal, and Amira Klip. Biochem. Cell Biol. Vol. 68, 536-542, (1989).