



For research use only. Not for clinical diagnosis.

Rat Schwann Cell Line (IFRS1)

[Catalog No. SWN-IFRS1C]

July 1, 2024

I. Product Overview

Schwann cells are the principal glia cells of the peripheral nervous system (PNS) and are involved in several aspects of PNS biology. In addition to providing trophic support for neuronal development and maintenance through the production of cytokines and growth factors, Schwann cells wrap around axons of motor and sensory neurons to create an insulating myelin sheath that aids impulse conductivity. In recent years, Schwann cells have increasingly known for their support to nerve regeneration while their dysfunction may contribute to neurodegenerative diseases such as ALS.

IFRS1s are spontaneously immortalized cell line established from long term culture of rat dorsal root ganglia and peripheral nerves. IFRS1 cells retain many characteristics of mature Schwann cells and are readily propagated in the supplied media. IFRS1 cells can be used to investigate many aspects of neuronal biology including nerve regeneration, neuroprotective mechanisms, and for the development of novel therapeutic approaches to neurological disorders.

II. Precautions Before Use

Please make sure to review this manual before using the product.

Product should be used under [aseptic operation]. The biosafety level is [Level 1].

Please use the dedicated medium sold separately for culturing this product.

III. Product Warranty

We guarantee against growth failure after the start of culture only if cells have been properly stored in liquid nitrogen, and cultured according to the manual using the dedicated medium and reagents.

The warranty period is [within 6 months of receiving the product].

Please note that the warranty does not apply if there have been changes to the medium or the method of use, if re-frozen cells have been used.

IV. Components

Product Name	Size	Quantity	Storage	Expiration
Rat Schwann Cell Line (IFRS1), Cryopreserved	5 x 10 ⁵ cells/vial	1 vial	Liquid nitrogen storage	6 months

*Store frozen cells in liquid nitrogen if not ready for use after receipt.

*Based on the license agreement of Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, IFRS1 cell are prohibited to provide (distribution, lending, transfer, licensing, etc.) to a third party.

V. General Information

Organism	Fischer344 Rat (adult)
Tissue	Dorsal Root Ganglion and Peripheral Nervous System
Cultural Properties	Adherent
Biosafety Level	1
Morphology	Spindle-shaped
Cell Type	Spontaneous Immortalization
Quality Check	Mycoplasma (-), Immunohistochemical reactivity of cell markers

VI. Dedicated Media (Serum Containing Media) (sold separately)

Product Name	Catalog No.	Volume	Storage	Expiration
Schwann Cell (IFRS1) Medium	SWNMR	250ml	-20°C (frozen) 4°C (after thawing)	Labeled on the bottle (when stored at -20 °C) 3 months after thawing (when stored at 4 °C)

VII. Protocols

*This product is available for passage.

[Thawing Protocol]-for 100mm plastic culture dish

Preparation

- 100mm dish for culturing cells
- Medium for the rat Schwann cell line (IFRS1)

1. Thaw vials of frozen cells by warming them in 37°C warm water for 2 minutes.
2. Transfer the thawed cell solution to a 50 mL centrifuge tube containing 10 mL of medium previously returned to room temperature, mix, and collect the cell solution by 1 mL separating the culture medium in the centrifuge tube and co-washing the vials.
3. Transfer cell suspension to 100mm dish (seeding density: approximately 0.9×10^4 cells/cm²). Incubate the plate at 37°C under 5% CO₂

Note: Centrifugation of cells after thawing are not recommended since these actions are more harmful to the cells than the effect of residual cell freezing medium in the culture and cell attachment.

4. Replace the medium with medium warmed to 37°C once the day after seeding, and then 2 to 3 times a week.

*After 3~5 days, IFRS1 cells reach approximately 80~100% confluent.

[Cell passage Protocol]

Preparation

- 70-90% confluent cells
- HBSS(-) or PBS(-)
- 0.05% Trypsin-EDTA
- Medium for the rat Schwann cell line (IFRS1)

1. Remove 70-90% confluent cells from the CO₂ incubator.
2. Aspirate the supernatant, add 10mL/100mm dish of HBSS(-) or PBS(-), and wash the dish.
3. Aspirate HBSS(-) or PBS(-) and add 1 mL/100 mm dish of 0.05% Trypsin-EDTA.
4. Store in a 37°C CO₂ incubator for about 3 to 4 minutes.
*Since trypsin damages cells, observe the degree of detachment under a microscope, and immediately proceed to the next treatment once almost all the cells have detached.
5. Add 10mL of medium warmed to 37°C
6. Pipette gently and collect the cell suspension in a 50mL centrifuge tube.
7. Centrifuge the cell suspension at 200 ×g for 5 minutes at 4°C, centrifuge, and aspirate the supernatant.
8. Add 10ml of media and gently pipet it to suspend the cell again.
9. Mix the cell suspension and medium in a ratio of 1:3 to 1:4 and seed it in a new culture vessel.
10. 1Incubate in a 37°C incubator in the presence of 5% CO₂. Passage should be performed in the same manner with cells semi-confluent (see Figure 1, C).

[Freezing Cells Protocol]

1. Cell passage protocols 1 to 6 are performed.
2. Centrifuge at 4°C for 5 minutes at 200 ×g, remove the supernatant, add COS banker (KOJ, Cat No. COS-CFM01) to 1×10⁶ cells/mL and suspend.
3. Dispense 1 mL/tube into cryopreservation tubes, and cryopreserve at -80°C by using cell freezing containers (BM-instrument, Cat No. BCS-136 or equivalent products).
4. Store at -80°C for 1 day or more. Transfer to liquid nitrogen.

VIII. Technical information

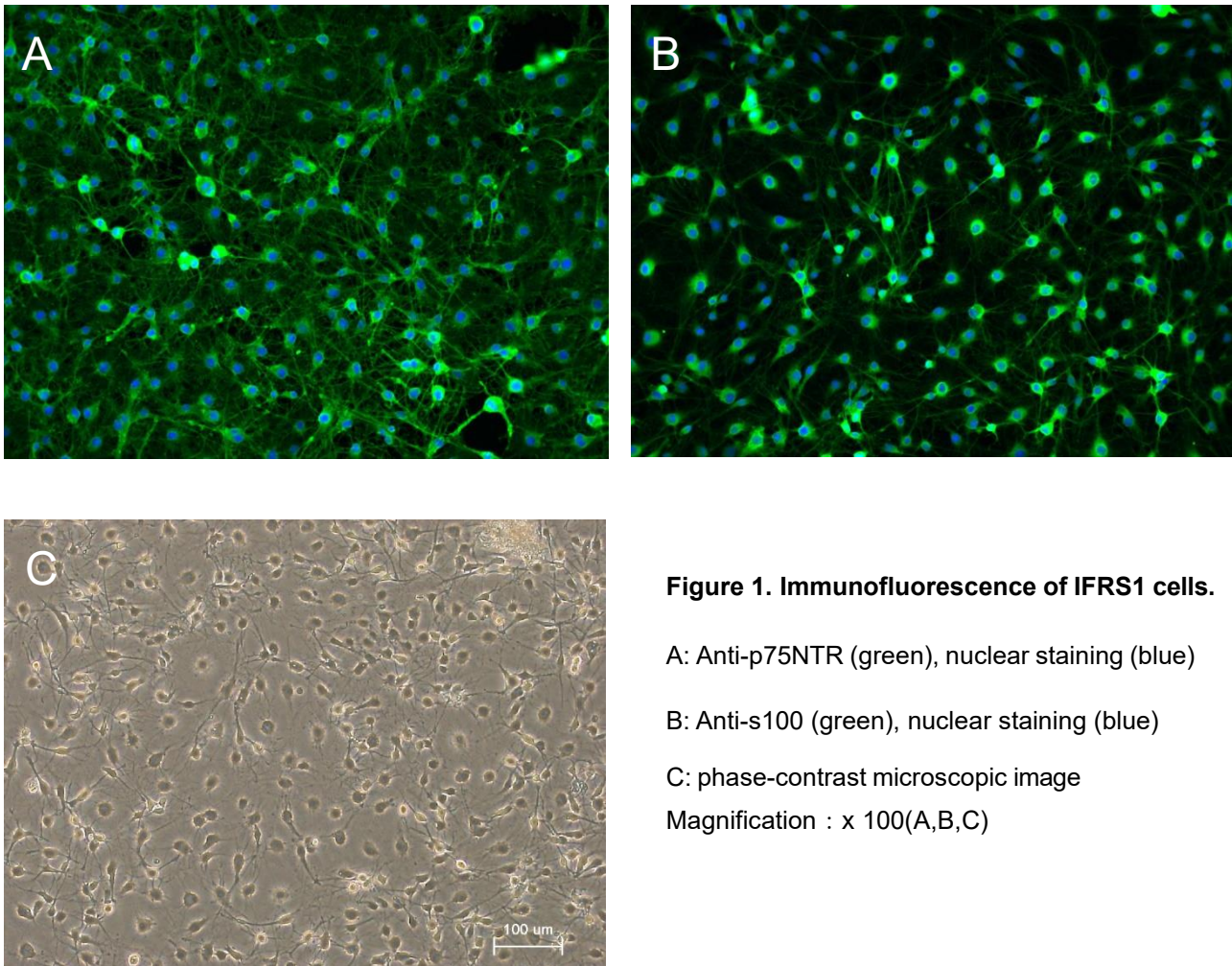


Figure 1. Immunofluorescence of IFRS1 cells.

A: Anti-p75NTR (green), nuclear staining (blue)

B: Anti-s100 (green), nuclear staining (blue)

C: phase-contrast microscopic image

Magnification : x 100(A,B,C)

IX. References

- 1) Watabe K, Fukuda T, Tanaka J, et al. Spontaneously immortalized adult mouse Schwann cells secrete autocrine and paracrine growth-promoting activities. *J Neurosci Res.* 1995;41:279-290.
- 2) Watabe K, Sakamoto T, Kawazoe Y, Michikawa M, Miyamoto K, Yamamura T, Saya H, Araki N. Tissue culture methods to study neurological disorders: Establishment of immortalized Schwann cells from murine disease models. *Neuropathology* 2003;23:64-74.

凍結株化細胞製品

ラットシュワン細胞株 (IFRS1)

【 Rat Schwann Cell Line(IFRS1), 品番 : SWN-IFRS1C 】

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

シュワン細胞とは、末梢神経の軸索を取り囲む髄鞘を形成・維持する細胞であるとともに、運動・感覚ニューロンの維持に重要なサイトカイン等を産生しています。加えて近年、神経損傷後の軸索再生過程において、シュワン細胞が軸索の誘導や修復等に主要な役割を担っていることが明らかとなってきました。また、シュワン細胞の異常は筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の原因因子として注目されています。

IFRS1 は、成熟 Fischer344 ラットの後根神経節及び末梢神経組織より樹立された不死化細胞株で、シュワン細胞の各種マーカー及び神経細胞の神経突起伸長の促進等、成熟シュワンの生理・生化学的特徴の多くを有しています。神経再生や脱髄疾患等、神経研究にご活用ください。

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
ラットシュワン細胞株 IFRS1 (凍結細胞)	5×10 ⁵ 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

※本製品に関し、公益財団法人 東京都医学総合研究所とのライセンス契約に基づき、自己の研究目的にのみ使用し、細胞の第三者への提供（分配、貸与、譲渡、使用許可等）を禁止します。

V. 細胞の由来

ラット後根神経節及び末梢神経組織由来 (Fischer 344 adult)

VI. 専用メディアム(別売)

品名	品番	容量	保存方法	有効期限
ラットシュワン細胞株 (IFRS1) 用メディアム	SWNMR	250 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)

培地の主成分：DMEM、血清、抗生剤、その他

VII. 操作方法

※本製品は【継代可能】です。

細胞解凍・播種

※下記は、100 mm dish 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】

- ・細胞培養用 100mm dish
- ・ラットシュワン細胞株 (IFRS1) 用メディウム

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、予め室温に戻したメディウム 10 mL が入っている 50 mL 遠沈管に移し混和した後、遠沈管内の培養メディウムを 1 mL 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. 細胞懸濁液を全量、細胞培養用 100mm dish (播種密度：約 0.9×10^4 cells/cm²) に播種し、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。

※解凍後の遠心洗浄による細胞へのダメージは、細胞凍結液の残存によるダメージよりも大きく、細胞の接着や増殖が悪くなる場合がありますので、遠心洗浄を行わないで播種されることをお勧め致します。

4. 培地交換は 37°Cに加温したメディウムを用いて、播種後翌日に1回、その後は1週間に2、3回の頻度でおこなってください。

※播種してから 3~5 日後に 80~100%コンフルエントになります。

細胞継代

【準備するもの】

- ・70~90%コンフルエントになった細胞
- ・HBSS(-)もしくはPBS(-)
- ・0.05%Trypsin-EDTA
- ・ラットシュワン細胞株 (IFRS1) 用メディウム

1. 70~90%コンフルエントになった細胞を CO₂ 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 10mL/100mm dish 添加し、ディッシュを洗浄して下さい。
3. HBSS(-)もしくはPBS(-)を吸引除去し、0.05%Trypsin-EDTA を 1mL//100mm dish で添加して下さい。
4. 37°Cの CO₂ インキュベーターに約3~4分静置します

※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して下さい。

5. 37°Cに加温したメディウムを 10mL 添加して下さい。
6. 穏やかにピペッティングを行った後、細胞懸濁液を 50mL 遠沈管に回収して下さい。
7. 細胞懸濁液を 4°C、200 ×g で5分間遠心し、遠心後上清を吸引除去して下さい。
8. メディウムを 10mL 添加し、穏やかにピペッティングして再度細胞を懸濁させて下さい。
9. 細胞懸濁液とメディウムを 1 : 3~1 : 4 の割合で混合し、新しい培養容器に播種して下さい。
10. 5%CO₂ 存在下の 37°Cインキュベーターで培養して下さい。細胞がセミコンフルエントになった状態 (参照：図1、C) で同様に継代を行ってください。

凍結ストックの調製

1. 細胞継代方法の1~6を行います。
2. 4°C、200 ×g、5分間遠心後、上清を除去し、COS banker(KOJ、品番：COS-CFM01) を 1×10^6 cells/mL になる様に加えて懸濁します。
3. 凍結保存用チューブに 1mL/チューブで分注し、細胞凍結用コンテナ(BM 機器、品番：BCS-136 または 同等品)を用いて-80°Cで凍結保存します。
4. 1日以上-80°Cにて静置後、液体窒素中に移して下さい。

VIII. 技術情報

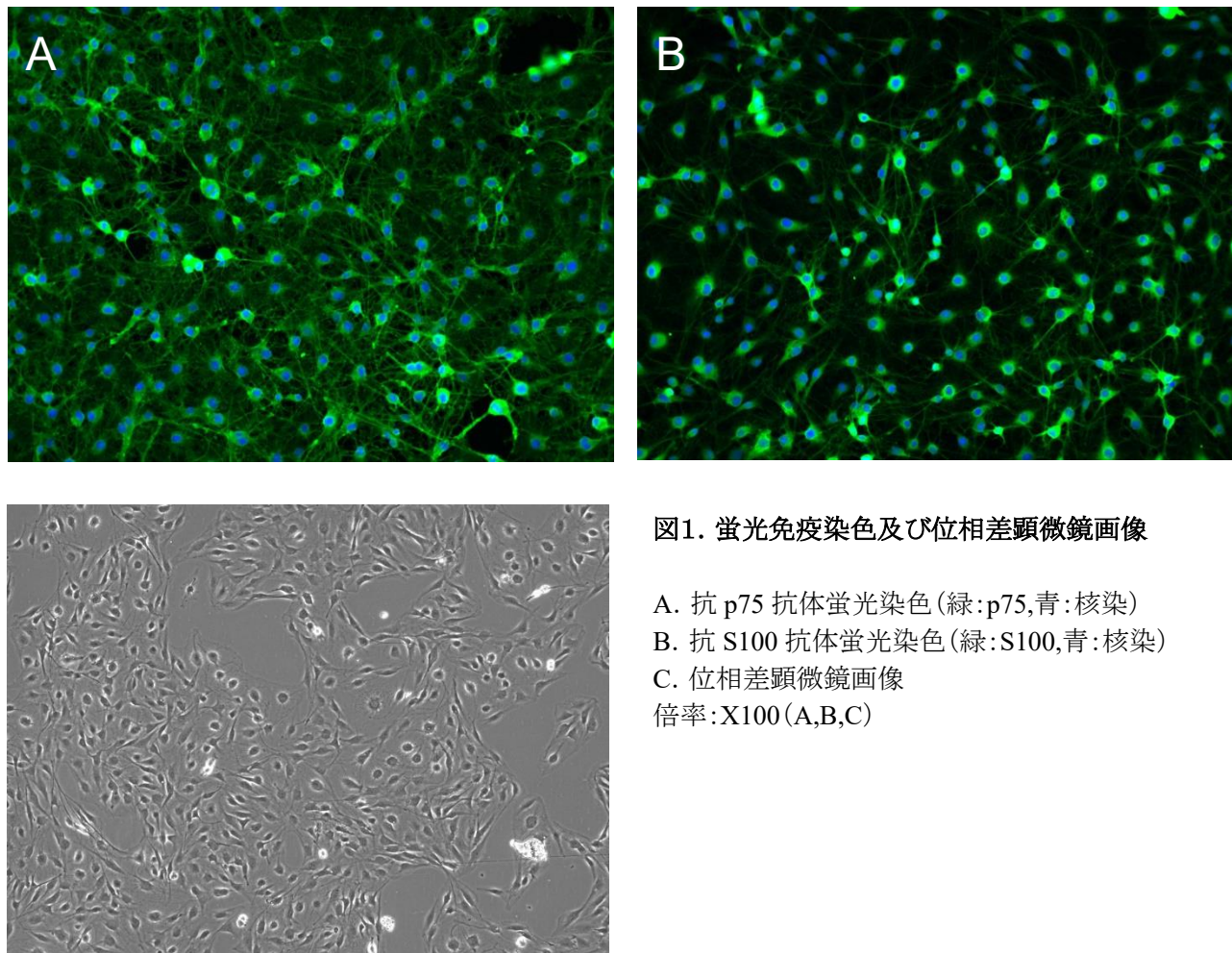


図1. 蛍光免疫染色及び位相差顕微鏡画像

- A. 抗 p75 抗体蛍光染色 (緑:p75,青:核染)
B. 抗 S100 抗体蛍光染色 (緑:S100,青:核染)
C. 位相差顕微鏡画像
倍率:X100(A,B,C)

IX. 参考文献

- 1) Watabe K, Fukuda T, Tanaka J, et al. Spontaneously immortalized adult mouse Schwann cells secrete autocrine and paracrine growth-promoting activities. *J Neurosci Res.* 1995;41:279-290.
- 2) Watabe K, Sakamoto T, Kawazoe Y, Michikawa M, Miyamoto K, Yamamura T, Saya H, Araki N. Tissue culture methods to study neurological disorders: Establishment of immortalized Schwann cells from murine disease models. *Neuropathology* 2003;23:64-74.