

取扱説明書

フィーダー細胞（SL10）

品番：RCHEFC001

概要

この取扱い説明書は、SL10 細胞株の解凍と播種方法についての説明となります。

製品について

本品は研究用ですので、治療・診断目的には使用しないでください。また、本品を当社からの許可なしに第三者への販売や商業目的に使用することを禁じます。

保存方法

本製品はドライアイスに梱包された状態で輸送されます。温度変化に非常に敏感なため、到着後すみやかに液体窒素に移してください。その際、温度変化の大きいドア付近で保管しないでください。

特長

- ・ ヒト ES/iPS 細胞、マウス ES 細胞のフィーダー細胞としてお使いいただけます。
- ・ ネオマイシン耐性です。
- ・ マイトマイシン C 処理済みですので、解凍後すぐにフィーダー細胞として使用できます。
- ・ ヒト iPS 細胞株（Takahashi, K., et al., *Cell*, 131, 861-72, 2007）でロット試験済みです。

本製品をご使用の際は以下の点にご注意ください。

- ・ 2 本以上のバイアルを同時に解凍しないでください。
- ・ 遠心条件（170 × g、5 分間、室温）は厳守してください。
- ・ ご使用の細胞株によって、適切な細胞密度が異なる場合がございます。
- ・ ReproNaive™をご使用の際には、播種密度と培養期間が異なりますので ReproNaive™のマニュアルをご確認ください。

目次

- ・ 本製品と別途ご準備いただく試薬類
- ・ SL10 細胞株の解凍と播種プロトコル
 - ディッシュ/プレートのコーティング（細胞播種前日）
 - 培地調製
 - 細胞の解凍
 - 播種翌日の培養例
- ・ 関連製品

本製品

製品	Cat. No.	容量	保管方法
SL10 フィーダー 細胞	RCHEFC001	3x10 ⁶ cell per vial (5 vials)	液体窒素

別途ご準備いただく試薬類

製品	Cat. No.	容量	保管方法
DMEM-high glucose	Sigma, Cat.D5796	500 mL	4℃
Fetal bovine serum (FBS)	GIBCO, Cat.10437	500 mL	4℃
Sodium Pyruvate	Sigma, Cat.S8636	100 mL	4℃
ReproCoat	ReproCELL, Cat.RCHEOT001	500 mL	室温
その他培養操作に通常必要なもの			

SL10 細胞株の解凍と播種プロトコル

ディッシュ/プレートのコーティング（細胞播種前日）

- 細胞培養用ディッシュあるいはプレートに ReproCoat を適量加え（表 1 参照）、37℃ CO₂ インキュベーターで 8 時間以上インキュベートします。

表 1 ディッシュ/プレートと必要な ReproCoat 量

ディッシュ/プレートのサイズ	ReproCoat の分量
24-well	0.3 mL
12-well	0.5 mL
6-well/35 mm	1 mL
60 mm	3 mL
100 mm	5 mL

培地の調製

- DMEM に FBS を 10% 濃度および Sodium pyruvate を 1 mM となるように添加します（以下、SL10 培地）。

細胞の解凍

- 調製済の SL10 培地を 50 mL チューブに 9 mL 分注し、37℃ に加温し（チューブ A）、安全キャビネット内に移します。
- 同様にもう一本の 50 mL チューブに SL10 培地を 40 mL 分注し、37℃ に加温し（チューブ B）、安全キャビネット内に移します。
- ドライアイスペレットを入れたアイスボックスを準備します。
- 凍結細胞バイアル 1 本（バイアル）を液体窒素から取り出し、直ちにドライアイスペレットの内部に埋め込み、ウォーターバスの近くまで持ってきます。

注 1. 2 本以上のバイアルを同時に解凍しないでください。

- バイアルをドライアイスペレットから取り出し、直ちにウォーターバスで加温します。円を描くように揺すりながら 90 秒間加温後、ウォーターバスから取り出して安全キャビネットに移します。
- バイアルに付着した水滴をふき取った後に、バイアル内の細胞全量を手順 1 で用意したチューブ A に直接、デカンテーションで素早く移します。
- バイアルに付着した細胞を回収するために、チューブ A の SL10 培地 1 mL を空になったバイアルに加えてバイアルを洗い、チューブ A に戻します。
- チューブ A を 170 × g で 5 分間（室温）遠心します。
- 遠心が終了したらチューブ A を安全キャビネットに移します。細胞ペレットを吸引しないように培地上清をアスピレーター

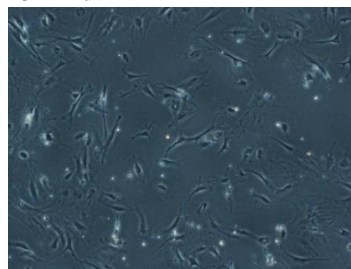
- で注意深く取り除きます。
- チューブ B から 10 mL の SL10 培地をチューブ A に加えて十分に懸濁させます。
 - 細胞数をカウントします。カウント後は 1.5×10^5 cells/mL になるように SL10 培地をチューブ B からチューブ A へ移し、懸濁液量を調整します。チューブ B に余った SL10 培地は次回に利用してください。
 - コーティングしたディッシュ/プレートから ReproCoat を除き、培養器のサイズに合わせて細胞懸濁液を加えます（表 2 参照）。
- 注 3.** ご使用の細胞株によって、適切な細胞密度が異なる場合がございます。
- 注 4.** ReproNaive™ をご使用の際には、播種密度が異なりますので ReproNaive™ のマニュアルをご参考ください。
- 37℃、5%CO₂ インキュベーターに SL10 を播種したディッシュ/プレートを入れ、ディッシュを揺らし細胞を均等にしたら、一晩培養します。
 - 翌日からフィーダー細胞として使用できます。すぐに使用しない場合は、37℃、5%CO₂ インキュベーターで静置し、4 日以内に使用して下さい。
- 注 5.** 播種後 5 日以上経過したフィーダー細胞は、ヒト ES/iPS 細胞の未分化能を十分に維持できない場合がありますので、使用しないでください。
- 注 6.** ReproNaive™ をご使用の際には、培養期間が異なりますので ReproNaive™ のマニュアルをご参考ください。

表 2 ディッシュ/プレートとフィーダー細胞懸濁液量
(懸濁液: 1.5×10^5 cells/mL の場合)

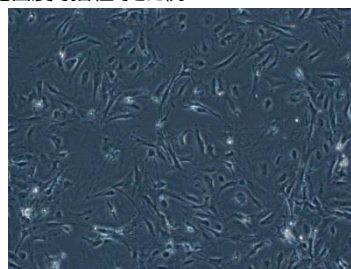
ディッシュ/プレートのサイズ	細胞懸濁液の分量
24-well	0.3 mL
12-well	0.6 mL
6-well/35 mm	1.6 mL
60 mm	4 mL
100 mm	11 mL

播種翌日の培養例

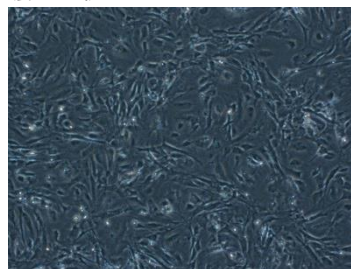
播種密度が薄すぎる例



適切な細胞密度で播種できた例



播種密度が濃すぎる例



注 7. 上記播種密度は、ヒト iPS 細胞株 201B7 を培養する場合の例になります。ご使用の細胞株によって適切な細胞密度が異なる場合がございますのでご注意ください。

関連製品

RCHEMD001	Primate ES Cell Medium
RCHEMD005	ReproStem
RCHEMD008	ReproNaive™
RCHETP002	Dissociation Solution for human ES/iPS Cells
RCHEOT001	ReproCoat
RCHEOT002	FGF-2 (25 ug)
RCHEOT003	FGF-2 (250 ug)
RCHEFC003	Feeder Cells (MEF)

株式会社リプロセル

<https://www.reprocell.com>

E-mail: info_jp@reprocell.com