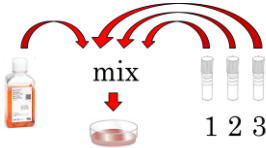
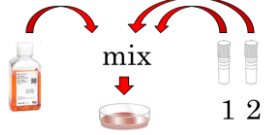


**重要! Cellartis® DEF-CS™ Culture System ご使用上の注意**

■ **本製品のご使用前に、Cellartis® DEF-CS™ Culture System User Manual (製品コード; Y30010/20) [以下、標準プロトコール]を必ずご覧下さい。**

■ **DEF-CS Basal medium への Cellartis DEF-CS 500 Additives の添加に当たっての注意点**

- ・ 「細胞の継代時」や「凍結細胞の融解時」において、DEF-CS Basal medium に DEF-CS GF-1, 2, 3 を必要量添加して下さい (標準プロトコール p5, VIII. A をご覧下さい)。
- ・ 「培地交換時」においては、DEF-CS Basal medium に DEF-CS GF-1, 2 を必要量添加して下さい。GF-3 は添加する必要がありません (標準プロトコール p6, VIII. B をご覧下さい)。

培地の使用用途	Basal mediumへの添加 (○; 有 / ×; 無)			
	GF-1	GF-2	GF-3	
培養細胞の継代 凍結細胞の融解	○	○	○	
培地交換	○	○	×	

■ **Cellartis DEF-CS COAT-1 によるコーティング剤調製に当たっての注意点**

- ・ 必ず、Ca イオン及び Mg イオン含有の D-PBS (+/+)を用いて、Cellartis DEF-CS COAT-1 を 20 倍希釈して下さい。D-PBS (+/+)は、Dulbecco's PBS (製品コード; C-40230) を推奨します。

D-PBS (+/+)	10 mL	30 mL	100 mL
DEF-CS COAT-1 (1/20 量添加)	0.5 mL	1.5 mL	5 mL

D-PBSの使用用途	D-PBS (+/+) or D-PBS (-/-)
コーティング剤の調製	D-PBS (+/+)
細胞の継代培養	D-PBS (-/-)

(裏面に続く)

- On-Feeder や Feeder-Free などの他の培養系より回収した hiPS/hES 細胞、あるいは、凍結 hiPS/hES 細胞より直接、Cellartis DEF-CS 培養系への移行が可能です。移行にあたっての注意点については、以下をご覧ください。

#### A) 他の培養系で培養中の hiPS/hES 細胞を移行する場合

- ・ Cellartis DEF-CS 培養系への移行に使用する細胞は、他の培養系で用いていたものと同じ方法（継代時期や剥離方法）に従い回収して下さい。
- ・ 他培養系にて培養中の細胞全量を培養器材から剥離し回収した後、その全量を Cellartis DEF-CS 完全培地（※1）へ播種して下さい。この時、細胞回収前と同じ培養面積の培養器材に植え継いで下さい（※2）。
  - ※1. DEF-CS Basal Medium に DEF-CS GF-1, 2, 3 を必要量添加したもの。
  - ※2. 例： 6 ウェルプレート 1 ウェル ⇒ 6 ウェルプレート 1 ウェル へ移行。
  - ※2. 標準プロトコルで推奨の継代時細胞密度（ $4.0 \sim 5.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>）にて細胞を播種することで、良好な結果が得られる場合があります。
- ・ 移行に用いる細胞はコロニー、クラスター、シングルセルのいずれの形態も利用可能です。
- ・ Cellartis DEF-CS 培養系に移行後は、次の継代時点から、DEF-CS 培養系の標準プロトコルに従い培養を継続して下さい。

#### B) hiPS/hES 凍結細胞から移行する場合

- ・ DEF-CS 培養系の標準プロトコルに従って細胞を融解し、培養を実施して下さい。

#### C) その他、移行時の注意点

- ・ 培養系移行時の継代は、標準プロトコル（1/20 希釈）よりも高濃度（1/5 希釈）の Cellartis DEF-CS COAT-1 にて培養器材をコートすることで、生着率を改善できる場合があります。
- ・ Cellartis DEF-CS 培養系にて継代を行う場合には、標準プロトコルで推奨の細胞密度（ $4.0 \sim 5.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>）にて細胞を播種してください。ただし、培養系の移行時、あるいは、移行直後の数継代は、これよりも高い細胞密度（例： $8.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>で播種など）で継代することで、良好な結果が得られる場合があります。
- ・ 培養系の移行直後は、細胞増殖速度が低下する場合があります。このような場合は、次回継代に最適な細胞密度（ $1.5 \sim 2.0 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>）（※3）に到達するまで培養期間を 3 ～ 7 日間の間で調整してください。ただし、7 日間培養後も最適な細胞密度に到達しない場合には、培養 7 日目での継代実施を推奨いたします。
  - ※3. 継代に最適な細胞密度にある細胞の顕微鏡像は、標準プロトコル p10 ～ 11（Figure 3, 4）でご確認下さい。