

**FUJIFILM****Wako**

Code No. 053-09451

## EV-Up™ EV Production Basal Medium for MSC, AF

EV-Up™ EV Production Basal Medium for MSC, AF is a serum-free and animal component-free medium for the production of extracellular vesicles (EV) with high bioactivity while maintaining the viability of mesenchymal stem cells (MSC). This medium is available for MSCs derived from various tissue sources (bone marrow, umbilical cord, adipose tissue etc.) regardless of the type of growth medium.

To ensure the best performance, mix this medium well with EV-Up™ MSC EV Production Supplement, AF (code No. 298-84001)\*.

This product is for laboratory research use only.

\* EV-Up™ MSC EV Production Supplement, AF contains MSC supplement A and B.

### [Procedures]

〈Preparation of complete medium〉

1. Thaw Supplement A and B at 2-10°C or room temperature.  
*NOTE : Do not thaw the supplements at 37°C . Supplement A may develop a white precipitate after thawing. Please use after completely dissolving the precipitate with a vortex mixer etc.*
2. Add all of thawed Supplement A and B to EV-Up™ MSC EV production basal medium and mix gently to prepare complete medium (EV-Up™ MSC EV production medium).  
*NOTE : Store the complete medium at 2-10°C in the dark and use within a month. Avoid freezing.*
3. Bring the EV-Up™ MSC EV production medium to room temperature before use.  
*NOTE : Do not use a water bath.*

〈Example : Culturing MSC with EV-Up™ MSC EV production medium〉

1. Prepare the 80-90% confluent MSCs.
2. Aspirate the culture medium, and rinse the MSCs once with D-PBS(-).
3. Remove D-PBS(-), and replace with EV-Up™ MSC EV production medium.

Culture container	EV-Up™ MSC EV production medium (mL)
6 well-plate	4
T25 flask	10
T75 flask	30
T150 flask	60

4. Incubate at 37°C with 5% CO<sub>2</sub> for 3-5 days.  
*NOTE : No need to change medium.*
5. After incubating for 3-5 days, collect the culture supernatant into a centrifugal tube.

— 1/4 —

6. Centrifuge at 2,000×g at 4°C for 20 minutes.
7. Collect the culture supernatant into a new tube after centrifugation. Be careful not to aspirate the residue.  
*NOTE : Add the 1/100 amount of EV-Save™ Extracellular Vesicle Blocking Reagent (code No. 058-09261) in the culture supernatant, it can suppress the adsorption of EVs to the tubes and tips.*
8. Isolate the EVs from the culture supernatant using MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS (code No. 293-77601) etc.

### [Storage]

Store at 2-10°C.

### [Package]

Code No.	Packaging
053-09451	95 mL

### [Related reagents]

Code No.	Product name
298-84001	EV-Up™ MSC EV Production Supplement, AF
058-09261	EV-Save™ Extracellular Vesicle Blocking Reagent
293-77601	MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS

## FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan  
 Telephone : + 81-6-6203-3741  
 Facsimile : + 81-6-6201-5964  
<http://www.wako-chem.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road  
 Richmond, VA 23237  
 U.S.A.  
 Telephone : + 1-804-271-7677  
 Facsimile : + 1-804-271-7791  
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggenstrasse 12  
 D-41468 Neuss  
 Germany  
 Telephone : + 49-2131-311-0  
 Facsimile : + 49-2131-311100  
<http://www.wako-chemicals.de>

— 2/4 —

コードNo. 053-09451

## EV-Up™ MSC EV 産生用基礎培地, AF

EV-Up™ MSC EV 産生用基礎培地, AF は、間葉系幹細胞 (MSC) の生存率を維持しながら高活性の細胞外小胞 (EV) を産生させることができる無血清、動物由来成分不含の液体培地です。増殖培地の種類を問わず、さまざまな組織 (骨髄、臍帯、脂肪など) 由来の MSC にご使用いただけます。

本品は必ず EV-Up™ MSC EV 産生用サプリメント, AF (コード No. 298-84001)\* と良く混合してお使い下さい。本品は研究用試薬です。

\* EV-Up™ MSC EV 産生用サプリメント, AF は MSC サプリメント A と B を含むキットです。

### 【操作】

〈完全培地の準備〉

1. MSC サプリメント A および B を使用直前に冷蔵、もしくは室温にて融解して下さい。

注：37℃で融解しないで下さい。Supplement A は融解後白色の沈殿が生じることがあります。ボルテックスミキサー等で完全に溶解後ご使用下さい。

2. 融解後の MSC サプリメント A および B の全量を EV-Up™ MSC EV 産生用基礎培地, AF に添加し、ゆっくりとよく混ぜ完全培地を調製して下さい (以下 EV-Up™ MSC EV production medium)。

注：EV-Up™ MSC EV production medium は 2～10℃の暗所で保存し、1 カ月以内にご使用下さい。凍結は避けて下さい。

3. EV-Up™ MSC EV production medium は使用前に室温に戻して下さい。

注：温浴槽は使用しないで下さい。

〈EV-Up™ MSC EV production medium を用いた培養例〉

1. 80-90%コンフルエントの MSC を準備して下さい。

2. 培地を除去し、細胞を D-PBS(-) で一度洗浄して下さい。

3. D-PBS(-) を除去し、EV-Up™ MSC EV production medium に培地交換をして下さい。

培養容器	EV-Up™ MSC EV production medium培地量(mL)
6 well-plate	4
T25 flask	10
T75 flask	30
T150 flask	60

4. 37℃、5%CO<sub>2</sub> インキュベーターで 3～5 日培養する。

注：培地交換は必要ありません。

5. 3～5 日培養後、培養上清を遠心用チューブへ回収して下さい。

6. 2000×g、4℃で 20 分間遠心して下さい。

7. 遠心後、残渣を吸わないように培養上清を新しいチューブへ回収して下さい。

注：培養上清の 1/100 量の EV-Save™ 細胞外小胞ブロッキング試薬 (コード No. 058-09261) を添加することでチューブやチップ等への EV の吸着を抑制することができます。

8. MagCapture™ エクソソームアイソレーションキット PS (コー

ド No. 293-77601) などを使って培養上清から EV を精製して下さい。

### 【保存条件】

2～10℃

### 【包装】

Code No.	包装
053-09451	95mL

### 【関連製品】

Code No.	製品名
298-84001	EV-Up™ MSC EV 産生用サプリメント, AF
058-09261	EV-Save™ 細胞外小胞ブロッキング試薬
293-77601	MagCapture™ エクソソームアイソレーションキット PS

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

大阪市中央区道修町三丁目1番2号

Tel : 06-6203-3741