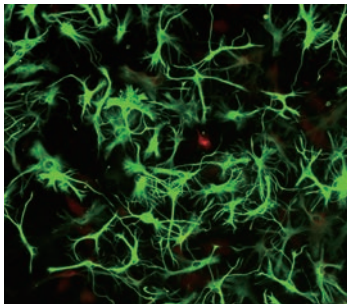
Cellartis® 幹細胞研究用製品ガイド

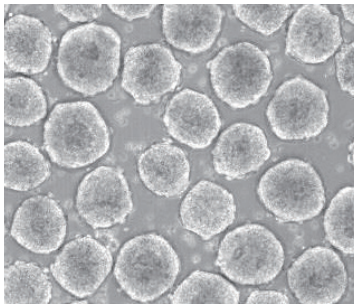
～ 培地・分化誘導キット ～

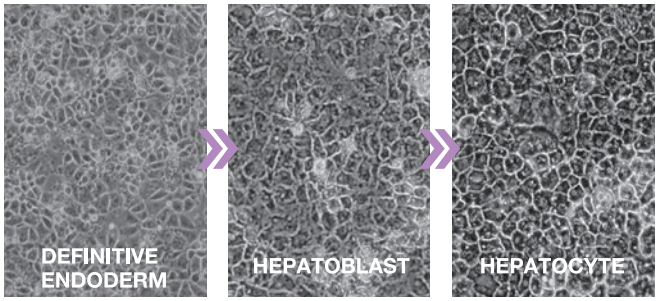
2018年4月版

基礎研究から創薬スクリーニング・再生医療応用に

- 幹細胞培養用培地（ヒト、マウス、ラット）
- 胚体内胚葉、肝細胞分化誘導キット
- 初代肝細胞用培地
- 間葉系幹細胞用培地
- 神経分化用培地・神経幹細胞
- 細胞関連抗体







Clontech TaKaRa cellartis

Cellartisは、幹細胞の基礎研究から応用までを支援する タカラバイオのブランドです。

タカラバイオでは、幹細胞の基礎研究から分化細胞応用に至るまで、様々な場面に適したツールをご用意しています。

幹細胞の基礎研究に・・・

ヒトiPS／ES細胞をフィーダーフリー培養条件下で未分化状態を維持したまま培養できる【Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture System】やヒト間葉系幹細胞用Xeno-Free培地【Cellartis® MSC Xeno-Free Culture Medium】、マウスES細胞用培地【iSTEM™】・【GS2-M®】などがおススメです。また【NDiff® 227】のヒトナイーブ型iPS／ES細胞への利用も注目されています。

分化誘導研究に・・・

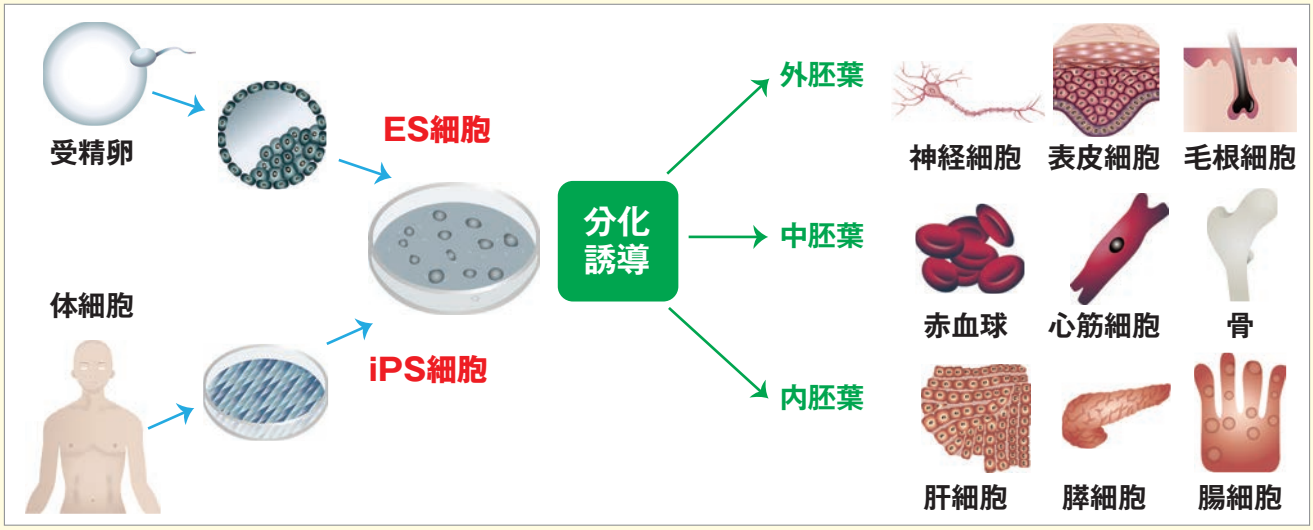
多能性幹細胞から胚体内胚葉（DE）細胞、肝細胞への分化誘導を楽に進めることができる【Cellartis® iPS Cell to Hepatocyte Differentiation System】や、神経幹細胞の維持や神経分化に適した【RHB-A®】などの完全合成無血清培地をラインナップしています。

再生医療や疾患の研究、創薬スクリーニングに・・・

ロット間差が少なく高品質な、ヒトiPS細胞由来の**肝細胞、膵β細胞**などを提供しています。

本カタログでは、数多くのCellartis製品のうち、培地および分化誘導キットについてご紹介します。

iPS細胞誘導から分化細胞応用までの実験フロー



誘 導 → **増殖維持** → **分 化** → **分化細胞応用**

- ヒトiPS細胞株
- ヒトES細胞由来間葉系前駆細胞
- 幹細胞培養用培地
- 初代肝細胞培養用培地
- 内胚葉細胞・肝細胞分化誘導キット
- 神経細胞分化用培地
- 神経幹細胞＆培地キット
- 培地添加剤
- ヒトiPS細胞由来分化細胞
  - ・肝細胞　・膵β細胞
  - ・心筋細胞　・血管内皮細胞
- 抗体

幹細胞／初代細胞用培地　選択ガイド

● ヒトiPS／ES細胞用培地【DEF-CS™】

製　品　名	製品コード	特長・用途	キット内容	掲載ページ
Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture System	Y30010	スタンダードタイプ	基本培地 培地添加剤 コーティング剤	p.3 - 4
Cellartis® iPSC Single-Cell Cloning DEF-CS™ Culture Media Kit	Y30021	ゲノム編集／シングルセルクローニング用に最適化（※）	基本培地 培地添加剤 コーティング剤	p.9 - 10
Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free Culture Medium w/o antibiotics	Y30045	Xeno-Freeタイプ 前臨床での使用に最適	基本培地 培地添加剤	p.11
Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free GMP Grade Basal Medium	Y30071	Xeno-FreeタイプのGMP grade品	基本培地	p.12
Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free 3D Spheroid Culture Medium w/o antibiotics	Y30047	Xeno-Freeの3Dスフェロイド培養用。培養のスケールアップに有用	基本培地 培地添加剤	p.12

※スタンダードタイプ（製品コード Y30010）と比較して、シングルセルクローニングに合わせて COAT-1 の仕様・容量および GF-3 の容量を最適化しています。

● マウス・ラットES／iPS細胞用培地

製　品　名	製品コード	動物種	細胞種*	掲載ページ
GS2-M®	Y40030	マウス・ヒト	ES、iPS	p.15
GS1-R™	Y40020	ラット	ES、EG	p.15
iSTEM™	Y40010	マウス	ES	p.16

● ナイーブ型iPS細胞研究用培地

製　品　名	製品コード	動物種	細胞種*	掲載ページ
NDiff® 227	Y40002	ヒト・マウス	ヒト ナイーブ型iPS、マウスES	p.17

● 体性幹細胞用維持培地

製　品　名	製品コード	動物種	細胞種*	掲載ページ
Cellartis® MSC Xeno-Free Culture Medium	Y50200	ヒト	MSC	p.18
RHB-A®	Y40001	マウス・ヒト	NS	p.19

● 神経分化用培地・添加剤

製　品　名	製品コード	動物種	細胞種*	掲載ページ
RHB-Basal™	Y40000	マウス・ヒト	NS	p.20
NDiff® N2	Y40100	ヒト・マウス	ES、NS	p.20
NDiff® N2-AF	Y40110	ヒト・マウス	ES、NS	p.20

● 肝細胞分化誘導キット・初代肝細胞長期維持培地

製　品　名	製品コード	特長・用途	掲載ページ
Cellartis® iPS Cell to Hepatocyte Differentiation System	Y30055	iPS細胞から肝細胞への分化誘導キット	p.21 - 23
Cellartis® Definitive Endoderm Differentiation Kit with DEF-CS™ Culture System	Y30035	iPS細胞から胚体内胚葉（DE）細胞への分化誘導キット	p.21 - 23
Cellartis® Hepatocyte Differentiation Kit	Y30050	DE細胞から肝細胞への分化誘導キット	p.21 - 23
Cellartis® Power™ Primary HEP Medium	Y20020	ヒト初代肝細胞の長期維持培養	p.24 - 25

*ES：embryonic stem　iPS：induced pluripotent stem　EG：embryonic germ　MSC：mesenchymal stem　NS：neural stem

ヒトiPS／ES細胞培養システム

<スタンダードタイプ>

Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture System

- シングルセル継代で単層培養でき、再現性の高い培養が可能
- オンフィーダー培養からフィーダーフリー培養への移行が簡単
- 長期間の未分化維持培養が可能
- 培地添加剤とコーティング剤を含むオールインワンキット
- 高効率なシングルセルクローニングが可能

製 品 名	内 容	容 量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture System	DEF-CS 500 Basal Medium 500 ml DEF-CS 500 COAT-1 4 ml ・・・プレートコーティング剤 DEF-CS GF-1 750 µl×2 DEF-CS GF-2 500 µl ・・培地添加剤 DEF-CS GF-3 200 µl	1 Kit	Y30010	¥59,800

【シングルセルにしたiPS細胞が単層状に増殖していく様子】

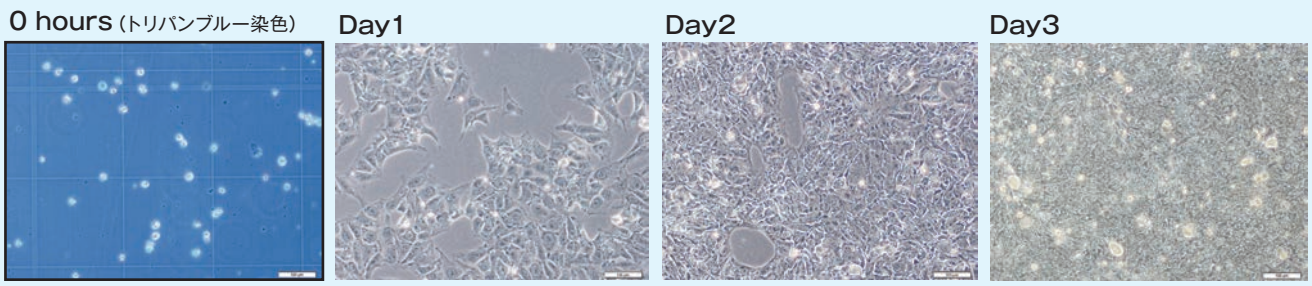


図1.
ヒトiPS細胞株（253G1）を本製品のプロトコールに従いシングルセルにまで分散し、トリパンブルーで染色した。ほとんどの細胞が生細胞であることを確認後、本培地にて細胞を播種し培養を行った。
Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemを用いて、シングルセルに分散した状態からの効率のよい増殖が確認できた。単層状に均一な培養ができ、シングルセル継代による安定した維持培養が可能である。

★弊社ウェブサイトで培養実験動画もご覧ください http://movie.takara-bio.co.jp/

【馴化後の培養細胞の形態を比較】

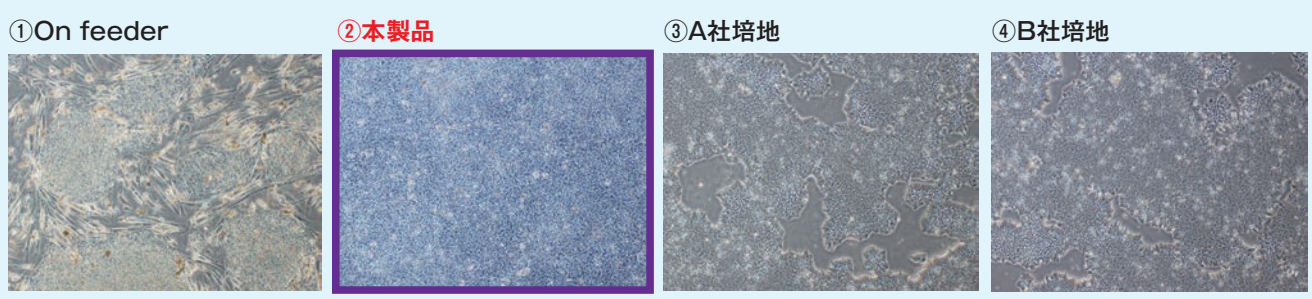


図2.
以下の各培地・培養条件でヒトiPS細胞株（253G1）を培養した。培養条件・コーティング剤は、各培地の推奨プロトコールに従った。
①On feeder（MMC処理STO細胞使用） **②本製品** ③A社培地 ④B社培地
馴化後に継代し5日目の培養細胞を写真で示した。
シングルセル継代が可能なCellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemでは、継代後も再現性の良い維持培養が可能である。
（弊社比較データ）

【未分化マーカーの発現を比較】

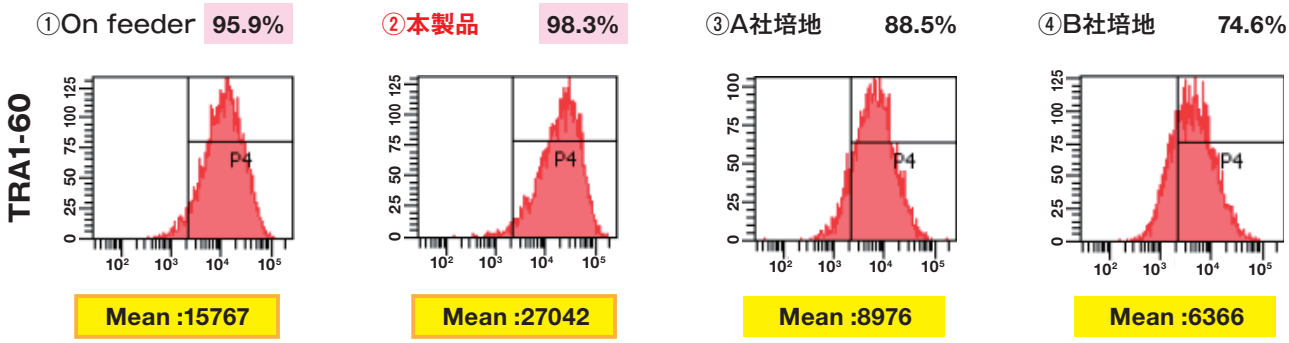


図3.
図2の培養条件（① ～ ④）でヒトiPS細胞株（253G1）を5週間培養後、細胞を回収して未分化マーカーTRA1-60の発現をフローサイトメトリーにて解析した。
Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemで培養した細胞は高い陽性率と発現強度を示した。 （弊社比較データ）

【培養5週間後の細胞の形質を比較】

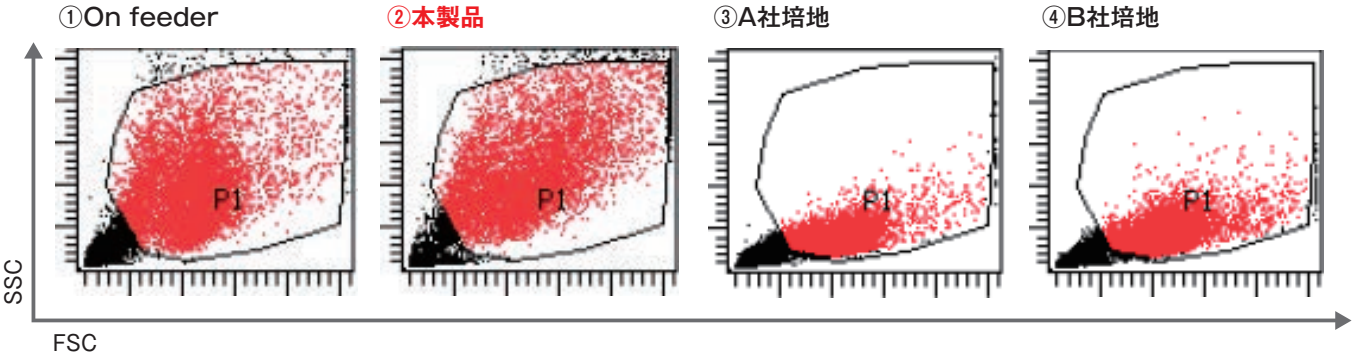


図4.
各培地・培養条件（①～④）でヒトiPS細胞株（253G1）を5週間培養後、細胞を回収し、フローサイトメトリーにて解析した（FSC対SSC）。
培養条件・コーティング剤は、各培地の推奨プロトコールに従った。
Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemで培養した細胞はOn feederで培養した細胞に類似した形質を示した。
（弊社比較データ）

高いSSC値が、未分化マーカー発現率とシングルセルで継代した時のコロニー形成効率に相関することを示した報告は、以下の参考文献をご参照ください。

参考文献

- Ramirez JM, *et al*, Side scatter intensity is highly heterogeneous in undifferentiated pluripotent stem cells and predicts clonogenic self-renewal. *Stem Cells Dev*. 2013 Jun 15; **22**(12):1851-1860.

ユーザーズボイス公開中！
本製品をお使いのユーザー様からお寄せいただいたユーザーズボイスを弊社ウェブサイトでご紹介しています。ぜひご覧ください。
DEF-CS　ユーザーズボイス　検索

Q&Aをご紹介！
弊社ウェブカタログでDEF-CS 500のQ&Aをご紹介しています。
DEF-CS　Q&A　検索

無料サンプル
以下のURLより無料サンプル（製品の1/5サイズ）をお申し込みいただけます。
無料サンプル申し込みフォーム　https://www.takara-bio.co.jp/research/sample/DEF1/

Application Note 1

Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemを用いたiPS細胞のフィーダーフリー培養への移行

はじめに

Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemは、フィーダーフリー条件下でiPS細胞を培養することができるシステムです。本Application Noteでは、マウスフィーダー細胞上で維持培養したヒトiPS細胞株（201B7および253G1）を、Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemにてフィーダーフリー培養へと移行した実験例をご紹介します。

【方法】

マウスフィーダー細胞（※）上で維持培養したヒトiPS細胞株（※MMC処理STO細胞を使用）

↓ TrypLE Select（Thermo Fisher Scientific社、Cat. No.12563029）を用いてシングルセルに分散

↓ **継代（Passage1）**
DEF-CS完全培地（GF-1、GF-2、GF-3含有）にて細胞を播種［細胞密度：2×10^4 cells/cm^2］

↓ 培地交換（※）

↓ **継代（Passage2）**
DEF-CS完全培地（GF-1、GF-2、GF-3含有）にて細胞を播種［細胞密度：2×10^4 cells/cm^2］

↓ 培地交換（※）

↓ 細胞を回収し、FACS解析／継代維持

注：細胞株の種類によっては、細胞播種密度や培地交換頻度は変わる場合があります。

※培地交換のスケジュール
day1: 培地交換
day2: なし
day3: 培地交換
day4: 培地が黄色くなっていたら交換
day5: 培地交換
day6: 継代

【結果】

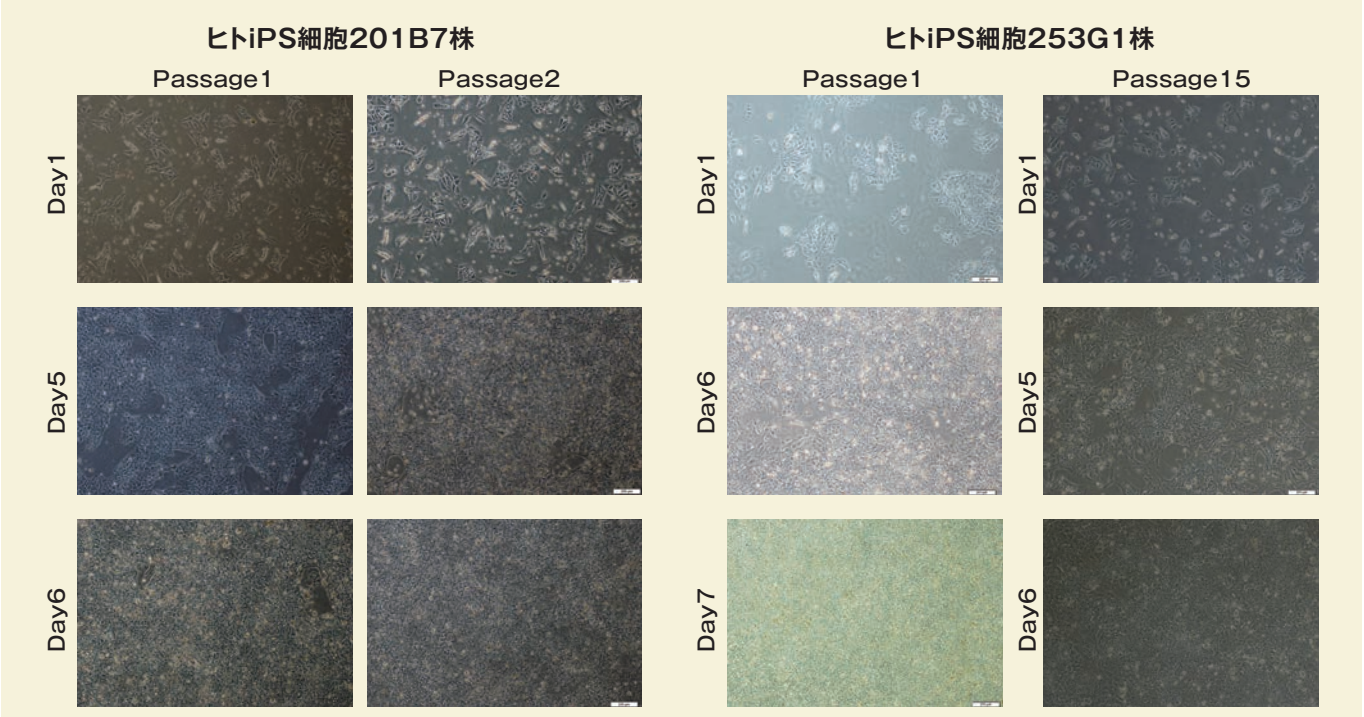


図5. フィーダーフリー培養へ移行後の細胞の様子
Cellartis DEF-CS 500 Culture Systemでオンフィーダーからフィーダーフリー培養へ移行した細胞は単層状態で培養できた（253G1株のPassage1は7日まで培養した）。さらに、253G1株では15継代まで継続して安定な単層培養が可能であった。

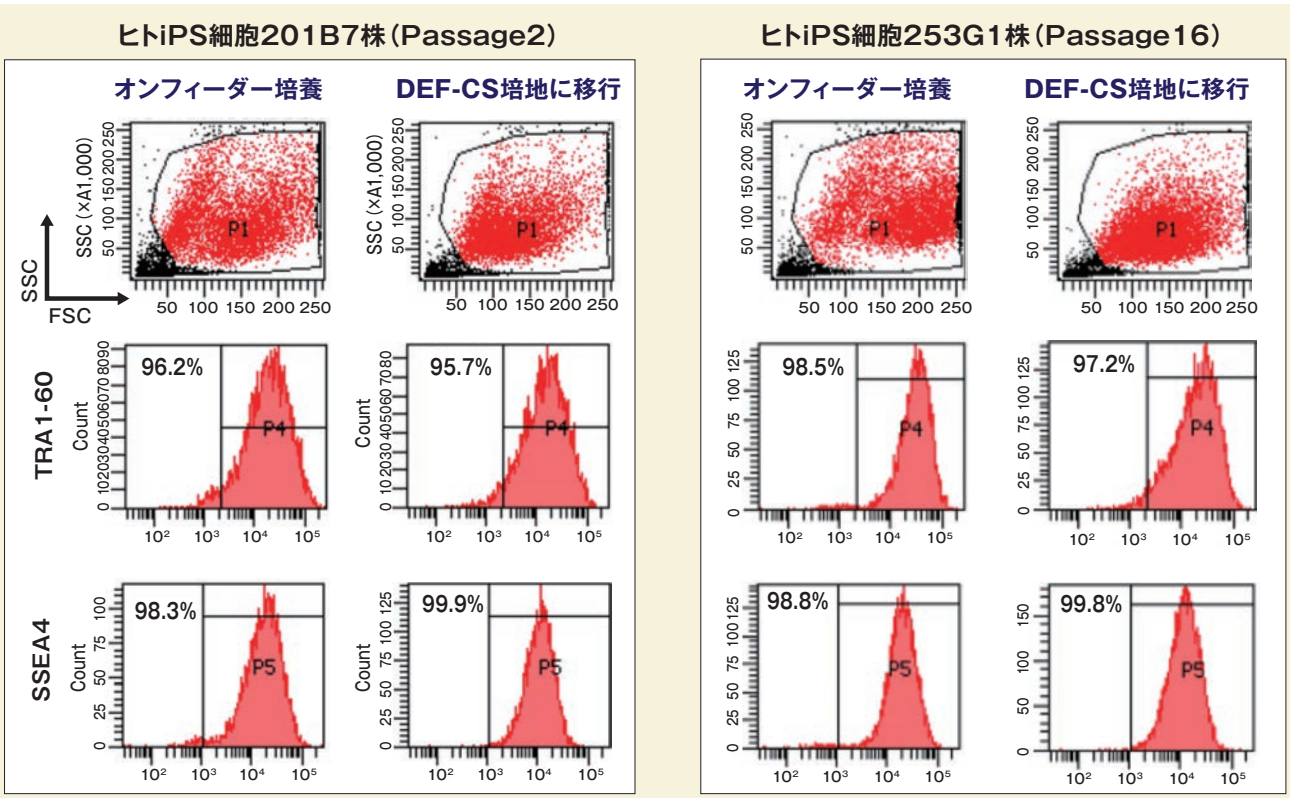


図6. 未分化マーカーの発現確認
各条件で培養したヒトiPS細胞（201B7株は2継代後、253G1株は16継代後）を回収し、未分化マーカー（TRA1-60、SSEA4）の発現をフローサイトメトリーにて解析した。Cellartis DEF-CS 500 Culture Systemで培養した細胞は、オンフィーダー培養細胞と同等の高い陽性率を示した。

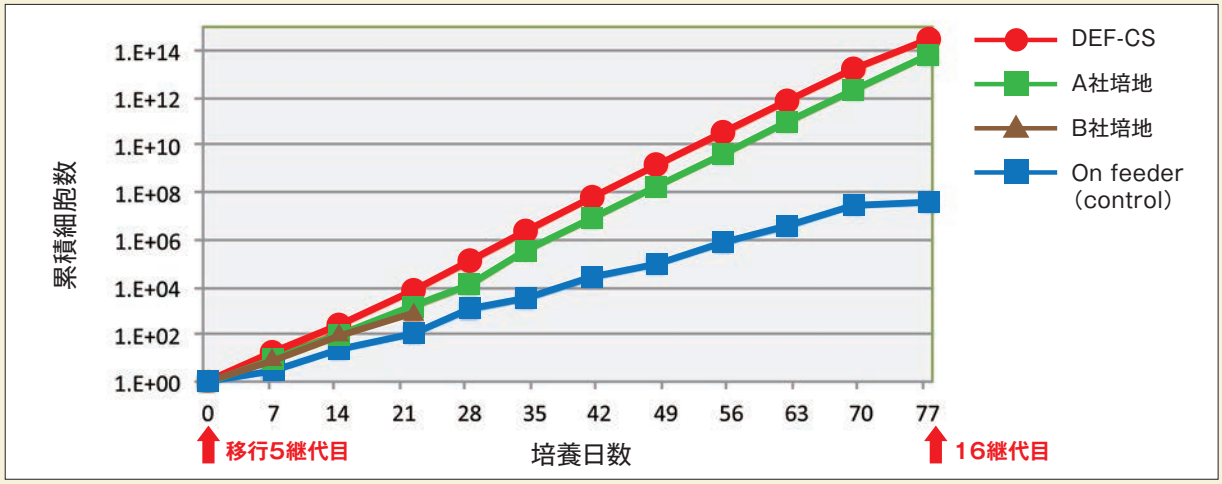


図7. 長期培養における細胞増殖
各種培地でフィーダーフリー培養へ移行したヒトiPS株（253G1）について長期培養試験を実施した。7日毎の継代時に生細胞数を計測し、累計細胞数を算出した。Cellartis DEF-CS 500 Culture Systemで培養した細胞の増殖曲線は高い直線性を示し、回収細胞数は最も多かった。B社培地では本培養条件で増殖を維持できなかった。
（弊社比較データ）

結論

Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemの利用により、オンフィーダー培養したヒトiPS細胞をフィーダーフリー培養へ簡単に移行することができました。さらに、オンフィーダー培養細胞と同等の未分化マーカーを発現し、未分化状態を維持していることも確認できました。

各社培地にてフィーダーフリー培養へ移行し長期培養した結果から、Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemで培養したヒトiPS細胞は、シングルセル分散によるハンドリングの容易さから安定した継代作業が可能であり、増殖曲線は高い直線性を示し、回収細胞数も最も多く、未分化細胞の拡大培養に適していることが示されました。

Application Note 2

Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture SystemによるiPS細胞のシングルセルクローニング

はじめに

ゲノム編集技術の発展により、現在ではさまざまな生物のゲノムに変異導入が可能です。ヒトiPS細胞からも、さまざまな病態疾患モデルとなる細胞や、再生医療を目的としたゲノム改変細胞の作製が可能となりました。
これまでiPS細胞を未分化状態で増殖させるためには他のiPS細胞やフィーダー細胞との細胞間接触が必要であり、シングルセルからのクローニングが困難でしたが、最近ではシングルセルクローニングを可能にする培養システムの開発が進められています。
本Application Noteでは、Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture System (製品コード Y30010) を用いてヒトiPS細胞のシングルセルクローニングを行った実験例と、他社製品よりも高いクローニング効率、良好な増殖結果を紹介します。

【材料および方法】

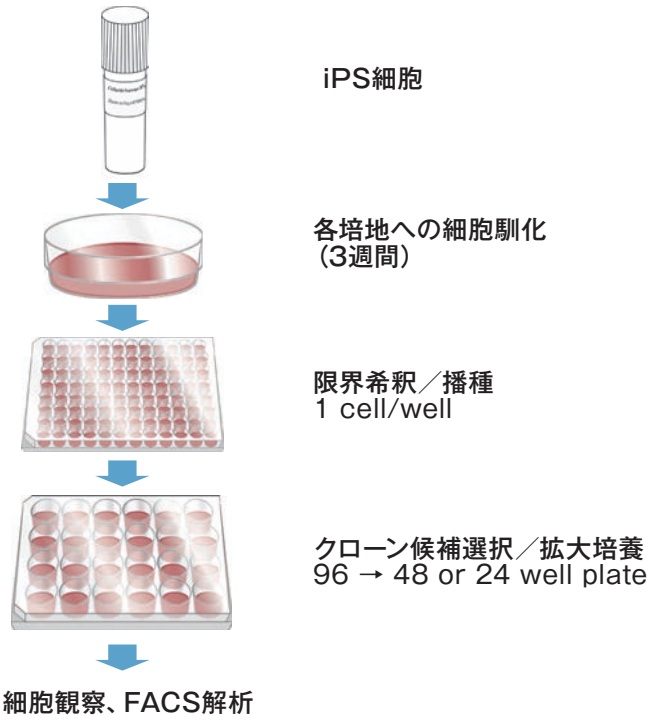
細胞培養

Cellartis® human iPS cell line 12、18および22(製品コード Y00285、Y00305、Y00325)は、あらかじめCellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemまたは他社培地中で各推奨条件にて3週間の馴化培養を行った後、シングルセルクローニング試験に供した。各細胞を段階希釈後、96ウェルプレートに1細胞／ウェルで播種し、それぞれの培地で培養を行った。

クローニング効率と未分化維持の確認

iPS細胞を1細胞／ウェルで播種して10日間培養した後、顕微鏡観察により確かに1細胞から増殖したウェル数をカウントし、全ウェルに対するクローニング効率(Cloning Efficiency)を算出した。さらにシングルセルから増殖したクローンの一部を継代し、9～11日間、拡大培養を行った。増殖したウェル数をカウントし、自己増殖可能なクローンの取得率(Expanded Clones)とした。
シングルセル播種から19日間培養後、増殖したiPS細胞クローンについて未分化マーカー発現を確認した。Alexa Fluor 488標識抗TRA1-60抗体とPhycoerythrin標識抗SSEA4抗体を用いて二重染色後、フローサイトメトリー解析により各マーカー陽性の細胞パーセントと発現強度を算出した。

実験フロー



【結果】

表1.　シングルセルクローニングにより得られたクローン数

hiPS Cell line	Medium	Seeded Wells	Total Clones(a)	Isolated Clones(b)	Cloning Efficiency(c)	Expanded Clones(d)
Cellartis human iPS cell line 12	Cellartis DEF-CS	96	28	26	27.1 %	5/5
	B社培地	96	27	24	25.0 %	5/5
	A社培地	96	5	5	5.2 %	3/5
Cellartis human iPS cell line 18	Cellartis DEF-CS	96	33	29	30.2 %	5/5
	B社培地	96	21	20	20.8 %	1/5
	A社培地	96	0	0	0.0 %	0/0
Cellartis human iPS cell line 22	Cellartis DEF-CS	96	32	30	31.3 %	5/5
	B社培地	96	31	28	29.2 %	5/5
	A社培地	96	0	0	0.0 %	0/0

(a)　Day10に増殖が見られたウェル数　　(b)　Day10に増殖が見られたウェルの内、1クローン／wellであったウェル数
(c)　1クローン／wellで増殖が見られたウェルの割合=(b)/96
(d)　1クローン／wellで得られたクローン 5ウェルを9-11日間拡大培養し、増殖が確認された割合

(弊社比較データ)

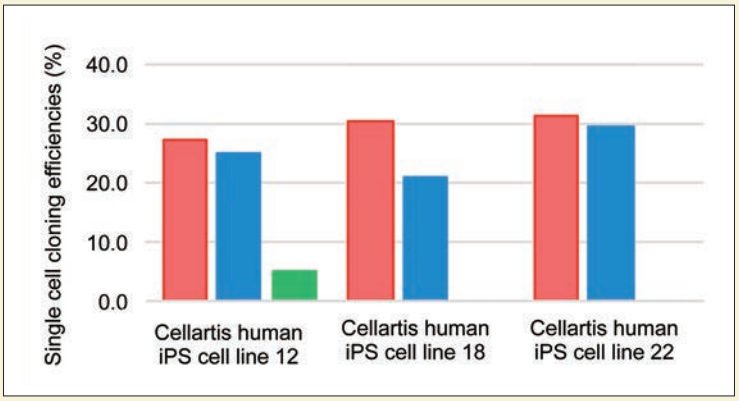
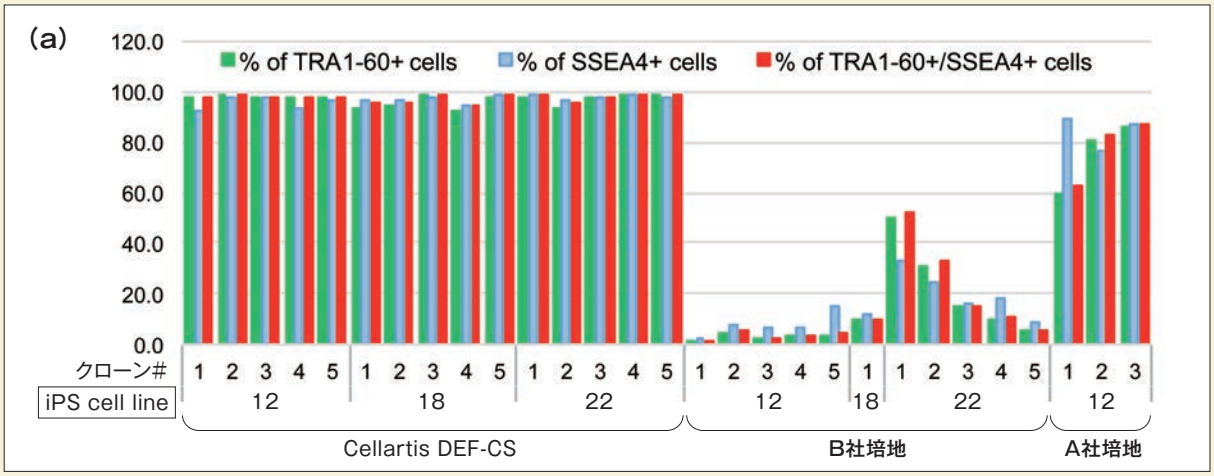


図8. シングルセルクローニングの効率
表1の結果をグラフ化した。DEF-CSシステムは、3種のiPS細胞株において、他社培地と比較して最も高いシングルセルクローニング効率を示した。（弊社比較データ）



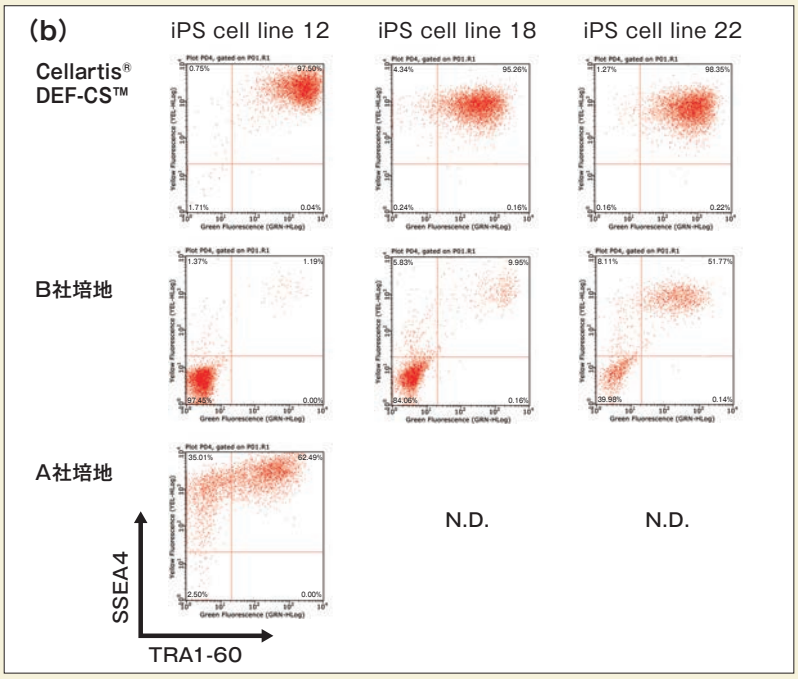


図9. TRA1-60、SSEA4未分化マーカーの発現確認
シングルセルクローニング後、拡大培養したクローン細胞について、TRA1-60とSSEA4の発現をフローサイトメトリーで解析した。
全クローンのマーカー陽性率（a）と、各クローン#1のFCプロット図（b）を示す。
DEF-CSで取得したクローンは、未分化マーカーの高い陽性率と発現強度を示した。一方、他社培地で得られたクローンは、未分化マーカーの発現が一部またはほとんど消失していた。
（弊社比較データ）

結論

Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemを用いたヒトiPS細胞のシングルセルクローニングを検討した結果、他社製品と比較して高効率にiPS細胞のシングルセルクローニングが可能であり、iPS細胞がより安定に増殖することがわかりました。さらに、クローニング後のiPS細胞の未分化状態は、Cellartis® DEF-CS™ 500 Culture Systemでは高く維持できていましたが、他社製品では未分化マーカーの発現が一部またはほとんど消失していました。

ヒトiPS／ES細胞培養システム　～シングルセルクローニング用～

<ゲノム編集・シングルセルクローニングに最適>

Cellartis® iPSC Single-Cell Cloning DEF-CS™ Culture Media Kit

- ヒトiPS／ES細胞の単層培養、シングルセル継代に対応したDEF-CS培養システムの機能をそのままに、製品仕様を高効率なシングルセルクローニング専用に最適化（※）
- 長期間の未分化維持培養が可能
- 培地添加剤とコーティング剤を含むオールインワンキット
- ゲノム編集試薬とのお得なセット品もラインナップ

※従来のDEF-CS培地（製品コード Y30010）と比較して、シングルセルクローニングのためにCOAT-1の仕様と容量、およびGF-3の容量を最適化しています。

製品名	内容	容量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® iPSC Single-Cell Cloning DEF-CS™ Culture Media Kit	DEF-CS 500 Basal Medium : 500 ml iPSC Single-Cell Cloning DEF-CS COAT-1 : 800 µl ×2 DEF-CS GF-1 : 750 µl ×2 DEF-CS GF-2 : 500 µl DEF-CS GF-3 : 500 µl	1 Kit	Y30021	¥65,000

★ゲノム編集試薬とのお得なセット品

製品名	製品説明	容量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® iPSC CRISPR/Cas9 Gesicle and Single-Cell Cloning System ラ 営	エキソソーム様小胞（Gesicle）によるCas9/sgRNA導入システムと上記DEF-CS培地（Y30021）のセット品	1 Kit	632642	¥193,000
Cellartis® iPSC rCas9 Electroporation and Single-Cell Cloning System	*in vitro* transcriptionによるsgRNA調製用試薬、高濃度Cas9タンパク質、DEF-CS培地（Y30021）のセット品	1 Kit	632643	¥216,000
Cellartis® iPSC Single-Cell Cloning DEF-CS™ Culture Media Kit with Cas9 Protein	高濃度Cas9タンパク質、DEF-CS培地（Y30021）のセット品	1 Kit	Y50100	¥85,000

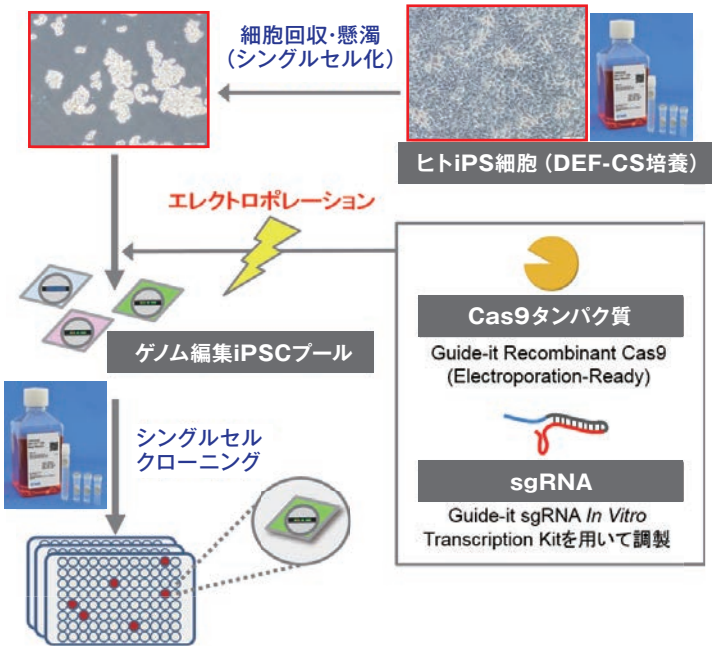
ラ ご購入に際してライセンス確認書が必要となります。　営 営利施設の場合、ご購入前にライセンス（有償）を取得する必要があります。
詳細はお問い合わせください。

【ヒトiPS細胞へのCRISPR/Cas9導入方法と特徴】

導入形態		導入法	特徴			
Cas9	gRNA		装置	編集効率（導入効率）	毒性	その他
DNA ベクター	DNA ベクター	トランスフェクション	非依存	低	低	-
		エレクトロポレーション	依存	高	高	-
タンパク質	RNA		依存	高	高	オフターゲットリスク低減
		Gesicle	非依存	中	低	

今注目のCas9タンパク質／sgRNA導入によるiPS細胞のゲノム編集例

【その1】エレクトロポレーションによる導入



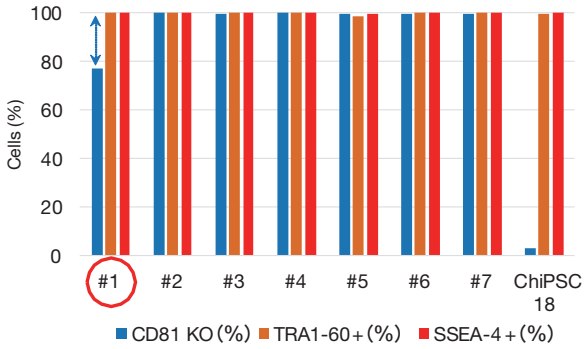
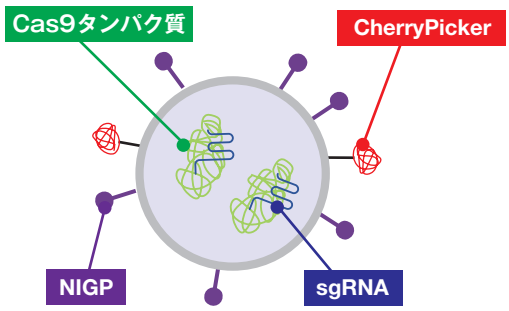


図10. DEF-CS培養システムとRNPを用いたゲノム編集によるCD81ノックアウト（KO） hiPS細胞クローンの取得
Guide-it Recombinant Cas9(Electroporation-Ready)（製品コード 632641）とsgRNAより調製した複合体（RNP）をhiPS細胞（ChiPSC18株）にエレクトロポレーションにより導入した後、CD81 KO株をDEF-CS培養システムを用いてクローン化した（左図フロー）。得られたCD81 KO株のCD81、TRA1-60、SSEA4発現量をフローサイトメトリーにて解析したところ、いずれのクローンでも高い未分化マーカー発現が確認された（右グラフ）。
※#1は片アリルのみのCD81 KO株

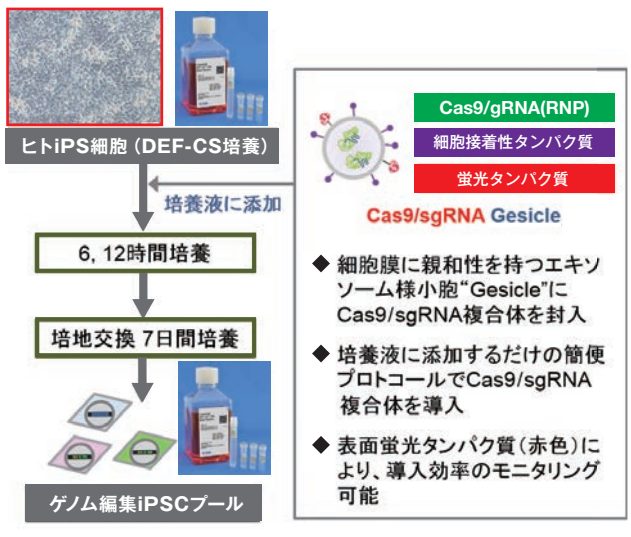
【その2】エキソソーム様小胞（Gesicle）による導入



Cas9/sgRNA Gesicle

Gesicleとは・・・？

- 細胞膜に親和性を持つNanovesicle-inducing Glycoprotein（NIGP）を表面に有する粒子
- NIGPを発現するプロデューサー細胞を用いて産生され、プロデューサー細胞内に存在するタンパク質・核酸等の封入が可能
- 様々な細胞に融合し、粒子内に封入された物質移送が可能
- 表面にCherryPicker™赤色蛍光タンパク質がついており、蛍光によるGesicleの産生および導入効率のモニターが可能



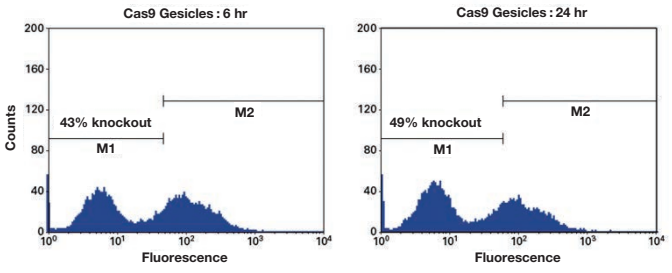


図11. DEF-CS培養システムとCRISPR/Cas9 GesicleによるhiPS細胞のCD81ノックアウト
Guide-it CRISPR/Cas9 Gesicle Production System（製品コード 632613）を用いて調製したCRISPR/Cas9 Gesicleを、DEF-CS培養システムを用いて培養中のhiPS細胞に直接添加した後、6、24時間培養後に培地交換を行い、さらに7日間培養を継続後、CD81の発現状態をフローサイトメトリーにより解析した（左図フロー）。その結果、6時間または24時間CRISPR/Cas9 Gesicleと接触した細胞でそれぞれ43、49%のCD81 KO細胞が確認された（右図）。

Xeno-FreeのヒトiPS／ES細胞用培地

<再生医療研究に>

Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free Culture Medium w/o antibiotics

- 動物・ヒト由来成分を含まない（ケミカリーディファインド）
- シングルセル継代とLot間差の少ない安定した性能による再現性の高い培養を実現
- 長期間の未分化維持培養が可能
- 前臨床での使用に最適
- GMPグレードバージョン、3D培養バージョンとの高い互換性

製 品 名	内 容	容 量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free Culture Medium w/o antibiotics	DEF-CS 500 Xeno-Free Basal Medium w/o antibiotics ： 500 ml DEF-CS Xeno-Free Additive 1 ： 500 µl DEF-CS Xeno-Free Additive 2 ： 200 µl	1 Kit	Y30045	¥42,000

※別途、プレートコーティング剤が必要です。
［推奨］ iMatrix-511（製品コード 892011）、Corning Synthemax Ⅱ-SC Substrate（Corning社, Cat. No. 3535）

※本製品には抗生物質が含まれておりません。
抗生物質を添加する場合は、Gentamicin（50 mg/ml, Thermo Fisher Scientific社, Cat. No. 15750060）を1/1,000量添加してください。

【長期間培養後の多分化能を確認】

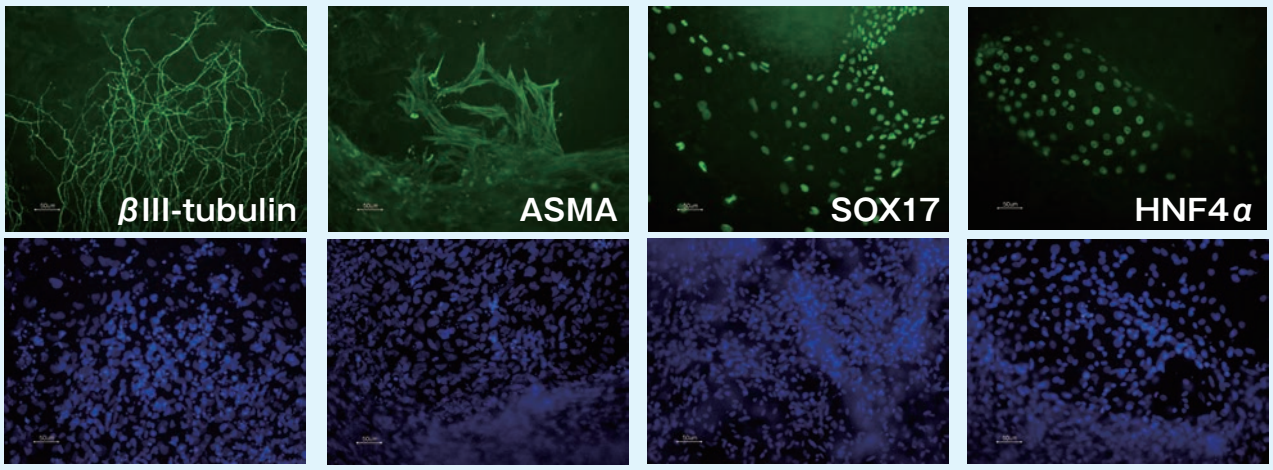


図12.
本製品を用いてヒトiPS細胞の継代を10回行った後、外胚葉、中胚葉、内胚葉への分化能が維持されていることを各胚葉特異的抗体での免疫染色（外胚葉ではβIII-tubulin、中胚葉ではASMA、内胚葉ではSOX17およびHNF4αを検出）で確認した（上段）。下段はDAPIによる核染色の結果を示す。

Xeno-FreeのヒトiPS細胞培養システム（GMPグレード／3D培養バージョン）

<GMPグレードバージョン>

Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free GMP Grade Basal Medium

- 動物・ヒト由来成分を含まないケミカリーディファインドな基本培地
- GMP基準に準拠した製造・品質管理
- DEF-CS™ 500 Xeno-Free、3D培養バージョンとの高い互換性

製 品 名	容 量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free GMP Grade Basal Medium	500 ml	Y30071	¥48,000

※本製品は、医薬品医療機器総合機構の原薬等登録原簿（マスターファイル）に登録されています。
※別途、培地添加剤およびプレートコーティング剤が必要です。　※本製品には抗生物質が含まれておりません。

<3D培養バージョン>

Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free 3D Spheroid Culture Medium w/o antibiotics

- 動物およびヒト由来成分を含まない（ケミカリーディファインド）
- 培養器材面積に依存しない3Dスフェロイド培養で、ヒトiPS/ES細胞培養のスケールアップに有用
- 最適化されたプロトコールと培地添加剤による優れた拡大培養効率（800倍／11日間）
- 3D分化誘導の前培養プロトコールとしても最適
- 安定した核型と分化誘導能を維持

製 品 名	内 容	容 量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free 3D Spheroid Culture Medium w/o antibiotics	DEF-CS 500 Xeno-Free Basal Medium w/o antibiotics : 500 ml DEF-CS Xeno-Free 3D Spheroid Additive 1 : 500 µl DEF-CS Xeno-Free 3D Spheroid Additive 2 : 200 µl DEF-CS Xeno-Free 3D Spheroid Additive 3 : 400 µl	1 Kit	Y30047	¥44,000
Cellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free 3D Spheroid Additives	DEF-CS Xeno-Free 3D Spheroid Additive 1 : 500 µl DEF-CS Xeno-Free 3D Spheroid Additive 2 : 200 µl DEF-CS Xeno-Free 3D Spheroid Additive 3 : 400 µl	1 Set	Y30048	¥14,000

※Basal MediumはGMPグレード品（製品コード Y30071）もラインナップしています。
ご利用の際はCellartis® DEF-CS™ 500 Xeno-Free 3D Spheroid Additives（製品コード Y30048）と組み合わせてお使いください。

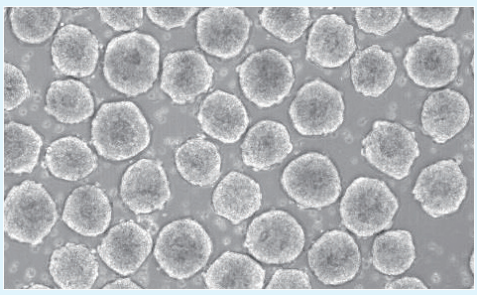


図13.本製品を用いた、ヒトiPS細胞の3Dスフェロイド培養の様子

Introduction

多能性幹細胞の“Ground State”の効果的維持

基底状態“Ground State”とは・・・

受精卵より樹立される多能性幹細胞であるES細胞（Embryonic Stem Cell: 胚性幹細胞）は、適切な*in vitro*培養条件下で安定して増殖・維持できる（自己複製能）ほか、三胚葉を経て様々な体細胞へと分化する能力（多能性または多分化能）を有します。また、マウスES細胞では、胚盤胞移入を経て、ES細胞の形質（遺伝型）を有する個体（キメラマウス）の発生と、その後の生殖系列寄与（germline transmission）による子孫への形質伝播が可能であることが確認されています。

多能性を有するマウスES細胞として、ナイーブ型のES細胞とプライム型のエピブラスト幹細胞が存在することが知られており、中でも多能性細胞の基底状態にあることで高いキメラマウス形成、生殖系列寄与を示す状態を“Ground State”と呼びます。また、ナイーブ型（Ground State）のマウスES細胞は、培養環境等の影響を受けて可逆的にプライム型に変化することが報告されています。

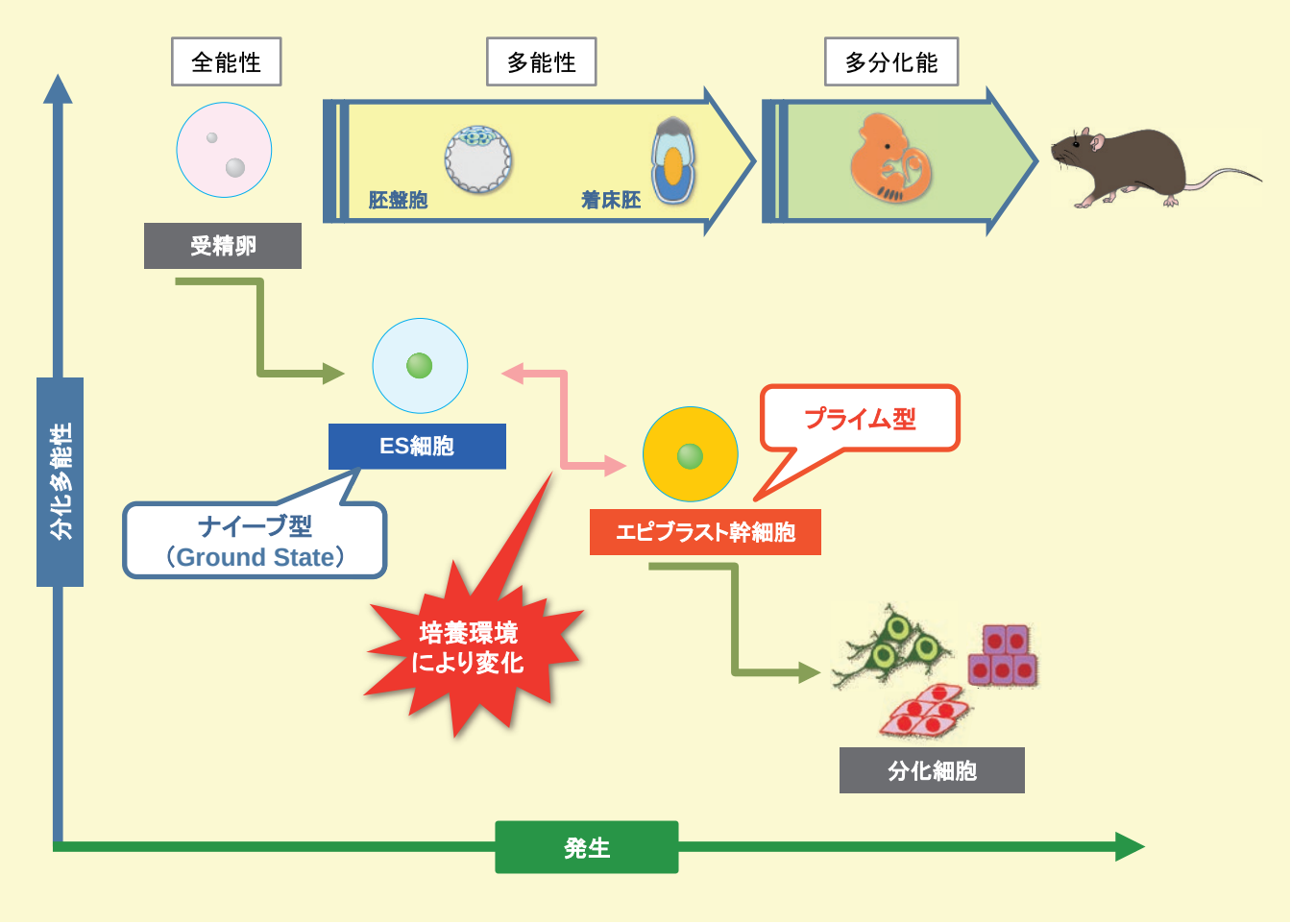


図14. 多能性幹細胞の基底状態“Ground State”

2i／3iテクノロジーによるマウスES細胞の “Ground State” 維持

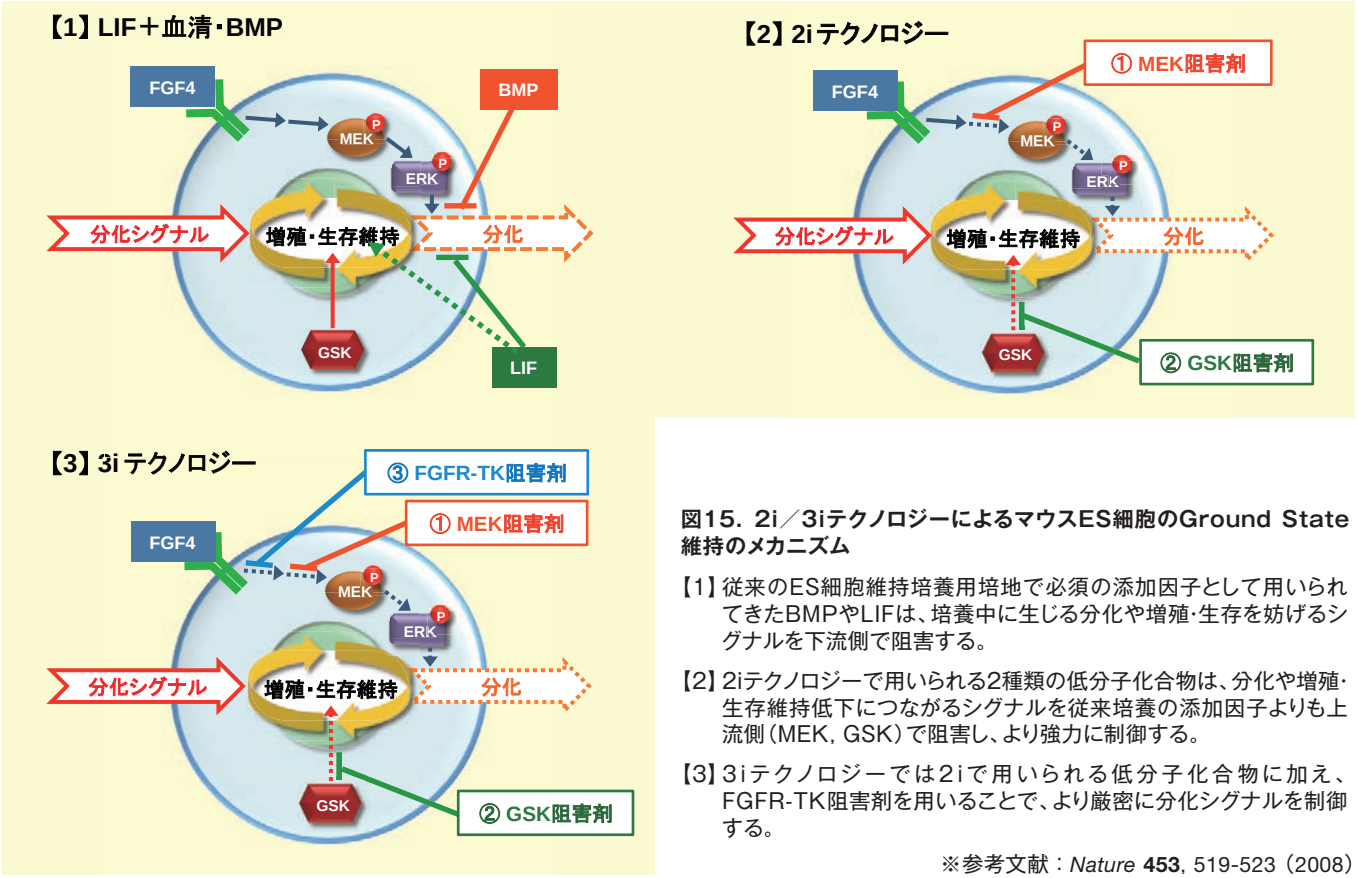


図15. 2i／3iテクノロジーによるマウスES細胞のGround State維持のメカニズム

【1】従来のES細胞維持培養用培地で必須の添加因子として用いられてきたBMPやLIFは、培養中に生じる分化や増殖・生存を妨げるシグナルを下流側で阻害する。

【2】2iテクノロジーで用いられる2種類の低分子化合物は、分化や増殖・生存維持低下につながるシグナルを従来培養の添加因子よりも上流側（MEK, GSK）で阻害し、より強力に制御する。

【3】3iテクノロジーでは2iで用いられる低分子化合物に加え、FGFR-TK阻害剤を用いることで、より厳密に分化シグナルを制御する。

※参考文献：*Nature* **453**, 519-523 (2008)

★Cellartisでは、2i／3iテクノロジー採用の培地をラインナップしています。

2i GS2-M®　製品コード Y40030

- ■ ERK/MEK、GSK3β阻害剤（2iテクノロジー）により培養中の分化誘導シグナルをシャットアウト
  - ➡ マウスES細胞のGround Stateを安定・高効率に維持培養
  - ➡ 高効率なキメラマウス作製が可能
- ■ フィーダー細胞 & 血清フリー！　LIF添加なしでも培養可能
  - ➡ フィーダー細胞の準備やロット毎の血清品質チェック不要
- ■ LIF添加によりマウスpartial iPS細胞やpre-iPS細胞を完全な多能性iPS細胞へ変換可能

3i iSTEM™　製品コード Y40010

- ■ ERK/MEK、GSK3β、FGFR-TK阻害剤（3iテクノロジー）により厳密に分化誘導シグナルをシャットアウト
  - ➡ 樹立困難なマウス種からのES細胞株の樹立時にも使用可能

製品詳細は15～16ページをご覧ください。

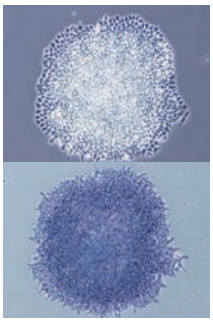
マウス・ラットES／iPS細胞用培地

2iテクノロジー採用のマウス・ヒトES／iPS細胞用培地

GS2-M®

容　量	製品コード	価格（税別）
100 ml	Y40030	¥29,800

- 2種類の低分子阻害剤（CHIR99021, PD0325901=‘2i’）存在下でマウスES細胞株、iPS細胞株を培養するために調製された化学的成分既知の無血清培地
- 2種類の低分子阻害剤はそれぞれ、GSK3β、またはERK / MEKからの分化誘導シグナルを抑制する効果を持ち、細胞の生存を促進



（上）GS2-M培地で培養したマウスES細胞E14Tg2A株
（下）アルカリホスファターゼ染色

【GS2-MによるマウスES細胞のGround Stateの高効率維持】

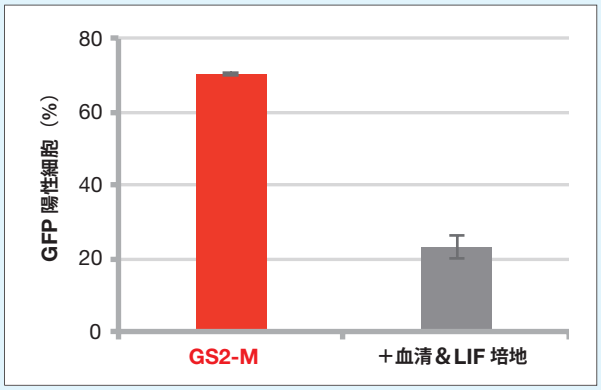


図16.
Ground State状態にあるマウスES細胞（ナイーブ型mES）のマーカー遺伝子Rex1のプロモーター下流に蛍光タンパク質（GFP）遺伝子を挿入したmES細胞株（Rex1GFPd2レポーター株※）を、血清&LIF培地（10%FBS+LIF）とGS2-M培地を用いて各々3継代の間培養し、GFP陽性細胞（Ground State状態にあるmES細胞）の割合を評価した。
その結果、GS2-Mを用いた場合に70%を超えるGFP陽性細胞が検出され、GS2-Mの高効率なGround State維持が確認された。
※参考文献：*Nat Cell Biol*. **13**, 838–845（2011）

Application

- LIFの添加培養により、マウスのpartial iPS細胞やpre-iPS細胞を完全な多能性iPS細胞に変換可能（参考文献 1、2）
- ナイーブなGround Stateマウス多能性幹細胞の長期間の維持は、GS2-M®培地だけで可能
- 2i 阻害剤は、生殖系列に分化可能なES細胞を得ることが困難であったマウスの種からの誘導や、ナイーブなヒトおよび家畜iPS細胞を作製する目的にも使用されている。（参考文献 3、4、5）

参考文献

1. Silva J, *et al*, Promotion of reprogramming to ground state pluripotency by signal Inhibition. *PLoS Biol*. 2008; **6**:e253.
2. Silva J, *et al*, Nanog is the gateway to the pluripotent ground state. *Cell*. 2009; **138**(4):722-737.
3. Nichols J, *et al*, Validated germline-competent embryonic stem cell lines from non-obese diabetic mice. *Nat Med*. 2009; **15**:814-818.
4. Wang W, *et al*, Rapid and efficient reprogramming of somatic cells to induced pluripotent stem cells by retinoic acid receptor gamma and liver receptor homolog. *PNAS* (USA). 2011; **108**(45):18283-18288.
5. Malaver-Ortega LF, *et al*, Reviewed in: *Theriogenology*. 2012; **78**(8):1749-1762.

ラットES細胞、EG細胞の誘導、維持に

GS1-R™

容　量	製品コード	価格（税別）
100 ml	Y40020	¥29,800

- ナイーブなGround Stateで、ラットES細胞、EG細胞を誘導、維持、増殖させるために調製された化学的成分既知の無血清培地<2iテクノロジー採用>

Application

- 本製品により維持されたラットES細胞は生殖系列への分化が可能であり、相同組換えやゲノム編集技術を用いることによりトランスジェニックラットやノックアウトラットを作製することができる。

マウスES細胞用培地

3iテクノロジー採用のマウスES細胞用培地
iSTEM™

容　量	製品コード	価格（税別）
100 ml	Y40010	¥42,000

- 無血清、フィーダーフリー、サイトカイン無添加の条件下で、ナイーブなGround Stateを維持したままマウスES細胞の培養が可能な完全合成培地（参考文献 1）
- 分化誘導シグナルを抑え、刺激性サイトカイン無しに多能性を維持しながら増殖させる働きをもつ3種類の低分子阻害剤を含有
- iSTEM™培地で培養したマウスES細胞は、LIF（Leukemia Inhibitory Factor）、BMP（Bone Morphogenetic Protein）の存在下での培養と同程度の増殖能と、これより優れたキメラ形成能を保持

【C57BL/6Nマウスでのキメラ率の比較】

国立研究開発法人 理化学研究所　生命システム研究センター
細胞デザインコア合成生物学研究グループ　鵜飼 英樹先生より
データをご提供いただきました。

図17.
ジーンターゲティングを目的として、iSTEM培地およびC社培地で10継代培養したマウスES細胞（C57BL/6Nマウス由来）を8細胞期胚（CD1(ICR)）にインジェクションし、翌日移植して生まれてくるマウス個体の毛色にてキメラ率を検証した。その結果、iSTEM培地を使用した場合、マウスは全てC57BL/6N由来の黒い毛色であり、キメラ率が良好であることが確認できた。

【未分化状態の確認】

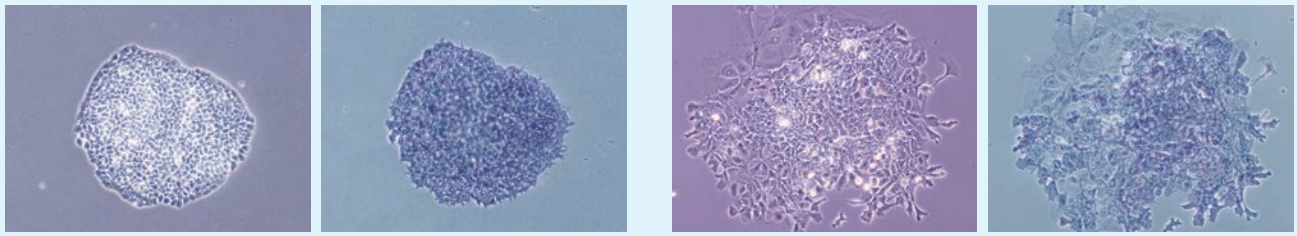


図18.
iSTEM培地、または慣用培地で培養したマウスES細胞E14Tg2A株（左）とアルカリホスファターゼ染色画像（右）。
iSTEM培地で培養した細胞は、ムラのない染色像から均一な未分化細胞であることが分かる。

Application

- C57BL/6NマウスでのGerm-line transmission効率が良好（参考文献 2）
- 難誘導マウス種からのES細胞株の誘導時にも使用可能（参考文献 3）

参考文献

1. Ying QL, *et al*, The ground state of embryonic stem cell self-renewal. *Nature*. 2008; **453**:519-523.
2. Kiyonari H, *et al*, Three Inhibitors of FGF receptor, ERK, and GSK3 establishes germline-competent embryonic stem cells of C57BL/6N mouse strain with high efficiency and stability. *Genesis*. 2010; **48**:317-327.
3. Iijima S, *et al*, Effect of different culture conditions on establishment of embryonic stem cells from BALB/cAJ and NZB/BINJ mice. *Cell Reprogram*. 2010; **12**(6):679-688.
4. Ukai H, *et al*, Production of knock-in mice in a single generation from embryonic stem cells. *Nature Protocols*. 2017; **12**(12): 2513-2530.

ナイーブ型iPS細胞研究用培地

NDiff® 227

容　量	製品コード	価格（税別）
500 ml	Y40002	¥48,000

- ヒトのナイーブ型iPS細胞誘導の研究に使用（参考文献 6）
- 接着単層培養条件下でのマウスES細胞の神経分化に適した完全合成無血清培地
- 適切な因子の添加によるマウスES細胞の培養も可能

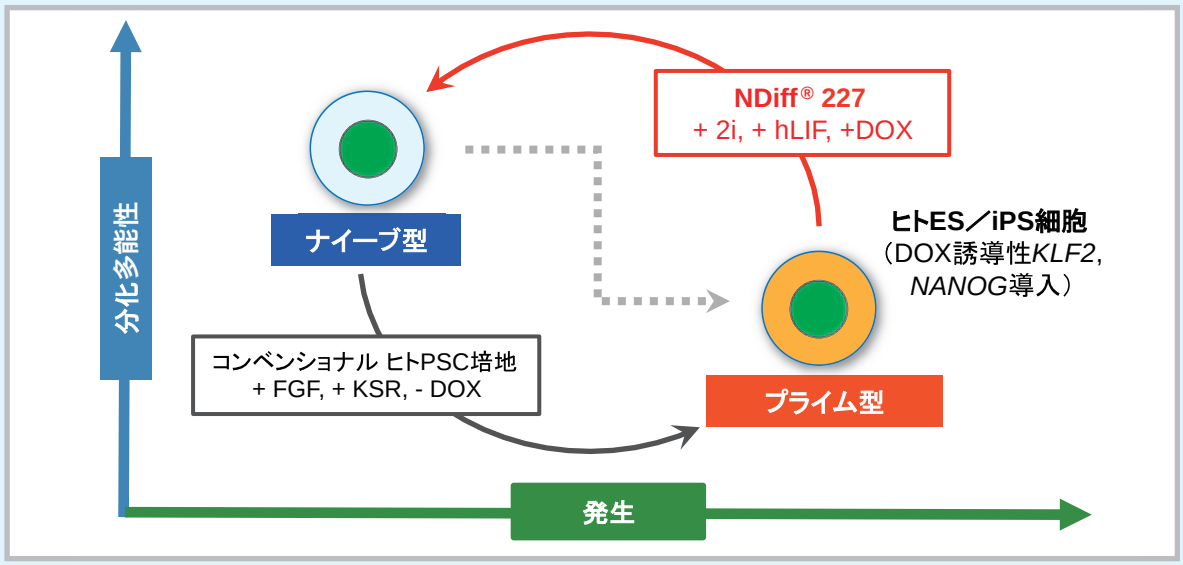


図19. NDiff 227を用いたナイーブ型ヒトES／iPS細胞の維持
DOX誘導性の*KLF2*と*NANOG*を導入したヒトES/iPS細胞（プライム型）を2i、hLIF、DOXを含有するNDiff 227で培養維持することで、ナイーブ型の特徴を有するヒトES/iPS細胞へと可逆的にリセットし維持できた（参考文献6）。

Application

- NDiff® 227培地のみでマウスES細胞を神経細胞へ分化させることができる。（参考文献 1）
- 添加因子を加えることにより、マウスES細胞の無血清、フィーダー細胞非存在下での培養にも使用できる。（参考文献 2）
- 増殖因子を添加することにより、ヒトES細胞の培養（参考文献 3、4）や、Ground StateでのヒトiPS細胞培養（参考文献 6）にも利用できる。
- bFGFを添加することにより、 NDiff® 227培地はマウスES細胞から、肝臓や膵臓へ分化できるADE（Anterior Definitive Endoderm）前駆体を生じることも可能である。（参考文献 5）

参考文献

※文献中には「**N2B27**」と表記されています。

1. Ying QL, *et al*, Conversion of embryonic stem cells into neuroectodermal precursors in adherent monoculture. *Nature Biotechnology*. 2003; **21**:183-186.
2. Ying QL, *et al*, BMP induction of Id proteins suppresses differentiation and sustains embryonic stem cell self-renewal in collaboration with STAT3. *Cell*. 2003; **115**:281-292.
3. Li Y, *et al*, Expansion of Human Embryonic Stem Cells in Defined Serum Free Medium Devoid of Animal Derived Products. *Biotechnology and Bioengineering*. 2005; **91**:688-698.
4. Yao S, *et al*, Long term self renewal and directed differentiation of human embryonic stem cells in chemically defined conditions. *PNAS*. 2006; **103**(18):6907-6912.
5. Morrison G, *et al*, Anterior Definitive Endoderm from ESCs reveals a role for FGF signaling. *Cell Stem Cell*. 2008; **3**:402-415.
6. Takashima Y, *et al*, Resetting transcription factor control circuitry toward ground-state pluripotency in human. *Cell*. 2014 Sep; **158**(6):1254-1269.

Xeno-Freeのヒト間葉系幹細胞用培地

Cellartis® MSC Xeno-Free Culture Medium

- 動物由来成分を含まない（Xeno-Free）
- プレートコーティング剤不要（※）
- 優れた細胞増殖を実現
- 未分化状態を維持した培養が可能

※プレートコーティング剤として RetroNectin®（製品コード T100A/B）またはフィブロネクチン（ヒト）を使用することで、増殖性などを高く維持できる場合があります。

製 品 名	内 容	容 量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® MSC Xeno-Free Culture Medium	MSC Xeno-Free Basal Medium ： 475 ml MSC Xeno-Free Supplement ： 25 ml	1 Kit	Y50200	¥49,800

【コーティング剤フリーでの各種間葉系幹細胞（MSC）の長期維持培養】

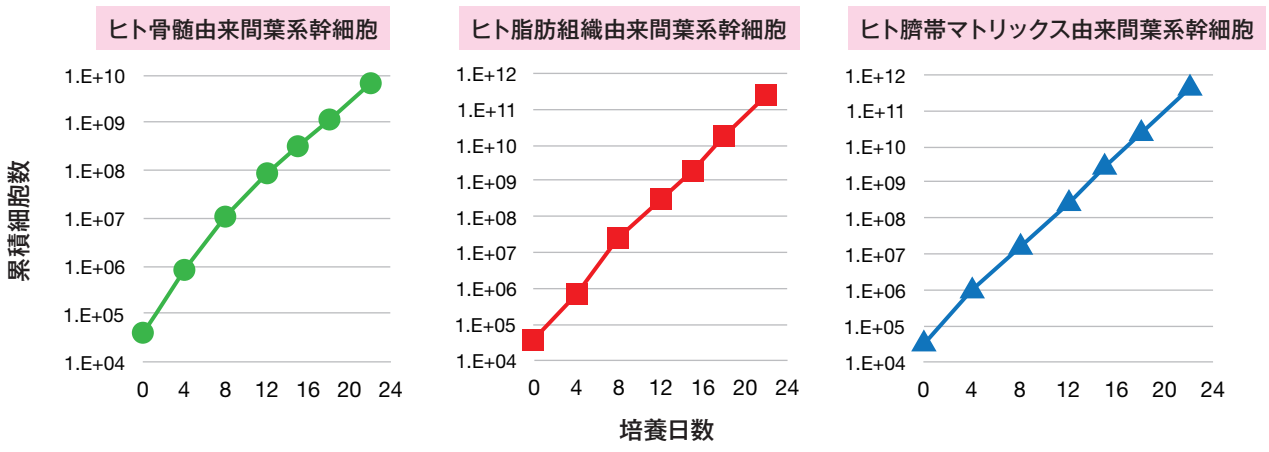


図20.
本製品を用いて骨髄、脂肪組織、臍帯マトリックス由来の凍結ヒト間葉系幹細胞を22日間培養した。いずれの細胞も高い増殖性を示した。

【間葉系幹細胞（MSC）の分化誘導実験】

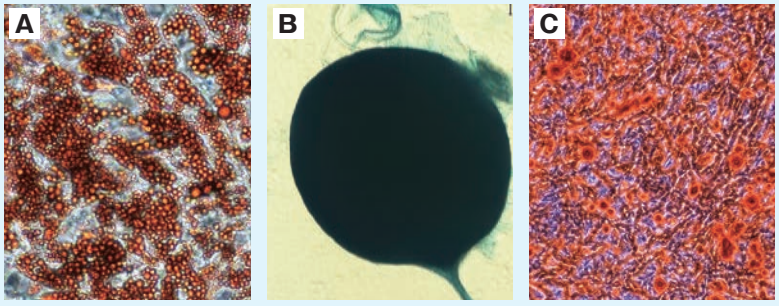


図21.
本製品を用いてコーティング剤フリーで培養したヒト骨髄由来間葉系幹細胞の分化誘導実験を行った。

（A）脂肪細胞分化培地2（製品コード C-28016）により脂肪細胞へ分化誘導した細胞のOil Red O染色

（B）軟骨細胞分化培地（製品コード C-28012）により軟骨細胞へ分化誘導した細胞のAlcian Blue染色

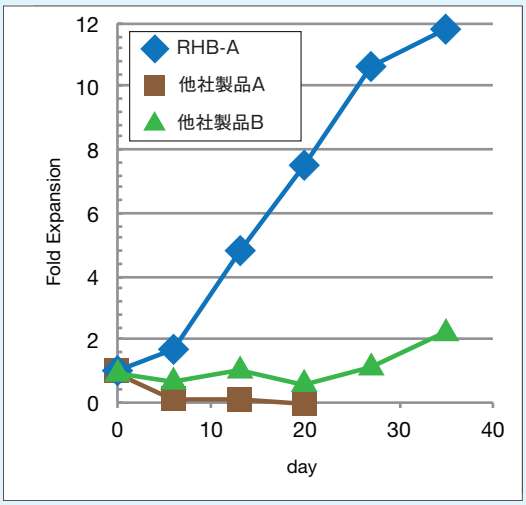
（C）骨芽細胞分化培地（製品コード C-28013）により骨芽細胞へ分化誘導した細胞のAlizarin Red S染色

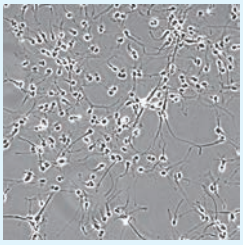
RHB-A®

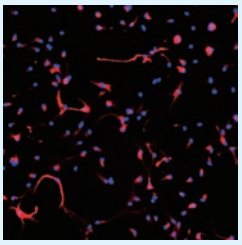
容　量	製品コード	価格（税別）
500 ml	Y40001	¥43,000

● マウス・ヒトの神経幹（NS）細胞の維持や神経分化に適した完全合成無血清培地

【RHB-A®を用いたHuman Neural Cortex Stem Cell Lineの長期培養】







DAPI / Nestin

図22.
Human Neural Cortex Stem Cell LineをRHB-Aを用いて培養した。増殖能および未分化状態（Nestin発現）を維持していることが確認できた。

Application

- EGFやFGF-2を加えて、グリオーマ神経幹細胞株の増殖に使用できる報告もある。（参考文献 6）
- 増殖因子を加えずに本培地で神経幹細胞を接着培養すると、神経細胞に機能的に分化させることができる。（参考文献 1）
- *in vitro*でのヒト脳の器官初代培養において、放射状グリア由来の神経幹細胞の拡大培養や分化にも使用できる。（参考文献 9）

参考文献

1. Sun Y, *et al*, Long-term tripotent differentiation capacity of human neural stem (NS) cells in adherent culture. Molecular and Cellular. *Neuroscience. 2008*; **38**:245-258.
2. Conti L, *et al*, Niche-Independent symmetrical selfrenewal of a mammalian tissue stem cell. *PLoS Biology*. 2005; **3**(9): e283.
3. Pollard SM, *et al*, Adherent Neural Stem (NS) cells from fetal and adult forebrain. *Cerebral Cortex*. 2006; **16**:112-120.
4. Ying QL, *et al*, Conversion of embryonic stem cells into neuroectodermal precursors in adherent monoculture. *Nature Biotechnology*. 2003; **21**:183-186.
5. Pollard SM, *et al*, Fibroblast growth factor induces a neural stem cell phenotype in foetal forebrain progenitors and during embryonic stem cell differentiation. *Mol Cell Neurosci*. 2008; **38**(3):393-403.
6. Pollard SM, *et al*, Glioma stem cell lines expanded in adherent culture have tumor specific phenotypes and are suitable for chemical and genetic screens. *Cell Stem Cell*. 2009; **4**:568-580.
7. Diogo MM, *et al*, Optimization and integration of expansion and neural commitment of mouse embryonic stem cells. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2008; **49**:105-112.
8 Abranches E, *et al*, Neural differentiation of embryonic stem cells in vitro: A road map to neurogenesis in the embryo. *PLoS ONE*. 2009; **4** (7): e6286.
9. Hansen DV, *et al*, Neurogenic radial glia in the outer subventricular zone of human neocortex. *Nature*. 2010; **464**(7288):554-561.

神経分化用培地／添加剤／神経幹細胞キット

RHB-Basal™

容　量	製品コード	価格（税別）
500 ml	Y40000	¥27,000

● **増殖因子や神経細胞用の添加因子を含まない無血清基本培地**

Application

- ◆ マウス・ヒト神経幹（NS）細胞の接着培養での維持、拡大培養
- ◆ マウスES細胞の単層培養での神経分化
- ◆ マウスES細胞、胎児・成体組織からの神経幹（NS）細胞の誘導
- ◆ マウス・ヒト神経幹（NS）細胞の神経細胞への分化
- ◆ グリオーマ神経幹（GNS）細胞株の維持、拡大培養

ヒト・マウスES細胞や神経幹細胞の培養に適した培地添加剤

NDiff® N2／NDiff® N2-AF

製　品　名	容　量	製品コード	価格（税別）
NDiff® N2	5 ml	Y40100	¥33,000
NDiff® N2-AF	5 ml	Y40110	¥45,000

● **Bottensteinらの組成に基づく。**
● **マウスES細胞が単層培養条件下で神経細胞へ分化するように至適化**
● **無血清、フィーダーフリー培養条件下でマウス、ヒト神経幹（NS）細胞やマウスES細胞の誘導、維持、培養に使用可能**

ヒト胎児脳組織由来の神経幹細胞とRHB-A®で構成したキット

Human Neural Stem Cell Line Kit

製　品　名	由　来	容　量	製品コード	価格（税別）
Human Neural Cortex Stem Cell Line Kit	Cortex（皮質）	1 Kit	Y40050	¥220,000
Human Neural Hindbrain Stem Cell Line Kit	Hindbrain（後脳）	1 Kit	Y40060	¥220,000
Human Neural Mid Forebrain Stem Cell Line Kit	Mid Forebrain（中、前脳）	1 Kit	Y40070	¥220,000
Human Neural Spinal Cord Stem Cell Line Kit	Spinal Cord（脊髄）	1 Kit	Y40080	¥220,000
Human Neural Temporal Lobe Stem Cell Line Kit	Temporal Lobe（側頭葉）	1 Kit	Y40090	¥220,000

【Human Neural Cortex Stem Cellの分化誘導前後の様子】

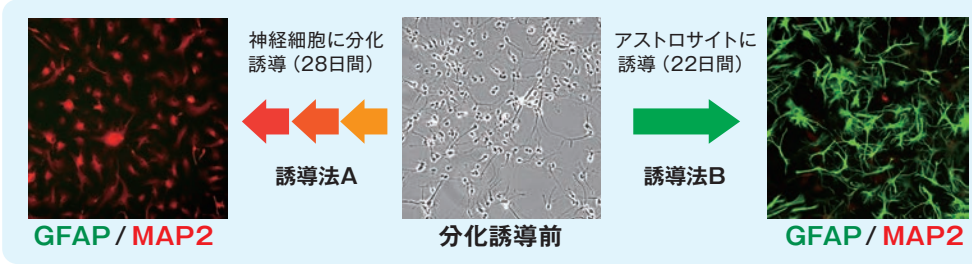


図23.
RHB-Aを用いて長期間培養したhNSC（Cortex）を、RHB-A（RHB-Basal）をベースとした分化培地によりそれぞれ28日間（分化誘導法A）、22日間（分化誘導法B）分化誘導することで、MAP2陽性細胞（神経細胞／左図）、GFAP陽性細胞（アストロサイト／右図）をそれぞれ取得した。

Application

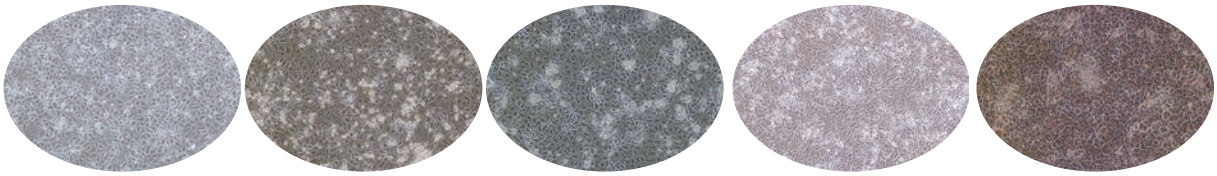
- ◆ 接着単層での拡大培養
- ◆ 接着単層培養での神経分化
- ◆ 生物学的、機能的神経分化の特性の研究
- ◆ 化合物のライブラリースクリーニング

ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導システム

Cellartis® iPS Cell to Hepatocyte Differentiation System

- iPS細胞⇒胚体内胚葉（DE）細胞⇒肝細胞への分化誘導を可能にするオールインワンキット
- 25種類以上のヒトiPS／ES細胞株にて肝細胞への分化誘導を確認
- 分化した肝細胞は高純度かつCYP活性を有し、長期毒性試験やウイルス感染試験に最適

iPS cells ≫ 胚体内胚葉 Day 7 ≫ 腹側前腸 Ventral Foregut Day 8–10 ≫ 肝芽細胞 Hepatoblast Day 11–14 ≫ Fetal-like Hepatocyte Day 15–20 ≫ Hepatocyte Day 21–



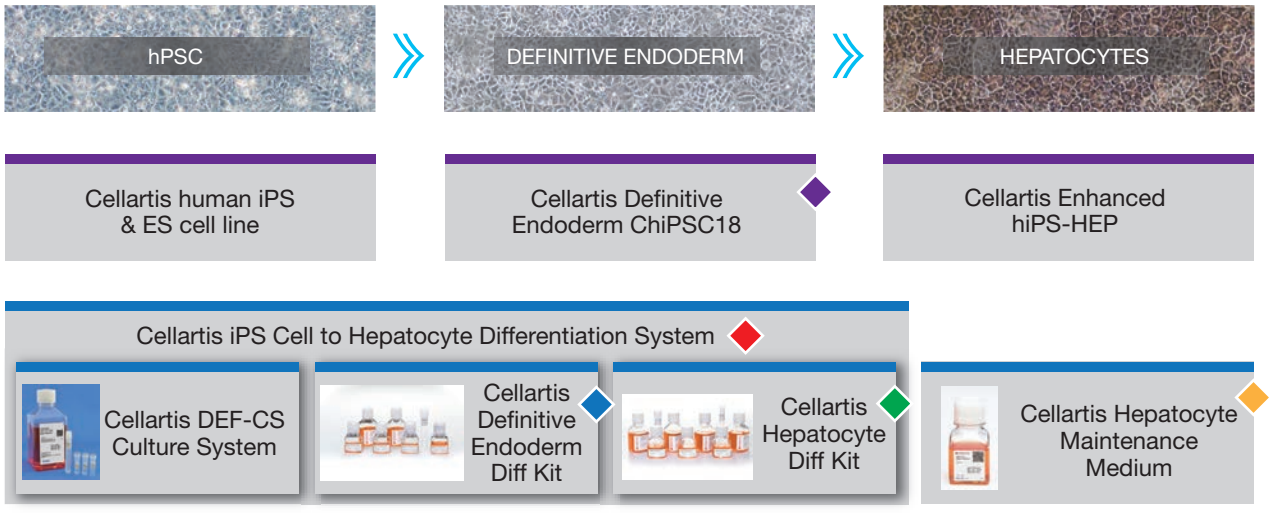
多能性幹細胞は、肝細胞への分化に適したサイトカインなどの液性因子を作用させることにより、各段階を経て肝細胞へ分化することが知られています。

この複雑な分化誘導工程を効率よく簡便に行うことができるシステムを用意しました。

タイプ		製 品 名	容 量	製品コード	価格（税別）
◆	iPS細胞から肝細胞への分化誘導キット	**Cellartis® iPS Cell to Hepatocyte Differentiation System ※**	1 Kit	Y30055	¥138,000
◆	iPS細胞からDE細胞への分化誘導キット	**Cellartis® Definitive Endoderm Differentiation Kit with DEF-CS™ Culture System**	1 Kit	Y30035	¥57,000
◆	DE細胞から肝細胞への分化誘導キット	**Cellartis® Hepatocyte Differentiation Kit**	1 Kit	Y30050	¥86,000
◆	Y30050のコンポーネントの別売り	**Cellartis® Hepatocyte Maintenance Medium**	50 ml×2	Y30051	¥25,000
◆	胚体内胚葉細胞	**Cellartis® Definitive Endoderm Cells (from ChiPSC18)**	1 vial (6×10^6 cells)	Y10040	¥67,000

※本製品にはiPS細胞用の維持培地、分化誘導用培地、コーティング剤が含まれており、3×10^6個のiPS細胞から5×10^6個の肝細胞が作製できます。

◇製品を使用したiPS細胞から肝細胞への分化誘導フロー◇



ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導システム

（前ページから続く）

分化誘導の流れ

iPS細胞をDEF-CS™ Culture Systemへ移行 → iPS細胞を 3×10^6 cells用意 → 約7.5×10^6 cells（75 cm^2）のDE細胞に分化 → 約5×10^6 cells（24 well plate 1枚分）の肝細胞に分化

【胚体内胚葉細胞 Cellartis® Definitive Endoderm Cells (from ChiPSC18) の免疫染色】

※Cellartis Definitive Endoderm Cells (from ChiPSC18)は、Cellartis human iPS cell line 18からCellartis Definitive Endoderm Differentiation Kitを用いて分化誘導した胚体内胚葉細胞です。

図24.
Cellartis Definitive Endoderm Cells (from ChiPSC18) を2日間培養した後、胚体内胚葉マーカーSOX17と未分化マーカーOCT4の免疫染色を行った。その結果から、90%以上の細胞が胚体内胚葉細胞であることが確認できた。

【胚体内胚葉細胞から肝細胞への分化誘導 (Cellartis® Hepatocyte Differentiation Kitを使用)】

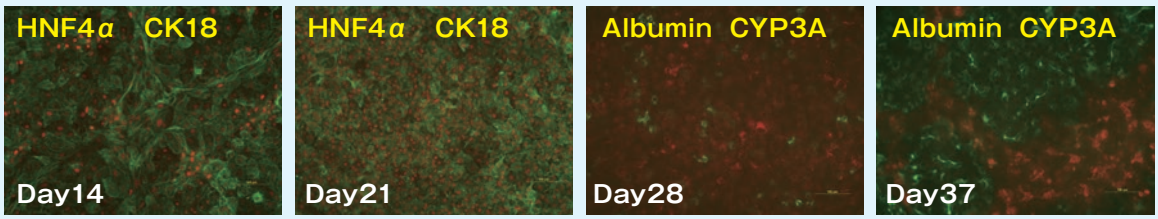


図25.
Cellartis Definitive Endoderm Cells (from ChiPSC18) とCellartis Hepatocyte Differentiation Kitを使用して分化誘導した肝細胞を肝マーカー抗体にて免疫染色した結果、培養14日目、21日目においてHNF4α（赤）、CK18（緑）の高い発現が確認できた。
28日目からはCYP3A（赤）、アルブミン（緑）の発現がみられ、37日目ではmetabolic zonation（代謝機能の領域特異性）がみられた。

【肝細胞への分化誘導過程における遺伝子発現プロファイリング】

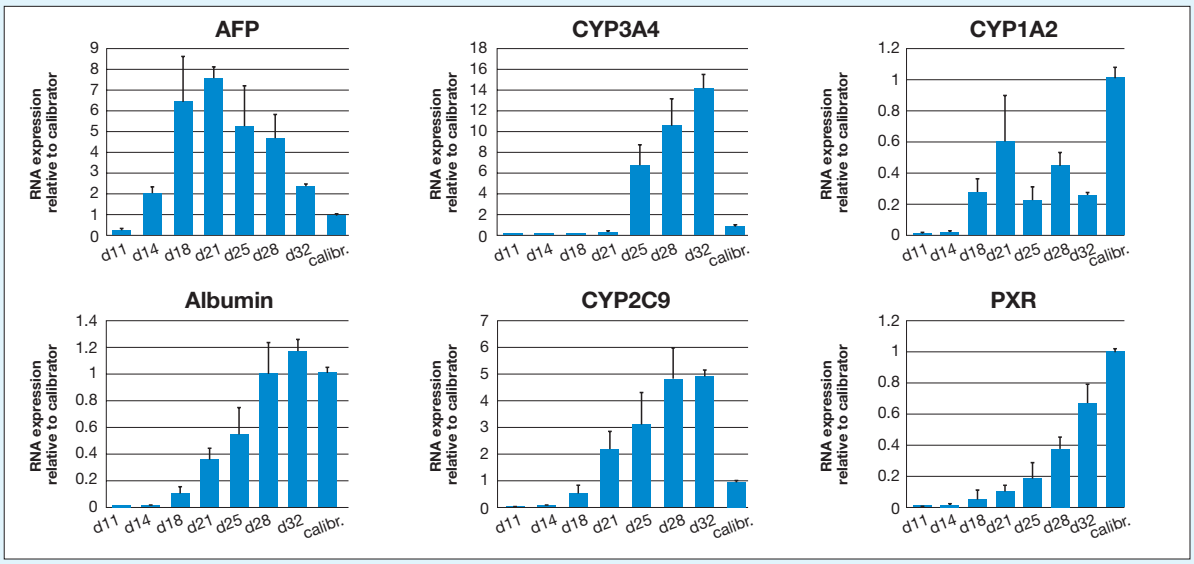


図26.
Cellartis Definitive Endoderm Cells (from ChiPSC18) とCellartis Hepatocyte Differentiation Kitを使用して分化誘導した肝細胞について、肝マーカー遺伝子とCYP遺伝子のmRNA発現量をRT-qPCRで解析した。その結果、11日目から32日目にかけて肝細胞へ分化していることが確認できた。

ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導システム （前ページから続く）

【Cellartis® iPS Cell to Hepatocyte Differentiation Systemを用いて分化誘導した肝細胞のCYP活性】

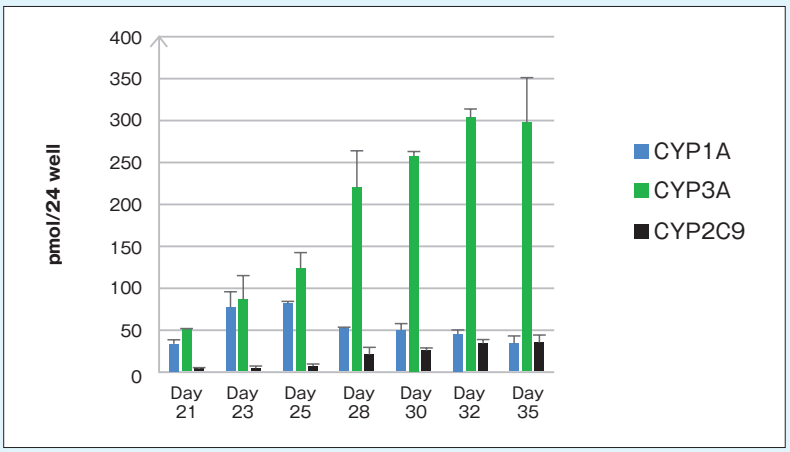


図27.
Cellartis Definitive Endoderm Cells（from ChiPSC18）とCellartis Hepatocyte Differentiation Kitを使用して分化誘導した細胞のCYP活性を測定した。その結果、21日目から35日目にかけてCYP1A、CYP3A、CYP2C9の活性が認められた。

参考文献

25種のヒトiPS／ES幹細胞株にて肝細胞への分化誘導を確認した報告です。

・Annika A, *et al*, One Standardized Differentiation Procedure Robustly Generates Homogenous Hepatocyte Cultures Displaying Metabolic Diversity from a Large Panel of Human Pluripotent Stem Cells.
Stem Cell Rev. 2016 Feb; **12**(1): 90-104.

関連製品

肝細胞分化状態のモニタリングに最適なツール

多能性幹細胞から肝細胞への分化誘導状態を様々な指標で評価することができます。

指標	製 品 名	容 量	製品コード	価格（税別）
ミトコンドリアDNA（下記参考文献）	**Human Mitochondrial DNA (mtDNA) Monitoring Primer Set**	50回	7246	¥35,000
肝細胞分化時に発現変動のある88種類の遺伝子	**PrimerArray® Hepatic Differentiation (Human)**	1 Set	PH017	¥68,000
初期段階の指標であるαフェトプロテイン	**Anti-Human Alpha Fetoprotein, Monoclonal** IHC WB	0.1 mg	M225	¥66,000
	Human Alpha Fetoprotein (AFP) EIA Kit ※	96回	MK151	¥111,000
成熟過程の指標であるヒトアルブミンタンパク質	**Anti-Human Albumin, Monoclonal (Clone hAlb 3-7A)** IHC WB	0.1 mg	M226	¥66,000
	Human Albumin EIA Kit ※	96回	MK132	¥110,000

※培養上清中のAFP、Albumin量を測定できます。

参考文献

iPS細胞等の多能性幹細胞から肝細胞方向への分化・誘導過程でmtDNAコピー数が増加することが報告されています。

・Yu Y, *et al*, Hepatocyte-like cells differentiated from human induced pluripotent stem cells: relevance to cellular therapies.
Stem Cell Research 2012 Nov; **9**(3): 196-207.

ヒト初代肝細胞の長期間維持培地

Cellartis® Power™ Primary HEP Medium

- ヒト初代肝細胞を2D培養下で4週間維持培養が可能
- 培地交換は2日に1回、土曜・日曜の培地交換は不要
- 長期間維持後の肝細胞においても、薬物代謝機能、薬物誘導能などの各種機能を保持
- 長期間の毒性試験や薬物代謝試験への利用にも最適

製 品 名	容 量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® Power™ Primary HEP Medium	250 ml	Y20020	¥53,000

※別途、ラット尾由来Collagen I（Corning社, Cat. No. 354236など）またはCollagen Iコートプレート（Corning社, BioCoatなど）が必要です。

【培養28日目の初代肝細胞の顕微鏡像】

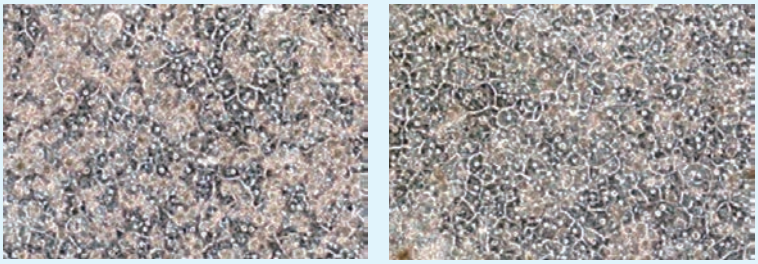


図28.
ドナーの異なる2種類の初代肝細胞を、Cellartis Power Primary HEP Mediumで28日間培養した。顕微鏡像から、細胞の良好な状態が確認できた。

【長期培養した初代肝細胞中のATP量推移】

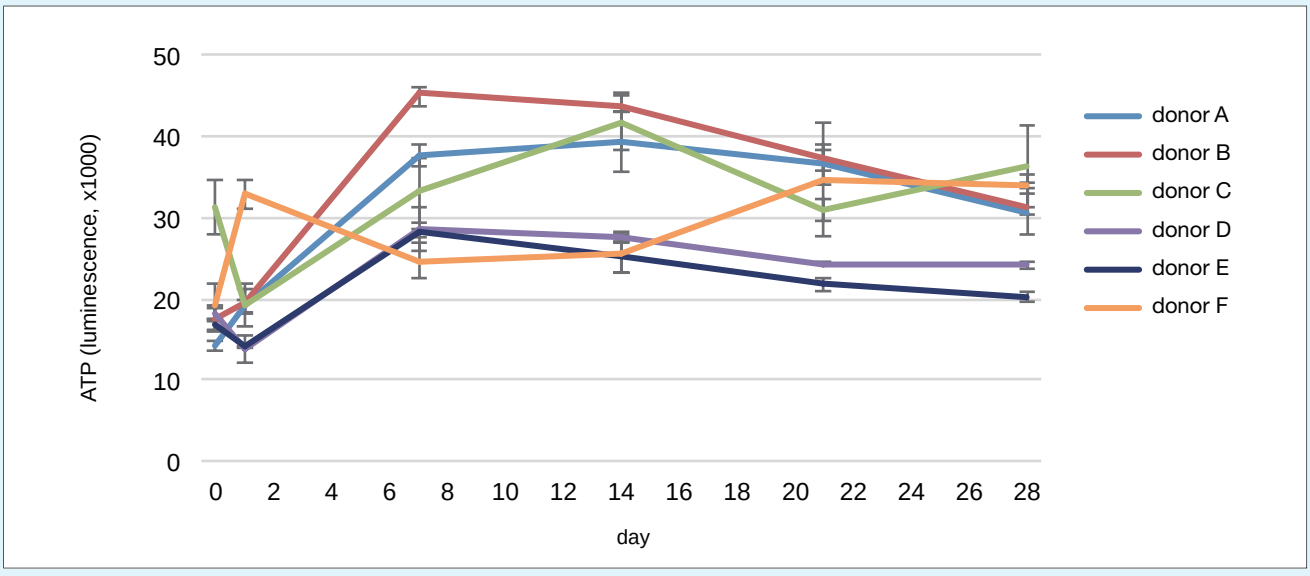


図29.
ドナーの異なる6種類の初代肝細胞をCellartis Power Primary HEP Mediumで28日間培養したところ、培養期間を通じて培養開始初期と同等以上の細胞中ATP量（生細胞）の維持が確認された。

ヒト初代肝細胞の長期間維持培地

（前ページから続く）

【長期培養における初代肝細胞中のCYP活性推移】

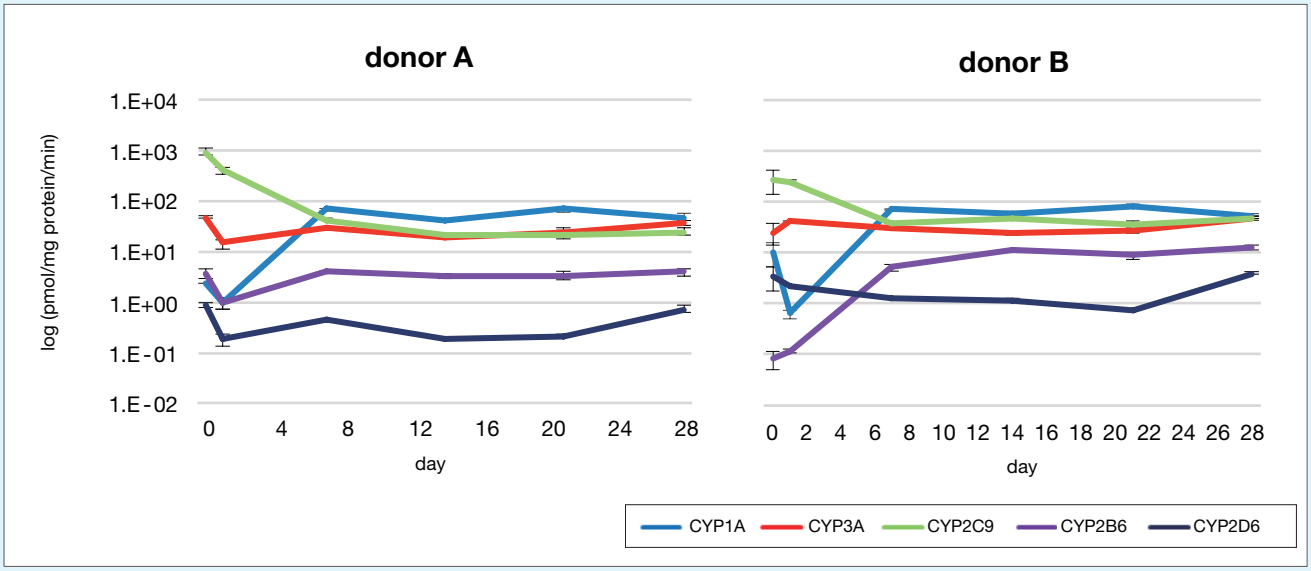


図30.
ドナーの異なる2種類の初代肝細胞をPower Primary HEP Mediumで28日間培養したところ、培養期間を通じて一定値以上のCYP活性を保持していることが確認できた。

【長期培養した初代肝細胞のCYP誘導能】

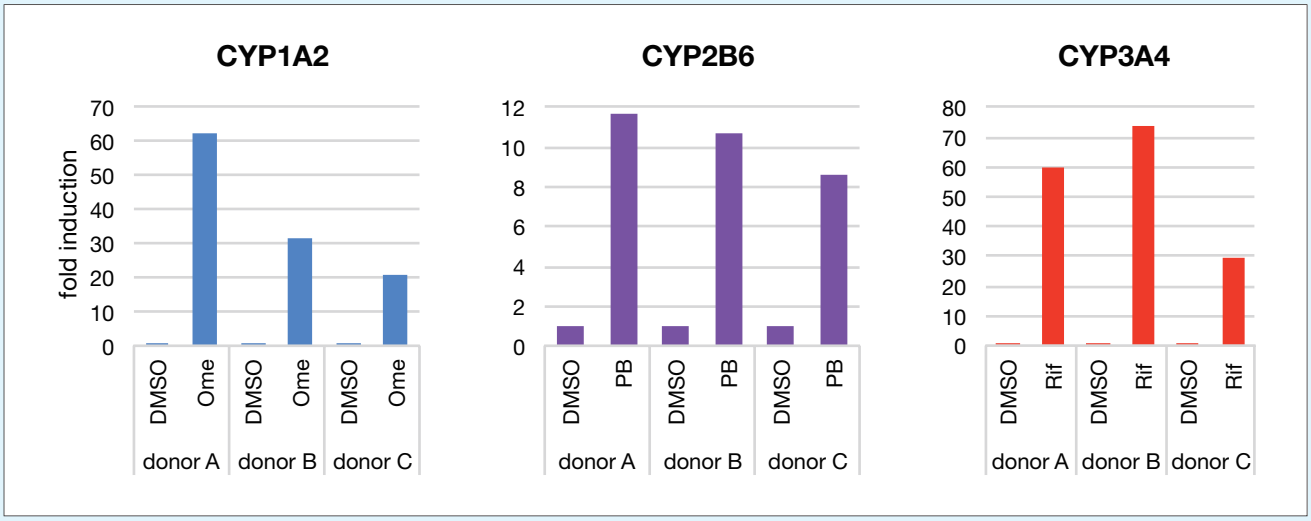


図31.
ドナーの異なる3種類の初代肝細胞をPower Primary HEP Mediumで26日間培養した。3種のCYP（1A2、2B6、3A4）について各誘導剤*を添加してさらに2日間培養したところ、CYP活性の上昇がみられ、薬物誘導能が維持されていることが確認できた。

*使用したCYP誘導剤
1A2 - Ome　：　omeprazole
2B6 - PB　：　phenobarbital
3A4 - Rif　：　rifampicin

細胞関連抗体

神経系細胞関連抗体

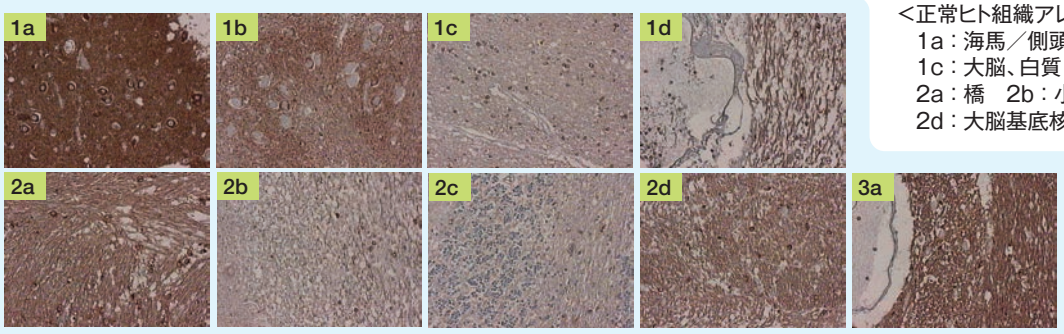
● 免疫組織染色、免疫蛍光染色に利用可能　● 移植後のヒト細胞の検出に有用

製品名	特異性	用途	サブクラス	容量	製品コード	価格（税別）
STEM101®	ヒトKu80細胞核マーカーと反応するマウスモノクローナル抗体。脳を含むさまざまなヒト組織の細胞に反応	IHC、IF	IgG_1	50 μg	Y40400	¥32,000
STEM121®	ヒト細胞の細胞質内タンパク質（※）と反応するマウスモノクローナル抗体 ※ヒトの脳、肝臓、膵臓を含むさまざまな組織の細胞に存在。特に中枢神経系細胞で最もよく発現	IHC、IF	IgG_1	50 μg	Y40410	¥32,000
STEM123®	ヒトGFAP（※）と反応するマウスモノクローナル抗体 ※グリア細胞線維性酸性タンパク質:アストロサイトやアストログリア系の細胞に高発現している。	IHC、IF	IgG_1	50 μg	Y40420	¥32,000

Application

- ◆ STEM121®、STEM101®はマウスやラットに移植されたヒト細胞の生着、移行（移走）や分化の検出に使用可能
- ◆ STEM123®はマウスやラットに移植されたヒト神経幹細胞に由来するアストロサイトの検出に使用可能

【STEM121®を用いたアプリケーション例】



<正常ヒト組織アレイの詳細>
1a：海馬／側頭皮質　1b：延髄
1c：大脳、白質　1d：小脳、白質
2a：橋　2b：小脳、白質　2c：小脳、皮質
2d：大脳基底核／内包　3a：橋

図32.
正常ヒト組織アレイTissue Microarray Human Normal Tissue (Normal Adult Brain)（製品コード 401 1210）を用いて、STEM121による免疫組織染色を行った。2次抗体にはTaKaRa POD Conjugate Anti Mouse, For Tissue（製品コード MK204）、TaKaRa DAB Substrate（製品コード MK210）を使用した。
その結果、脳組織の多くの部位で細胞質タンパク質が確認でき、特に海馬では発現が高いことが確認できた。

ヒトES／iPS細胞関連抗体

● 免疫染色、フローサイトメトリー、磁気細胞分離に利用可能

製品名	特異性	用途	サブクラス	容量	製品コード	価格（税別）
hES-Cellect™	ヒトES細胞およびヒトiPS細胞と反応する。	ICC、FCM MCS	IgG_1	150 μg	Y20010	¥95,000
ES-Cellect™	ヒトES細胞、ヒトiPS細胞、マウスES細胞と反応する。	ICC、FCM MCS	—	150 μg	Y20011	¥95,000
hFF-Cellect™	ヒト包皮線維芽細胞（Human Foreskin Fibroblast：hFF）と反応する。	ICC、FCM MCS	—	150 μg	Y20012	¥95,000

Application

- ◆ フィーダー細胞や分化した細胞から、磁気分離またはセルソーターを用いてヒトES細胞やヒトiPS細胞の分離が可能
  - −hES-Cellect™は、ヒト幹細胞に利用可能
  - −ES-Cellect™は、ヒトおよびマウスの幹細胞に利用可能
  - −hFF-Cellect™は、ヒトフィーダー細胞の有無の確認や、ヒトiPS細胞誘導時にリプログラミングされなかった線維芽細胞の同定に利用可能

関連製品　～iPS細胞株、iPS細胞由来分化細胞　他～

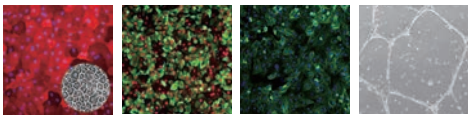
■ ヒトiPS細胞株

- 各細胞のドナー情報、核型、分化誘導能などをウェブカタログの製品ページにて公開中
- 遺伝子解析のインフォームドコンセントを取得済み

製　品　名	製品説明	容　量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® human iPS cell line 12 (ChiPSC12) Kit ラ 営	ドナーの異なる6種類のヒトiPS細胞株をラインナップ。専用培地DEF-CS Culture System（サンプルサイズ）を添付	1 Kit	Y00285	¥340,000
Cellartis® human iPS cell line 18 (ChiPSC18) Kit ラ 営		1 Kit	Y00305	¥340,000

ラ ご購入に際してライセンス確認書が必要となります。　営 営利施設の場合、ご購入前にライセンス（有償）を取得する必要があります。

■ ヒトiPS細胞由来分化細胞



- 初代細胞では安定確保が困難な体細胞を複数ラインナップ！
- 毒性試験、薬剤スクリーニング、再生医療研究などに

製　品　名	製品説明	容　量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® Enhanced hiPS-HEP v2 (from ChiPSC18) Kit	ヒトiPS細胞由来肝細胞。バージョンUPにより長期の培養が可能になり、薬剤代謝酵素活性、アルブミン発現量、グリコーゲン蓄積能がヒト初代肝細胞に近似。由来iPS細胞と薬物代謝特性の異なる3種の細胞をラインナップ	1 Kit	Y10134	¥250,000
Cellartis® hiPS Beta Cells (from ChiPSC12) Kit	ヒトiPS細胞由来膵β細胞。インスリンやC-ペプチドなどを高発現。由来iPS細胞の異なる2種の細胞をラインナップ	1 Kit	Y10100	¥200,000
MiraCell® Cardiomyocytes (from ChiPSC12) Kit	ヒトiPS細胞由来心筋細胞。自律拍動能を保持し、種々の解析装置による薬理作用・毒性解析が可能	1 Kit	Y50015	¥200,000
MiraCell® Endothelial Cells (from ChiPSC12) Kit	ヒトiPS細胞由来血管内皮細胞。前期・前駆型血管内皮細胞の特性に注目した研究に最適	1 Kit	Y50055	¥180,000

■ ヒトES細胞由来間葉系前駆細胞

製　品　名	製品説明	容　量	製品コード	価格（税別）
Cellartis® hES-MP 002.5	ヒトES細胞由来の間葉系前駆細胞で、成人ヒト間葉系幹細胞（hMSC）に高い類似性を有する。	1 vial	Y10090	¥215,000

■ iPS／ES細胞の培養基質

製造元　株式会社ニッピ　　発売元　株式会社マトリクソーム

製　品　名	製品説明	容　量	製品コード	価格（税別）
iMatrix-511	ラミニン511E8断片の高純度精製品。フィーダーフリー条件下でヒトiPS/ES細胞を効率よく増殖させることが可能	350 μg	892011	¥28,000
		1,050 μg	892012	¥72,000

■ 幹細胞の保存に最適化した凍結保存液

製造元　日本全薬工業株式会社　　発売元　ゼノアックリソース株式会社

製　品　名	製品説明	容　量	製品コード	価格（税別）
STEM-CELLBANKER® GMP grade	ケミカリーディファインドで動物由来成分不含。GMPに準拠した製造および品質管理を実施（★）	100 ml	CB045	¥28,000
		20 ml×4	CB047	¥28,000

★ STEM-CELLBANKER GMP grade は、STEM-CELLBANKER として原薬等登録原簿（マスターファイル）に登録されています。

製品詳細や参考文献等については、タカラバイオウェブカタログをご覧ください。

・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。
・本パンフレットに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。
・本パンフレット記載の価格は2018年4月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

タカラバイオ株式会社

東京支店　TEL 03-3271-8553　FAX 03-3271-7282
関西支店　TEL 077-565-6969　FAX 077-565-6995
テクニカルサポートライン
TEL 077-565-6999　FAX 077-565-6995
ウェブサイト　http://www.takara-bio.co.jp
Facebook　http://www.facebook.com/takarabio.jp

取扱店

2018年4月作成20K