

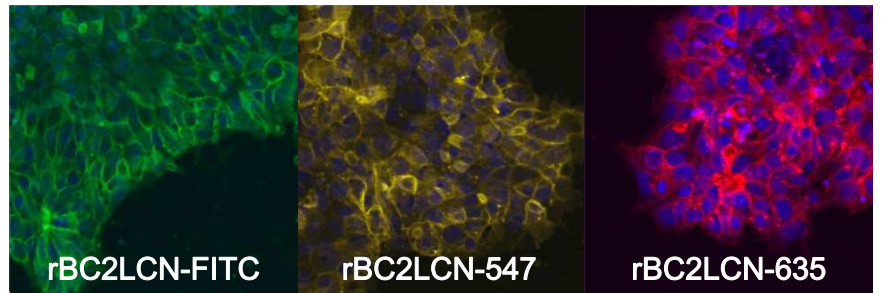
ヒトES/iPS細胞 未分化マーカーレクチン

rBC2LCN シリーズ

rBC2LCNは国立研究開発法人 産業技術総合研究所との共同開発品です。

■ 培地に添加するだけでヒトES/iPS細胞を**染色**可能！

- rBC2LCN-FITC
- rBC2LCN-547
- rBC2LCN-635



(ヒトiPS細胞201B7株)

■ 培地に添加するだけでヒトES/iPS細胞を**除去**可能！

- StemSure® hPSCUΔ-バー (rBC2LCN-PE38)
- rBC2LCN-PE23

添加前

添加24時間後

添加48時間後



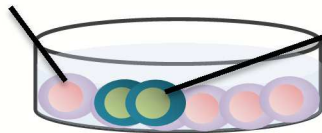
(ヒトiPS細胞とヒトiPS細胞から分化した間葉系幹細胞をrBC2LCN-PE23で処理)

■ 培養液でヒトES/iPS細胞数を**推測**可能！

- ヒトES/iPS細胞モニタリングキット

ヒトES/iPS細胞の 未分化維持培養～分化誘導～精製/純化 の各工程において、rBC2LCN関連製品を使用することができます。

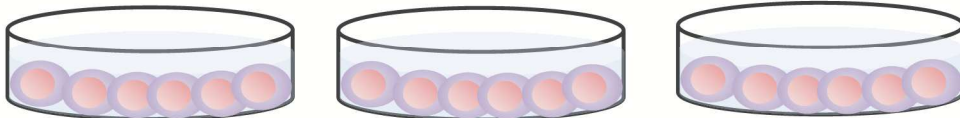
ヒトES/iPS細胞



質の悪いヒトES/iPS細胞

未分化維持培養時の品質管理

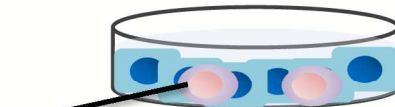
- ☑ rBC2LCN-FITC, -547, -635 (P3~6)
- ☑ ヒトES/iPS細胞モニタリングキット (P13~15)



目的の細胞への分化誘導のモニタリング

- ☑ ヒトES/iPS細胞モニタリングキット (P13~15)

残存未分化細胞



目的細胞の精製/純化 (未分化細胞除去)

- ☑ StemSure® hPSCリムーバー (P9)
- ☑ rBC2LCN-PE23 (P10~12)



目的細胞

rBC2LCN-FITC/-547/-635

rBC2LCN (AiLecS1) は、*Burkholderia cenocepacia* 由来のレクチンであるBC2L-CのN末端ドメインを大腸菌で発現させた組換えレクチンです。rBC2LCNは未分化ヒトES/iPS細胞の細胞表面に存在するムチン様O型糖鎖であるH-type3 (Fucc1-2Galβ1-3GalNAc) に非常に高い特異性を持っています。そのため、未分化ヒトES/iPS細胞のマーカーとして使用することができます。

本品はすでに蛍光標識されており、細胞固定を行わずにヒトES/iPS細胞の培養液に添加するだけで未分化細胞を生きたまま染色することができます（※細胞を固定した状態でも染色可能です）。そのため、未分化細胞検出用のマーカーとして有用です。

特長

- 培地に添加するのみで染色可能
- 細胞固定せず細胞を生きたまま明瞭に染色可能
- 細胞毒性が低く、染色した状態で培養可能
- 染色した細胞から剥離可能

製品概要

- 無菌試験済み（0.1μmフィルター過）
- PBS溶液
- 実用希釈倍率

Live Cell Imaging	1 : 100~1,000
Flow Cytometry	1 : 100~1,000

使用方法

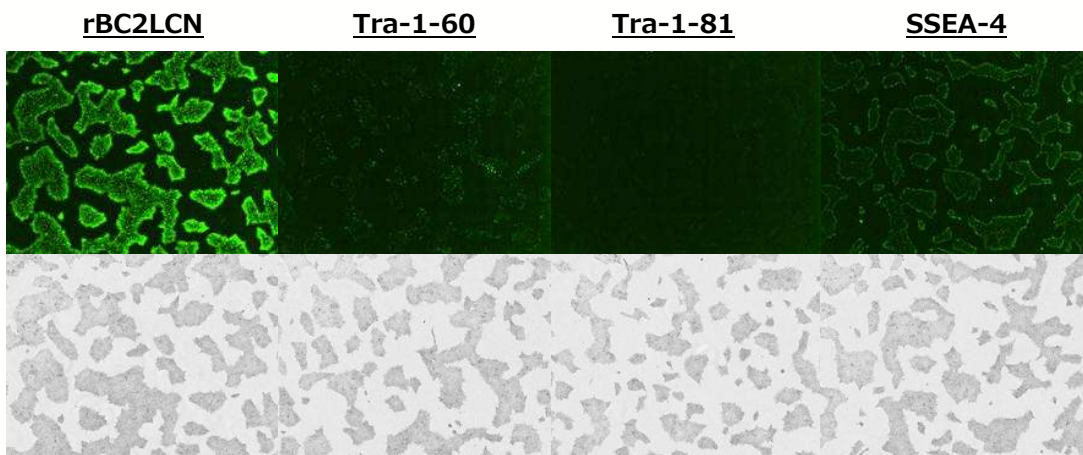
細胞染色	生細胞染色	<ol style="list-style-type: none"> 1. 培養中のヒトES/iPS細胞を準備する。 2. 培養液 1mL あたり、蛍光標識rBC2LCNを 1~10μL 添加する。 3. 37℃、5% CO₂ 下で30分間インキュベートする。 4. 新しい培地あるいはHBSS(+)に交換する。 5. 蛍光顕微鏡などを用いて、観察する。
	固定後細胞染色	<ol style="list-style-type: none"> 1. 培養中のヒトES/iPS細胞を準備する。 2. 培養液を除去し、HBSS(+)で洗浄する。 3. 4% パラホルムアルデヒド溶液（PFA）を添加し、室温で10~20分静置する。 4. PFAを除去後、D-PBS(-)で3回洗浄する。 5. D-PBS(-)を添加する。 6. D-PBS(-) 1mL あたり、蛍光標識rBC2LCNを 1~10μL 添加する。 7. 37℃、5% CO₂ 下で30分間インキュベートする。 8. D-PBS(-)に交換する。 9. 蛍光顕微鏡などを用い、観察する。
フローサイトメトリー		<ol style="list-style-type: none"> 1. 培養中のヒトES/iPS細胞を準備する。 2. 細胞分散溶液を用いて、シングルセルに分散する。 3. 細胞分散液をチューブに移し、1,000rpmで3分間遠心する。 4. 上清を除去後、FCM Buffer*で細胞を懸濁し、遠心後、上清を捨てる。 * FCM Buffer : D-PBS(-)やHBSS(-)、もしくはそれらに 10mmol/L EDTA、1% BSAを含むもの 5. 5×10⁶ cells/mL となるようにFCM Bufferで懸濁する。 6. 細胞懸濁液 1mL あたり、蛍光標識rBC2LCNを 1~10μl 添加する。 7. 遮光して室温で30分間、静置する。 8. 1,000rpmで3分間遠心し、上清を捨てる。 9. FCM Bufferで細胞を懸濁し、遠心後、上清を捨てる。 10. 適量のFCM Bufferで再懸濁する。 11. フローサイトメトリーに供する。

【使用上の注意】

1. rBC2LCNによる染色は、2、3日間は維持されます。
2. 血清を含む培地を使用しているときは、シグナルのバックグラウンドが高くなる可能性があります。
3. フローサイトメトリーにより細胞のソーティングを行う場合は、細胞分散時やFCM Bufferに終濃度 10μmol/L となるように Y-27632を添加してください。

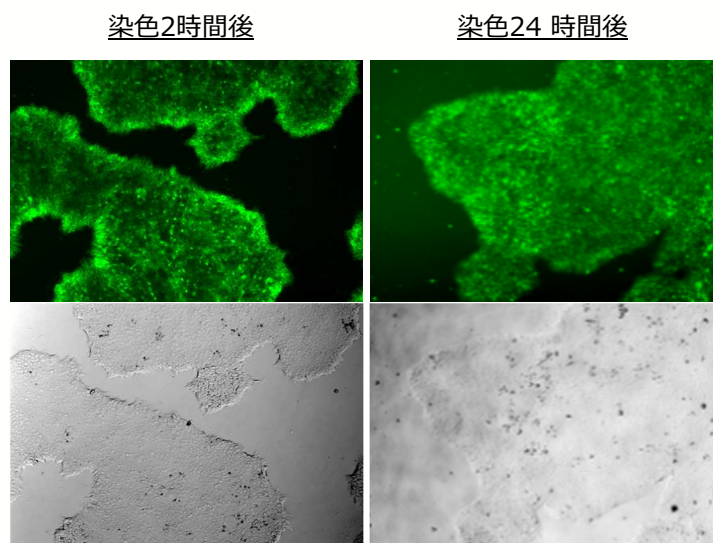
ヒトiPS細胞の生細胞染色 (Live Cell Imaging)

rBC2LCN、Tra-1-60、Tra-1-81、SSEA-4を用いヒトiPS細胞201B7株を固定せずに染色し、染色2時間後の染色像を確認した。rBC2LCNで染色したときが、各抗体で染色したときよりも、明瞭に染色された細胞の蛍光を観察することができた。



(希釈倍率1:100)

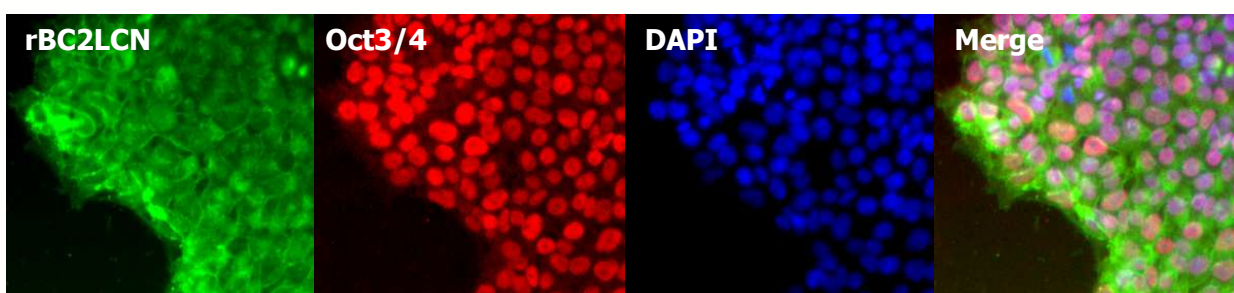
rBC2LCN-FITCを用いてヒトiPS細胞201B7株を固定せずに染色した。染色24時間後でも、蛍光は衰えず明瞭に観察することができた。



(希釈倍率 1:100)

ヒトiPS細胞の固定後染色

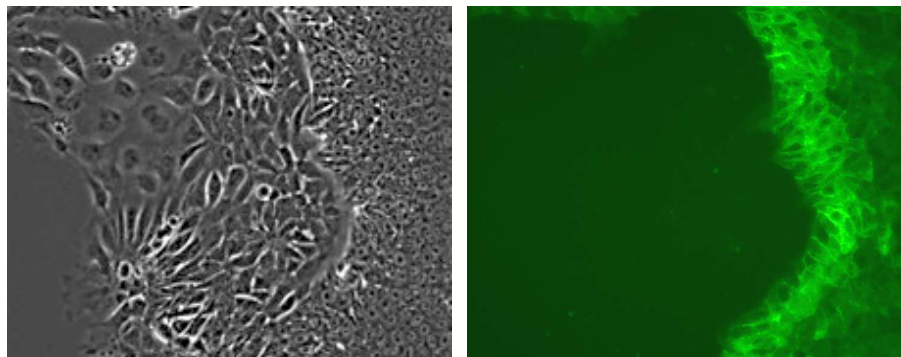
ヒトiPS細胞201B7株をパラホルムアルデヒドで固定後、rBC2LCN と Oct3/4、DAPIを用いて染色した。生細胞染色より明瞭に染色することができた。



(希釈倍率 1:100)

ヒトES細胞の生細胞染色 (Live Cell Imaging)

培養中に部分的に未分化状態を逸脱したヒトES細胞WA01株をrBC2LCN-FITCを用いて染色した。未分化状態を維持している細胞は染色されたが、未分化状態を逸脱した細胞は染色されておらず、それぞれを染め分けることができた。

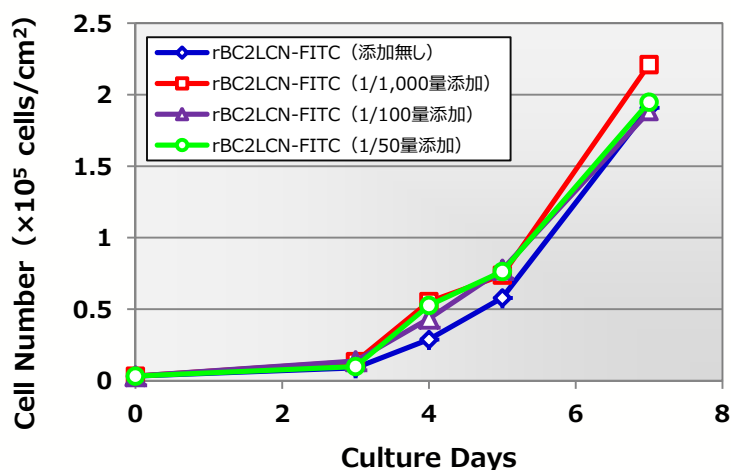


データご提供 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門 幹細胞工学研究グループ 小沼泰子先生、伊藤弓弦先生

ヒトiPS細胞に対する細胞毒性評価

ヒトiPS細胞201B7株の培養液に培養液の1/1,000、1/100、1/50量のrBC2LCN-FITCを添加した状態で培養し続けた。

rBC2LCN-FITCの濃度に関わらず、未添加時と同程度の細胞増殖を示した。また、細胞形態も添加・未添加に関わらず、同等の形態であった。



〔細胞株〕

ヒトiPS細胞201B7株

〔培地組成〕

StemSure® hPSC培地Δ + 35ng/mL bFGF

〔コーティング〕

Matrigel® hESC-Qualified Matrix

〔播種細胞数〕

4×10⁴ cells/well (12ウェルプレートを使用)

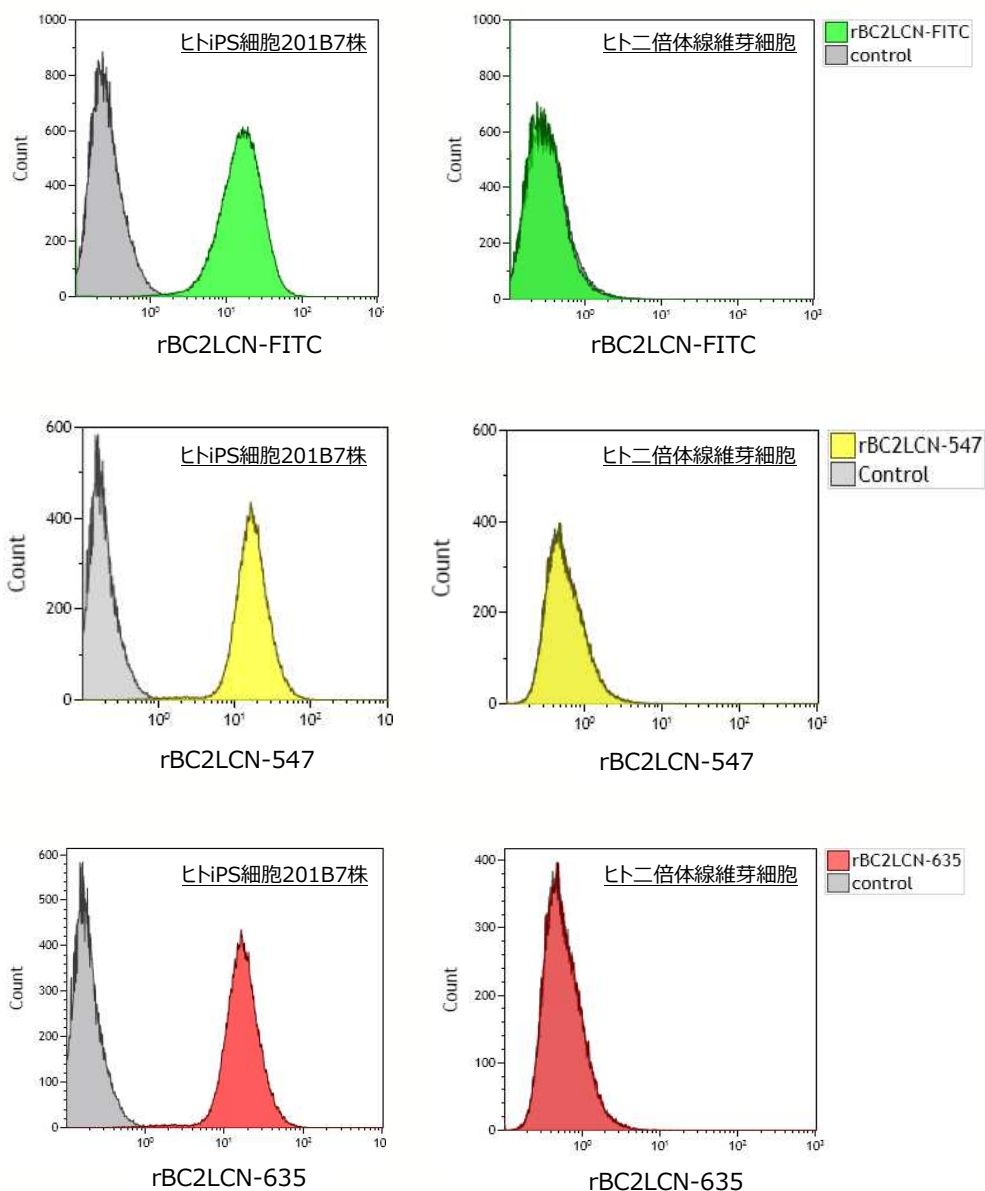
Onuma, Y., Tateno, H., Hirabayashi, J., Ito, Y. and Asashima, M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **431**, 524 (2013).

Tateno, H., Matsushima, A., Hiemori, K., Onuma, Y., Ito, Y., Hasehira, K., Nishimura, K., Ohtaka, M., Takayasu, S., Nakanishi, M., Ikehara, Y., Ohnuma, K., Chan, T., Toyoda, M., Akutsu, H., Umezawa, A., Asashima, M. and Hirabayashi, J.: *Stem Cells Transl. Med.*, **2**, 265 (2013).

Tateno, H., Onuma, Y., Ito, Y., Hiemori, K., Aiki, Y., Shimizu, M., Higuchi, K., Fukuda, M., Warashina, M., Honda, S., Asashima, M. and Hirabayashi, J.: *Sci. Rep.*, **4**, 4069 (2014).

Flow Cytometryを用いたヒトiPS細胞の分離

rBC2LCN-FITC 及び rBC2LCN-547、rBC2LCN-635 を用いてヒトiPS細胞201B7株及びヒト正常二倍体線維芽細胞を染色し、フローサイトメトリーに供した。その結果、未分化細胞であるヒトiPS細胞と分化細胞であるヒト二倍体線維芽細胞を分離できた。



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
029-18061 025-18063	BC2LCN [AiLecS1] Lectin, recombinant, Solution	F ^o 糖鎖研究用	1mg 1mg×5	30,000 照会
180-02991 186-02993	rBC2LCN-FITC [AiLecS1-FITC] Excitation 495nm, Emission 520nm	F ^o 細胞染色用	100μL 100μL×5	20,000 80,000
186-03211	rBC2LCN-547 [AiLecS1-547] Excitation 551nm, Emission 565nm	F ^o 細胞染色用	100μL	30,000
185-03161 181-03163	rBC2LCN-635 [AiLecS1-635] Excitation 634nm, Emission 654nm	F ^o 細胞染色用	100μL 100μL×5	30,000 120,000

rBC2LCNストリッピング溶液

本品は、ヒトES/iPS細胞の細胞膜表面に存在する糖鎖と結合したrBC2LCNレクチンを強制的に細胞から剥離させることができます。rBC2LCN剥離後、細胞を他の抗体で染色することに加え、毒性が低いため培養を継続することが可能です。

特長

- rBC2LCNを剥離させることが可能
- そのまま使用可能（調製不要）
- 細胞毒性が低い
- 無菌試験済み

使用方法

rBC2LCN 剥離

1. rBC2LCNで染色されたヒトES/iPS細胞を準備する。
2. 培養液を除去し、rBC2LCNストリッピング溶液を希釈せずにそのまま添加する。
3. 37℃、5% CO₂下で10～30分間インキュベートする。
4. rBC2LCNストリッピング溶液を除去し、新しい培地を添加する。
5. 培養を続ける、もしくはほかの抗体で染色する。

ヒトiPS細胞表面に結合したrBC2LCN-FITCの剥離

ヒトiPS細胞201B7株の培養液に1/100量のrBC2LCN-FITCを添加し、35分間染色した。培養液除去後、rBC2LCNストリッピング溶液を添加し、30分間インキュベートした。また、rBC2LCN-FITC添加35分後の細胞とrBC2LCNストリッピング溶液添加30分後の細胞をフローサイトメトリーに供した。

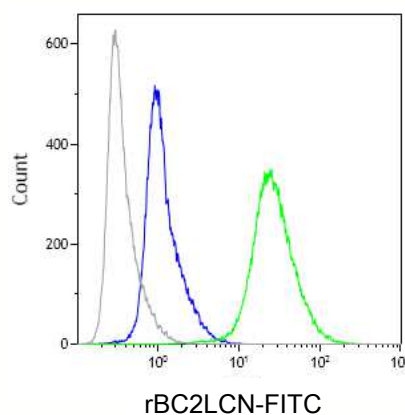
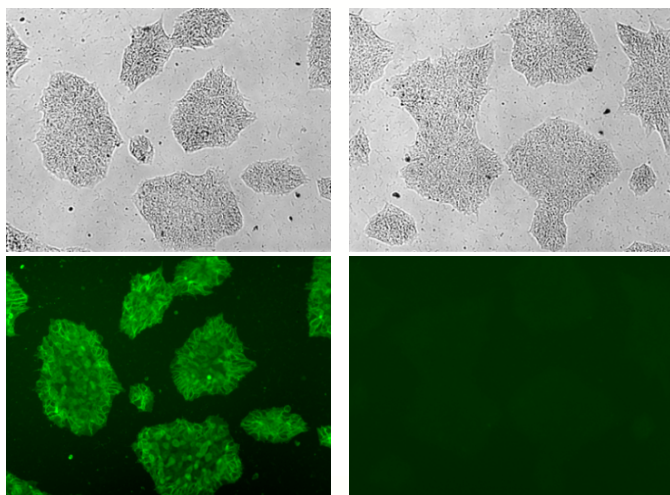
細胞染色図

rBC2LCN-FITC添加によりヒトiPS細胞は染色されたが、rBC2LCNストリッピング溶液で処理することで、細胞表面に結合していたrBC2LCN-FITCが剥離された。

フローサイトメトリー分析結果

rBC2LCN-FITCにより染色されたヒトiPS細胞201B7株をrBC2LCNストリッピング溶液で処理し、フローサイトメトリーに供すると、未処理の細胞に比べ処理された細胞のピークが左へシフトした。

rBC2LCNストリッピング溶液 添加前 rBC2LCNストリッピング溶液 添加30分後

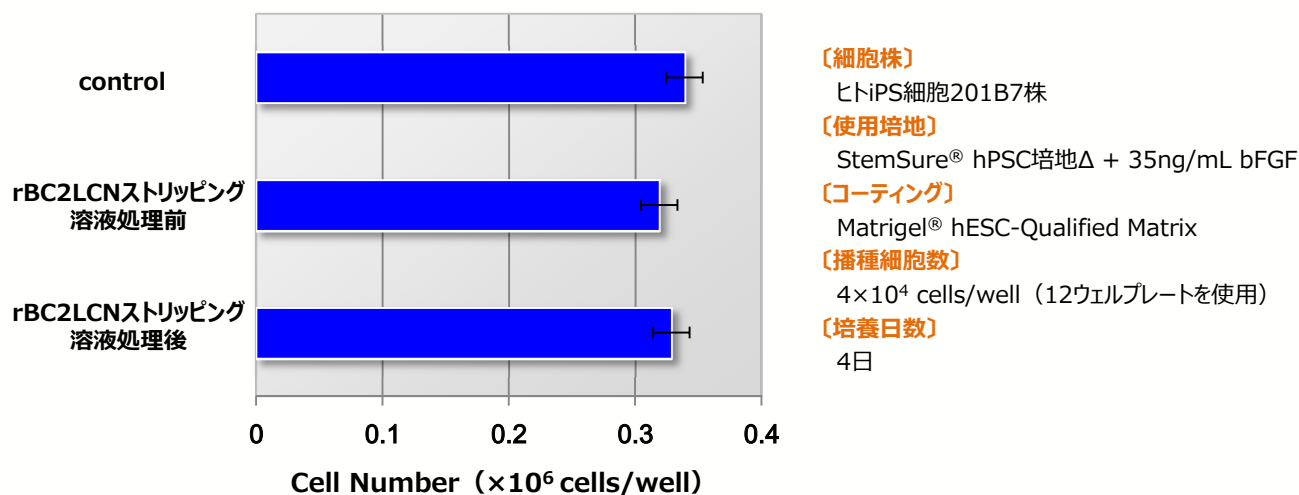


- control
- rBC2LCNストリッピング溶液処理前
- rBC2LCNストリッピング溶液処理後

➡ rBC2LCNストリッピング溶液で処理したヒトiPS細胞の培養

rBC2LCNストリッピング溶液の細胞への影響性を調べた。ヒトiPS細胞201B7株をrBC2LCN-FITCで染色した後、rBC2LCNストリッピング溶液でrBC2LCN-FITCを剥離させた。rBC2LCN-FITCで染色後の細胞とrBC2LCNストリッピング溶液で処理した細胞をそれぞれ培養した。

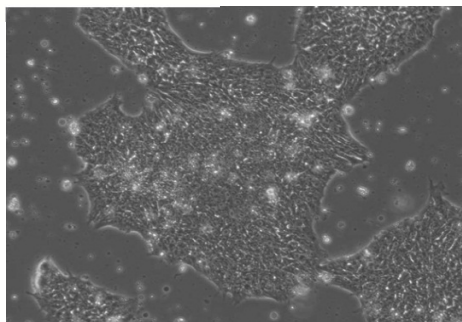
rBC2LCNストリッピング溶液で処理したヒトiPS細胞も未処理の細胞と同等の細胞増殖を示し、rBC2LCNストリッピング溶液による処理が細胞増殖に影響を与えないことを確認した。



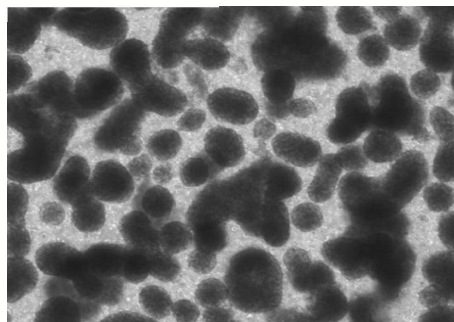
➡ rBC2LCNストリッピング溶液で処理したヒトES細胞の三胚葉分化

ヒトES細胞WA01株をrBC2LCNで染色後、rBC2LCNストリッピング溶液で細胞からrBC2LCNを剥離させた。その後、処理したヒトES細胞を培養し、胚葉体を形成させ、さらに三胚葉に分化させた。処理後のヒトES細胞は三胚葉に分化させることができ、多分化能を維持していることを確認できた。

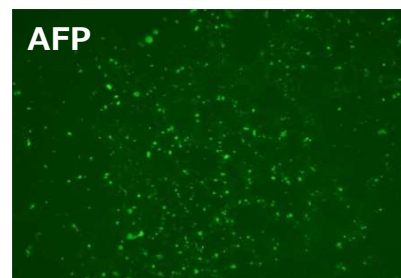
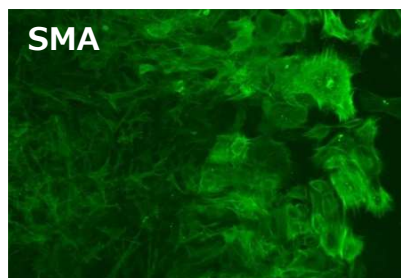
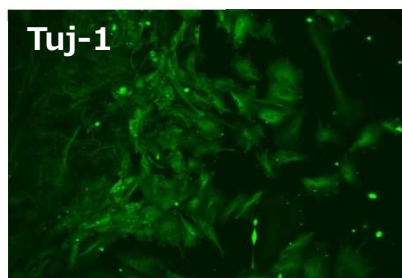
■ コロニー形態




■ 胚葉体形成



■ 三胚葉分化



データご提供 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門 幹細胞工学研究グループ 小沼泰子先生、伊藤弓弦先生

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
182-03171	rBC2LCN Stripping Solution 	細胞培養用	10mL	15,000

StemSure® hPSCリムーバー (rBC2LCN-PE38)

StemSure® hPSCリムーバーは、緑膿菌由来外毒素の一部（38kDa）をrBC2LCNのC末端に融合させた組換えタンパク質です。本品は細胞内に取り込まれた後、タンパク質合成を阻害して細胞死を引き起こします。本品は、同作用を持つrBC2LCN-PE23より高活性です。また、本製品の原料には動物由来物を使用していません。

特長

- 未分化ヒトES/iPS細胞を選択的に除去可能
- 細胞分散せず、培養液にそのまま添加するのみで使用可能
- 原料に動物由来成分不含
- rBC2LCN-PE23より高活性（数百倍）
- 大量の細胞や細胞シートなどにも適用可能

製品概要

- 無菌試験済み（0.1μmフィルター過）
- 0.1×PBS溶液
- 濃度：0.09～0.11mg/mL

使用方法

未分化細胞除去

1. ヒトES/iPS細胞が残存する培養液を準備する。
2. 培養液に終濃度 0.1μg/mL※ となるように StemSure® hPSCリムーバーを添加する。
（濃度は製品ラベルに記載されています）
3. 37℃、5% CO₂ 下でインキュベートする（細胞を観察し、残存する未分化細胞が除去される時間を設定してください）。
4. 分化誘導した細胞に適した培地で培養を継続する。
※濃度は1例です。ご使用の際には適切な濃度を設定ください。

ヒトiPS細胞の除去

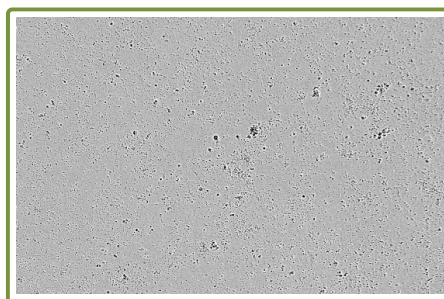
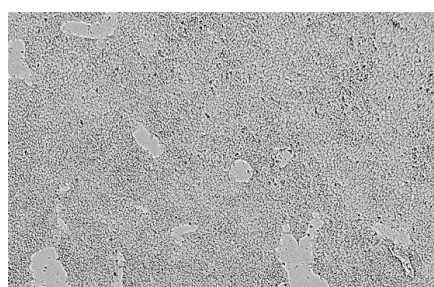
ヒトiPS細胞201B7株とヒト線維芽細胞の培養液にStemSure® hPSCリムーバーを添加し（終濃度 0.1μg/ml）、48時間培養した。その後、培地交換し、さらに24時間培養した。その結果、StemSure® hPSCリムーバーで処理したヒトiPS細胞は、ほぼ除去できた（下図 右上）。一方、ヒト線維芽細胞は同様に処理しても、細胞は除去されなかった（下図 右下）。

StemSure® hPSCリムーバー

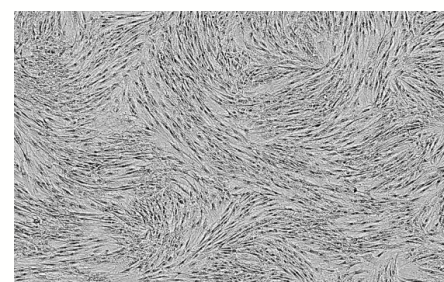
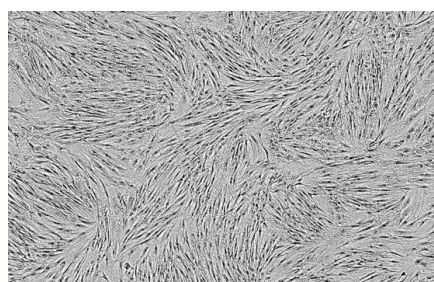
0 μg/mL

0.1 μg/mL

ヒトiPS細胞



ヒト線維芽細胞

除去
できた

Tateno, H., Minoshima, F. and Saito, S.: *Molecules*, **22**, (2017).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
199-18511 195-18513	StemSure® hPSC Remover (rBC2LCN-PE38)	F ^o	100μL 100μL×5	30,000 120,000

rBC2LCN-PE23

rBC2LCN-PE23は、緑膿菌由来外毒素の触媒ドメイン（PE23）をrBC2LCNのC末端部分に融合させた組換えタンパク質です。ヒトES/iPS細胞の培養液に添加するだけでヒトES/iPS細胞を殺傷できます。殺傷された細胞は浮遊するので、培地交換を行うことで、取り去ることが可能です。

特長

- 未分化ヒトES/iPS細胞を選択的に除去可能
- 細胞分散せず、培養液にそのまま添加するのみで使用可能
- 大量の細胞や細胞シートなどにも適用可能

製品概要

- 無菌試験済み（0.22μmフィルターろ過）
- 0.1×PBS溶液
- 濃度：0.9～1.1mg/mL

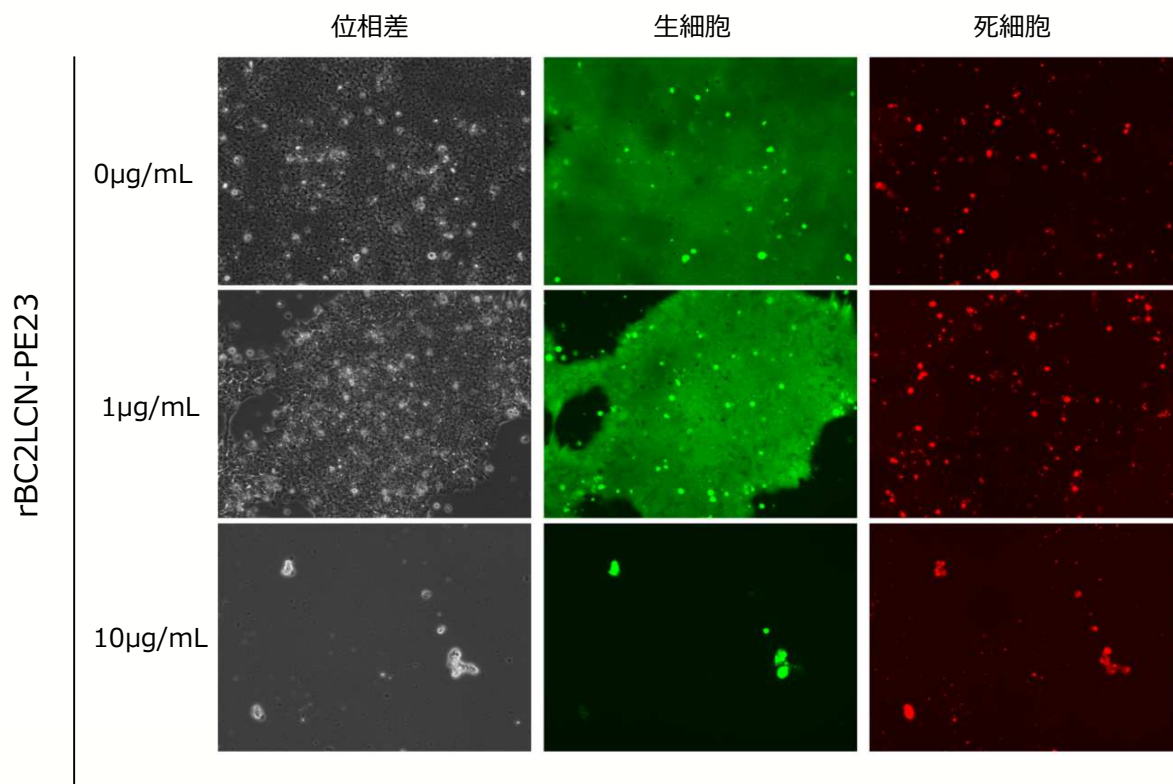
使用方法

未分化細胞 除去

1. ヒトES/iPS細胞から分化誘導した細胞を準備する。
 2. 培養液に終濃度 10μg/mL※ となるように rBC2LCN-PE23 を添加する（濃度は製品ラベルに記載されています）。
 3. 37℃、5% CO₂ 下でインキュベートする（細胞を観察し、残存する未分化細胞が除去される時間を設定してください）。
 4. 分化誘導した細胞に適した培地で培養を継続する。
- ※濃度は1例です。ご使用の際には適切な濃度を設定ください。

ヒトiPS細胞の除去

ヒトiPS細胞201B7株の培養液に終濃度が1、10μg/mLとなるようにrBC2LCN-PE23を添加し、24時間処理した結果を下に示す。なお、生細胞の細胞質が緑色に、死細胞の核が赤色に染まって見えている。rBC2LCN-PE23を培養液に添加していない（0μg/mL）場合は、ほとんどのヒトiPS細胞は接着し、緑色に染まっており、赤色はほとんど観察されていない。これは、ほとんどのヒトiPS細胞が生きていることを示している。一方、10μg/mLのrBC2LCN-PE23を培養液に添加した場合は、ほとんどのヒトiPS細胞が浮遊し、除去できた。

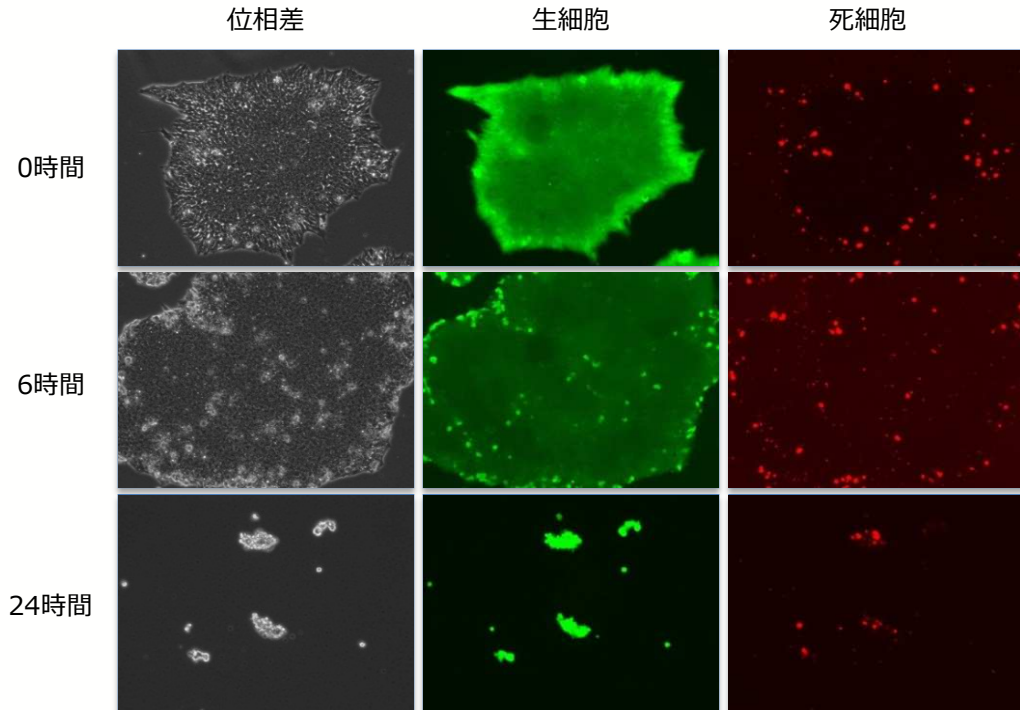


データご提供 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門 舘野浩章先生

ヒトES細胞の除去

ヒトES細胞WA01株の培養液に終濃度が10 μ g/mLとなるようにrBC2LCN-PE23を添加し、0、6、24時間処理した結果を下に示す。なお、生細胞の細胞質が緑色に、死細胞の核が赤色に染まって見えている。

rBC2LCN-PE23添加前は、ほとんどのヒトES細胞は接着し、緑色に染まっており、赤色はほとんど観察されていない。10 μ g/mLのrBC2LCN-PE23を培養液に添加して6時間後は、細胞の形態が変化し、赤色に染色された死細胞数が増加した。さらに、24時間後にはほとんどのヒトiPS細胞が浮遊し、除去された。

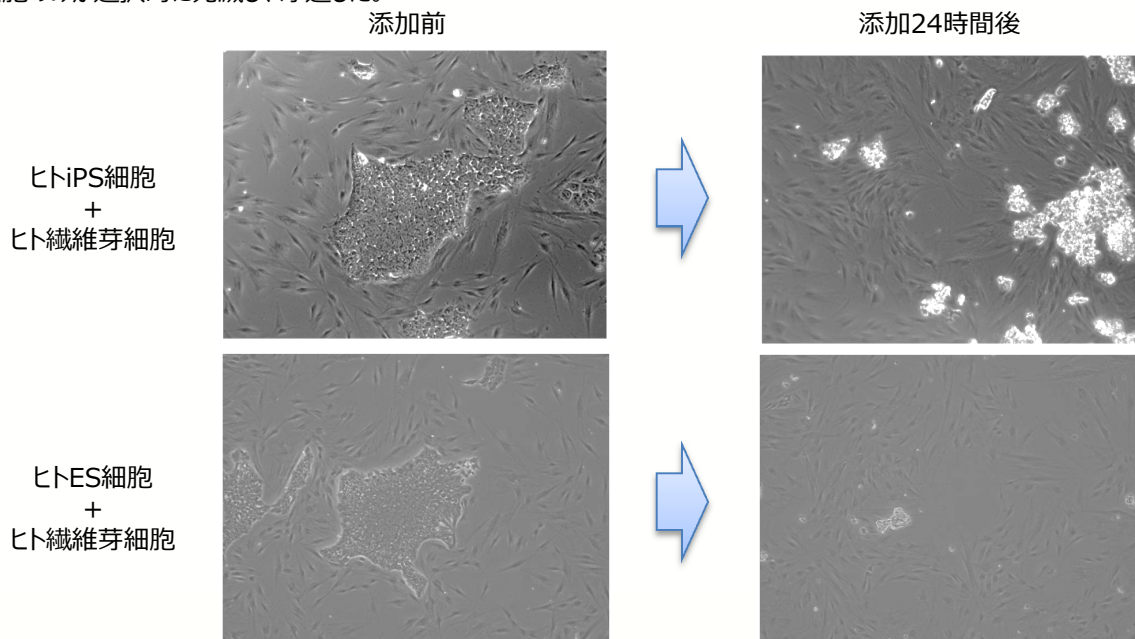


データご提供 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門 幹細胞工学研究グループ 小沼泰子先生、伊藤弓弦先生

ヒトiPS細胞及びヒトES細胞の選択的除去

ヒトiPS細胞201B7株とヒト線維芽細胞を2日間混合培養した後、培養液に終濃度が10 μ g/mLとなるようにrBC2LCN-PE23を添加した。添加24時間後、ヒトiPS細胞のみが死滅し、培養液中に浮遊した。

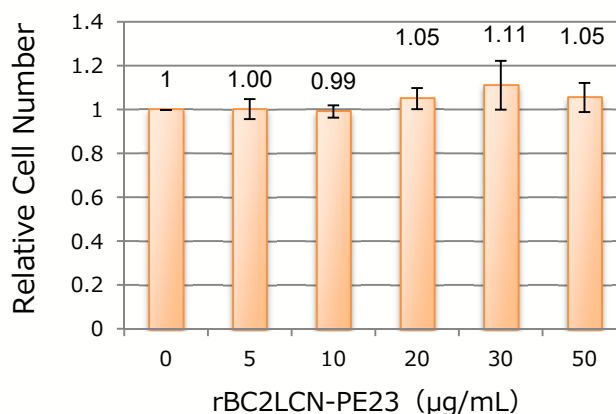
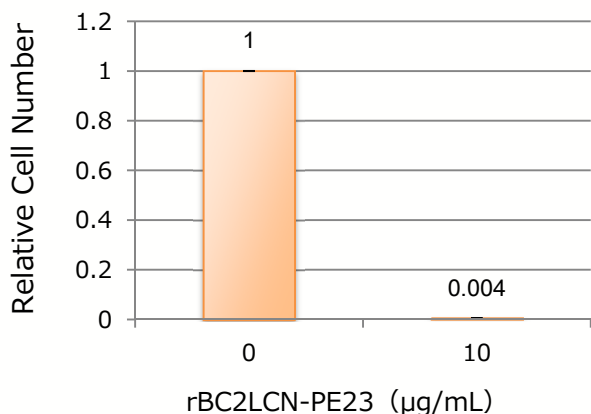
また、ヒトES細胞WA01株とヒト線維芽細胞についても同様に実験を行った。結果、添加24時間後には、ヒトES細胞のみが選択的に死滅し、浮遊した。



データご提供 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門 舘野浩章先生、幹細胞工学研究グループ 小沼泰子先生、伊藤弓弦先生

➡ 正常ヒト線維芽細胞への影響

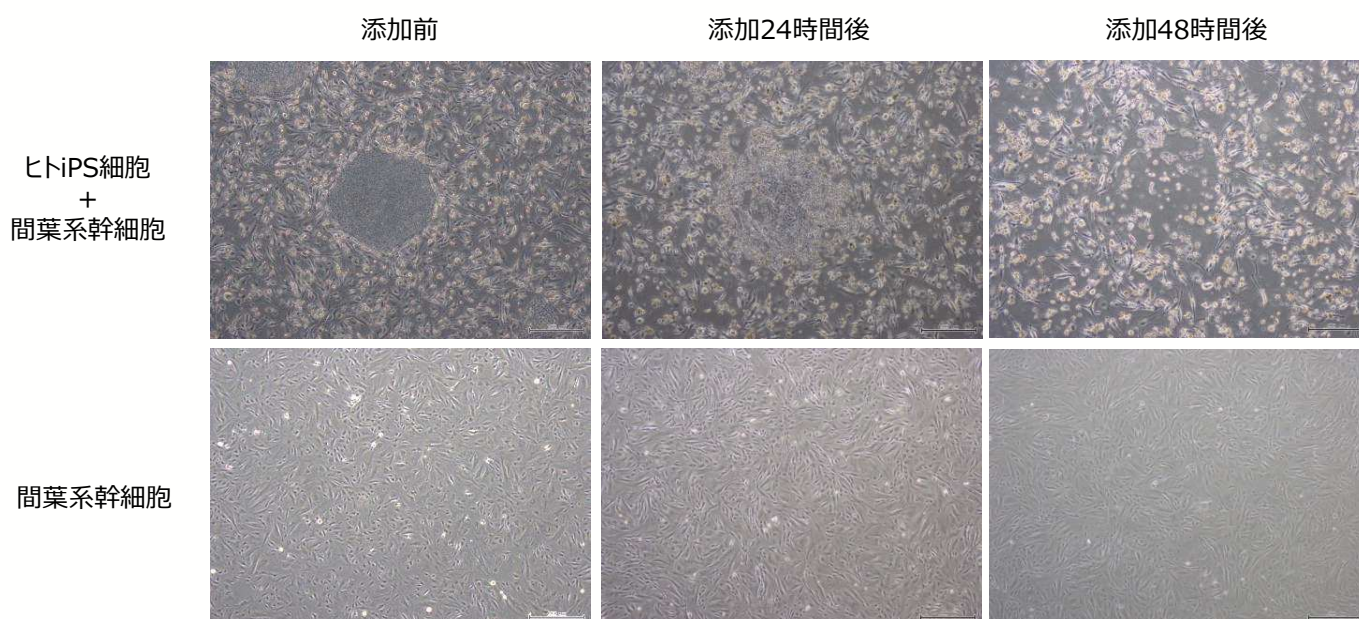
ヒトiPS細胞201B7株の培養液には終濃度10 μ g/mL および正常ヒト皮膚線維芽細胞（NHDF）の培養液には終濃度5, 10, 20, 30, 50 μ g/mL となるようにrBC2LCN-PE23を添加し、48時間後の細胞数を調べた。ヒトiPS細胞では生細胞はほとんど認められなかった。一方、NHDFではrBC2LCN-PE23を添加しても死細胞はほぼ認められなかった（0 μ g/mL rBC2LCN-PE23のときの生細胞数を1とした）。



➡ 間葉系幹細胞分化でのヒトiPS細胞の除去

疾患患者由来ヒトiPS細胞を間葉系幹細胞に分化させ、ヒトiPS細胞と間葉系幹細胞が混在している培養液に、終濃度10 μ g/mLとなるようにrBC2LCN-PE23を添加した。添加24時間後にはヒトiPS細胞のコロニーが崩れ始め、添加48時間後にはヒトiPS細胞はほとんど除去されていることが分かる。

一方、間葉系幹細胞は、rBC2LCN-PE23添加48時間後でもその影響を受けることなく、細胞が生存している。



データご提供 東京慈恵会医科大学 再生医学研究部 岡野ジェイムス洋尚先生

Tateno, H., Onuma, Y., Ito Y, Minoshima, F., Saito, S., Shimizu, M., Aiki, Y., Asashima, M. and Hirabayashi, J.: *Stem Cell Reports*, **4**, 811 (2015).

Masuda, S., Miyagawa, S., Fukushima, S., Sougawa, N., Okimoto, K., Tada, C., Saito, A. and Sawa, Y.: *Protein Cell*, **6**, 469 (2015).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
180-03231 186-03233	rBC2LCN-PE23	細胞培養用	100 μ L 100 μ L \times 5	30,000 120,000

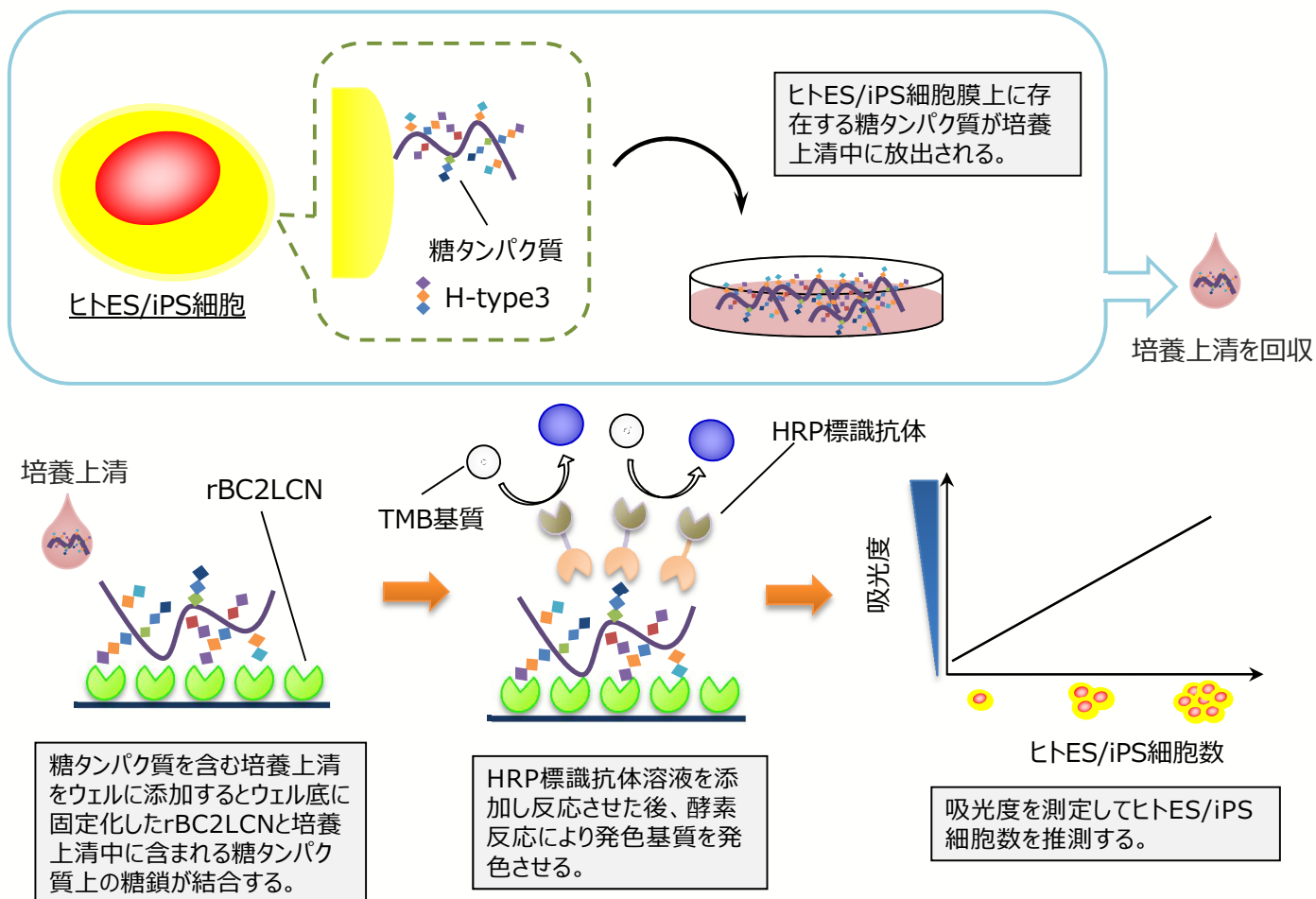
ヒトES/iPS細胞モニタリングキット

rBC2LCNにより認識される糖タンパク質（H-type3結合ポドカリキシン）はヒトES/iPS細胞表面から培養液中に放出されます。本キットは、培養上清に放出される糖タンパク質をrBC2LCN-抗体サンドイッチで定量的に測定することで、ヒトES/iPS細胞数を推測できます。また、培養上清を測定試料とするため、培養を継続しながらヒトES/iPSの増減を簡単にモニタリングすることができます。

特長

- 培養上清を分析することで、未分化細胞の増減をモニタリング可能
- 測定対象が培養上清（50μL）であるため、細胞を検査に使用せず、細胞はそのまま培養可能。
- ELISA法を用いるため、簡単に多検体を分析可能

原理



Tateno, H., Onuma, Y., Ito, Y., Hiemori, K., Aiki, Y., Shimizu, M., Higuchi, K., Fukuda, M., Warashina, M., Honda, S., Asashima, M. and Hirabayashi, J.: *Sci. Rep.*, **4**, 4069 (2014).

測定手順 概要

測定手順の詳細については、弊社HPまたは製品に添付している説明書をご参照ください。



標準曲線の作成

本キットには、標準曲線作成用の標準品は添付されておりません。したがって、下記手順に従い標準品を調製いただいた後、標準曲線を作成頂きますようお願いいたします。

また、標準曲線の作成は、細胞株ごと及び未分化維持培養条件ごとに行ってください。

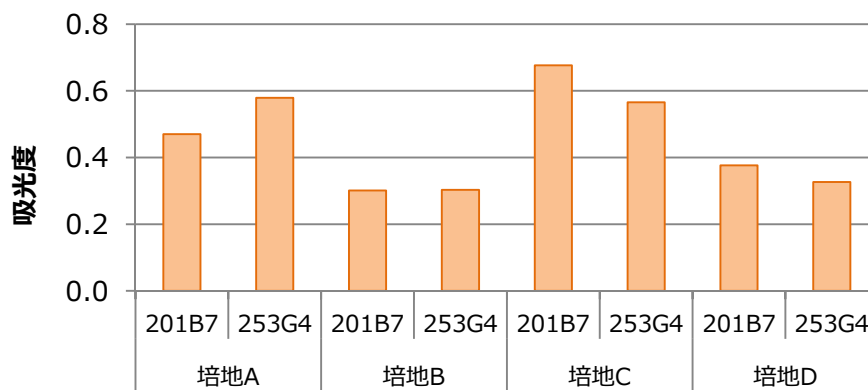
1. 未分化維持培養条件下でヒトES/iPS細胞を培養し、培地交換した翌日（18～24時間後）に培養上清を回収する。
2. 回収した培養上清を 1,700×g（3,000rpm）、室温で10分間遠心し、回収した上清を試料とします。
3. 細胞を剥がし、ヒトES/iPS細胞数を測定する。
4. 回収した培養上清に含まれるヒトES/iPS細胞数を算出する。例えば、培地量が5mL、測定した細胞数が 5×10^6 cellsであった時、回収した培養上清に含まれるヒトES/iPS細胞数を 1×10^6 cells/mLとする。
5. 回収した培養上清を未分化維持用培地もしくは分化用培地を用いて、既知細胞濃度の希釈系列を作成し、標準曲線を作成する。

分化誘導時の使用例

1. 未分化維持培養時のヒトES/iPS細胞の培養上清をサンプリングし、ヒトES/iPS細胞数をカウントする。
2. 1.の培養上清を分化用培地で希釈し、希釈系列を作成し、本キットを用いて標準曲線を作成する。
3. 本キットを用いて、ヒトES/iPS細胞数を確認したい培養上清サンプルを測定する。
4. 分化条件での残存ヒトES/iPS細胞数を推測する。

細胞株間及び培地間の比較

ヒトiPS細胞201B7株及び253G4株を各未分化維持用培地（培地A, B, C, D）で培養後、培地交換翌日に培養上清を回収した。細胞数をカウントし、各未分化維持用培地を用いて2,000cells/mLとなるように各培養上清を希釈し、本キットを用いて吸光度を測定した。その結果を下図に示す。この結果により、細胞株あるいは培地などの培養条件により細胞数（cells/mL）が一定であっても、シグナル強度が異なることが分かる。そのため、標準曲線は培養条件ごとに作成して頂く必要があります。



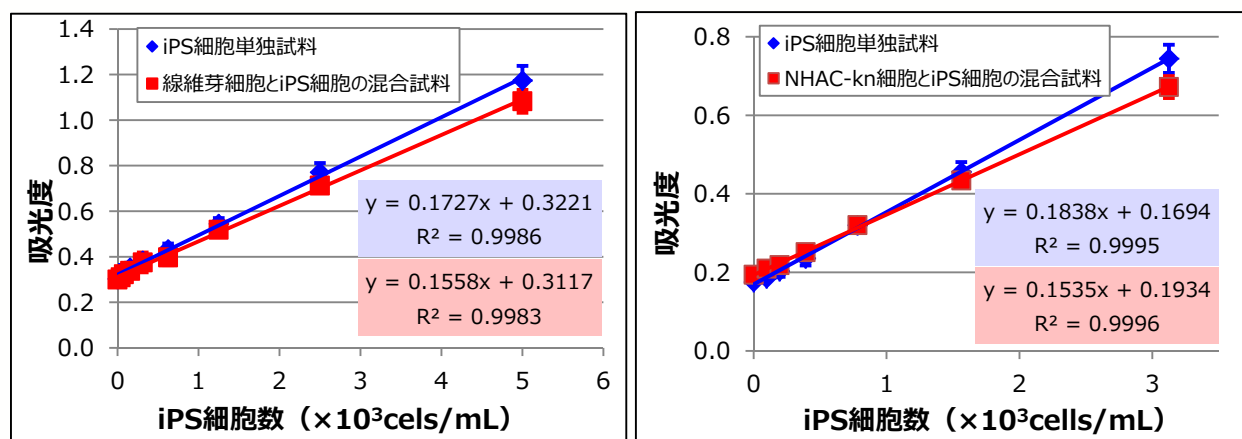
上段：ヒトiPS細胞株名

分化細胞培養上清へのヒトiPS細胞培養上清のスパイク実験

線維芽細胞及びヒト膝関節軟骨（NHAC-kn）細胞の培養上清（血清含有）に添加したヒトiPS細胞の培養上清が測定可能か確認した。ヒトiPS細胞の混合割合を0~20%（0~2×10⁴ cells/mL：総細胞数 1×10⁵ cells/mL）となるように、線維芽細胞及びヒト膝関節軟骨細胞の培養上清へヒトiPS細胞の培養上清を混合し、本キットに供した。血清および線維芽細胞存在条件下で作成した培養上清中においてもヒトiPS細胞の培養上清を測定可能であった。


また、線維芽細胞またはヒト膝関節軟骨細胞とiPS細胞の混合試料から得られた近似式よりこの条件下でのヒトiPS細胞の検出下限値*を求めると、それぞれ170 cells/mL、96 cells/mLであった。

*検出下限値：培地のみバックグラウンドの吸光度平均 + 3.3SDと近似式から算出した細胞数。



使用上のご注意

- 標準曲線の作成には、未分化維持条件で培養したヒトES/iPS細胞の培養上清をご使用ください。
- 細胞株、あるいは培地の種類などの培養条件により、シグナル強度と細胞数（cells/mL）の関係が異なるため、標準曲線は細胞株ごとおよび未分化維持培養条件ごと、分化誘導培地ごとに作成する必要があります。
- 異なる培養条件ではシグナル強度の高低で未分化性を評価することはできません。同じ培養条件で評価してください。
- ポドカリキシンは培地中に蓄積されるため、培養上清をサンプリングするタイミングは培地交換（全量交換）から18~24時間後と一定して下さい。
- このキットを用いて、算出されるヒトES/iPS細胞数と実際の細胞数とは必ずしも一致いたしません。未分化維持状態および細胞分化の進行をモニタリングする一つの指標とお考えください。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
299-78301	Human ES/iPS Cell Monitoring Kit 	再生医療研究用	96回用	96,000

< 関連製品 >

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
197-17571 193-17573	StemSure® hPSC Medium Δ ヒトES/iPS細胞用無血清培地	細胞培養用	100mL 100mL×4	6,000 20,000
064-05381 068-05384	Fibroblast Growth Factor (basic), Human, recombinant, Animal-derived-free [bFGF/FGF2]	細胞生物学用	50μg 100μg	39,500 67,000
062-06661 068-06663	bFGF Solution, MF マスターファイル登録品です。	細胞培養用	50μL 50μL×4	80,000 260,000
039-24111 035-24113	CultureSure® A-83-01 エンドキシン、マイコプラズマ試験済み	細胞培養用	2mg 10mg	16,000 54,000
010-26741 018-26742	A-83-01, MF マスターファイル登録品です。	細胞培養用	5mg 25mg	40,000 135,000
031-24291 037-24293	CultureSure® SB43152 エンドキシン、マイコプラズマ試験済み	細胞培養用	5mg 25mg	20,000 80,000
033-24631	CultureSure® 5mmol/l SB43152 DMSO Solution, Animal-derived-free 無菌試験済み	細胞培養用	1mL	25,000
030-24021 036-24023 034-24024	CultureSure® Y-27632 エンドキシン、マイコプラズマ試験済み	細胞培養用	1mg 5mg 25mg	15,000 40,000 150,000
259-00613 257-00614	Y-27632, MF マスターファイル登録品です。	細胞培養用	5mg 25mg	50,000 200,000
039-24591 035-24593	CultureSure® 10mmol/l Y-27632 Solution, Animal-derived-free 無菌試験済み	細胞培養用	300μL 1mL	30,000 85,000
077-06271	25% Glutaraldehyde Solution	電子顕微鏡用	10mL×10A	13,000
080-09981	Bisbenzimidazole H33342 Trihydrochloride 【Hoechst 33342】	細胞生物学用	100mg	13,500

…2～10℃保存 …-20℃保存 …-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。
 特定 …特定毒物 …毒物 …劇物 …劇物 …毒薬 …劇薬 …危険物 …向精神薬 …特定麻薬向精神薬原料 …カルタヘナ法
…化審法 第一種特定化学物質 …化審法 第二種特定化学物質 …化学兵器禁止法 第一種指定物質 …化学兵器禁止法 第二種指定物質
 覚せい剤取締法…「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。
 国民保護法…生物・毒薬兵器の製造・使用防止のため、「毒薬等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。
 上記以外の法律及び最新情報は、siyaku.com (https://www.siyaku.com/) をご参照下さい。

- 本文に収載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医薬品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

富士フイルム 和光純薬株式会社

本 社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所 ● 中国営業所
 - 東海営業所 ● 横浜営業所
 - 筑波営業所 ● 東北営業所
 - 北海道営業所
- フリーダイヤル 0120-052-099
 フリーファックス 0120-052-806
 試薬URL : https://labchem.wako-chem.co.jp

■ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation ■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH
 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA Fuggerstraße 12, 41468 Neuss, Germany
 TEL:+1-804-714-1920 FAX:+1-804-271-7791 TEL:+49-2131-311-0 FAX:+49-2131-311-100

Online Catalog: www.e-reagent.com