

ヒトES/iPS細胞 未分化マーカー

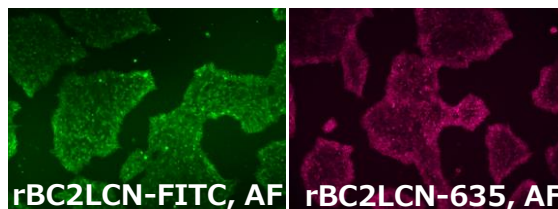
rBC2LCN シリーズ

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！

培養液に添加するだけで、30~40分後には未分化ヒトES/iPS細胞を観察できる時短可能な未分化マーカーです!! 原料に動物由来物を使用していないアニマルフリー品です。

- rBC2LCN-FITC, AF
- rBC2LCN-635, AF



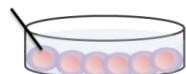
(ヒトiPS細胞201B7株)

培地に添加するだけでヒトES/iPS細胞を除去可能！

- StemSure® hPSC リムバー (rBC2LCN-PE38)

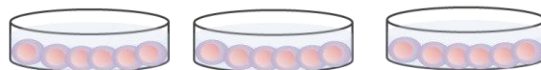
ヒトES/iPS細胞の未分化維持培養~分化誘導~精製・純化の各工程において、使用できるBC2LCN関連製品をご紹介します。

ヒトES/iPS細胞



未分化維持培養・品質管理

☑ rBC2LCN-FITC, -635



目的の細胞への分化誘導

☑ rBC2LCN-FITC, -635

残存未分化細胞



目的細胞の精製/純化、未分化細胞除去

☑ rBC2LCN-FITC, -635
☑ StemSure® hPSC リムバー (rBC2LCN-PE38)



目的細胞

操作が非常に簡単で短時間での未分化細胞染色に

rBC2LCN-FITC/-635, AF

未分化細胞に高い親和性を持つ組換え体レクチン、rBC2LCN (AiLecS1) を蛍光物質で標識した製品です。rBC2LCN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体レクチンです。BC2LCN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 (Fucα1-2Galβ1-3GalNAc) に非常に高い親和性を持ちます。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。

本製品は、蛍光色素で標識されているため、そのまま適当な濃度でヒトES/iPS細胞の培養液に添加することで、未分化細胞を生きたまま解析することができます。本製品は細胞染色、フローサイトメトリーのいずれにもご使用いただけます。また、本製品の共存下で数日間培養を続けても細胞毒性は確認されておりません。

本製品の原料に動物由来成分を使用していません。そのため、ヒトES/iPS細胞由来再生医療等製品の製造時に、未分化ヒトES/iPS細胞の確認や、フローサイトメトリーによるヒトES/iPS細胞除去にも使用可能です。

緑色蛍光標識体 (FITC) と赤色蛍光標識体 (Cy5領域) をラインアップしています。

特長

- 原料に動物由来成分を使用しないアニマルフリー品
- 培養液に添加するのみで細胞を染色可能
- 染色した細胞は細胞染色、フローサイトメトリーに使用可能
- 細胞固定を行わず、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
- Tra-1-60やSSEA-4等と同様に細胞表面上の糖鎖を認識

製品概要

- 無菌試験済み
- PBS(-)溶液
- 実用希釈倍率
 - 生細胞染色 1 : 100 ~ 1,000
 - フローサイトメトリー 1 : 100 ~ 1,000
- 励起波長・蛍光波長

	Excitation	Emission
rBC2LCN-FITC	495 nm	520 nm
rBC2LCN-635	634 nm	654 nm

使用方法

■ 生細胞染色 (Live Cell Imaging) **オススメ!!** **実験の時短に!!**

1. 培養中のヒトES/iPS細胞を準備する。
2. 培地 1mL あたり rBC2LCN-FITC, AF もしくは rBC2LCN-635, AF を 1~10 μ L 添加する。
3. 37 $^{\circ}$ C, 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(+), D-PBS(-)に交換する。
5. 蛍光顕微鏡を用いて観察する。
※4. は省くことが可能です。



30~40分で未分化
ヒトES/iPS細胞を
観察可能

■ 固定細胞の染色

1. 培養中のヒトES/iPS細胞を準備する。
2. 培地を除去し、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分間静置する。
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 rBC2LCN-FITC, AF もしくは rBC2LCN-635, AF を 1~10 μ L 添加する。
7. 37 $^{\circ}$ C, 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. 蛍光顕微鏡を用いて観察する。

■ フローサイトメトリー

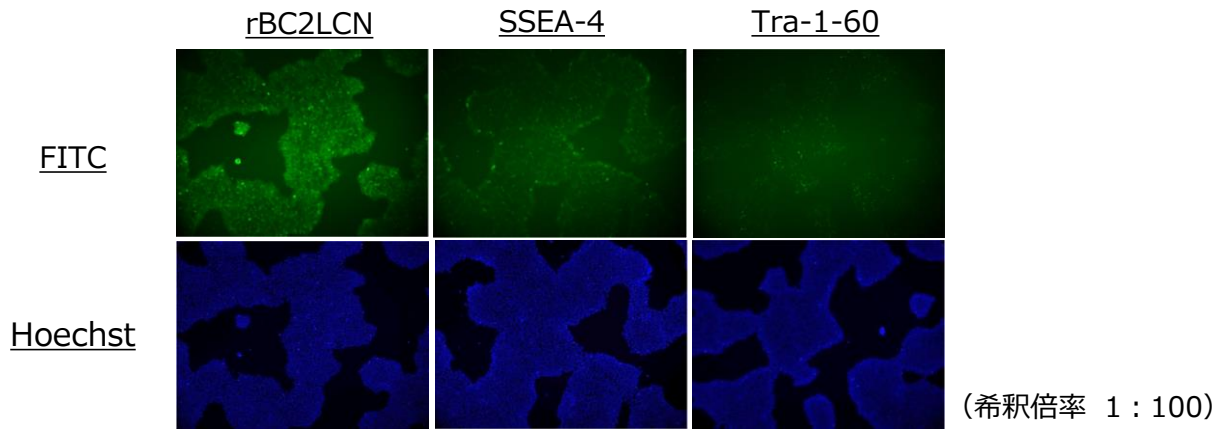
1. 培養中のヒトES/iPS細胞を準備する。
2. 細胞分散溶液を用いて、シングルセルに分散する。
3. 2.で分散された細胞をチューブに移し、1,000rpm で3分間遠心する。
4. 上清を除去後、FCM Buffer*で細胞を懸濁し、遠心後、上清を捨てる。
※FCM Buffer : D-PBS(-) や HBSS(-) もしくはそれらに 10mmol/L EDTA, 1% BSA, FBSを含むもの。
5. 5 \times 10⁶ cells/mL となるように FCM Buffer で懸濁する。
6. 細胞懸濁液 1mL あたり、rBC2LCN-FITC, AF もしくは rBC2LCN-635, AF を 1~10 μ L 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〕

- rBC2LCNによる染色は2~3日間維持されます。
- 血清を含む培地を使用されているときは、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。
- 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 に終濃度が 10 μ mol/L となるようにY-27632を添加してください。

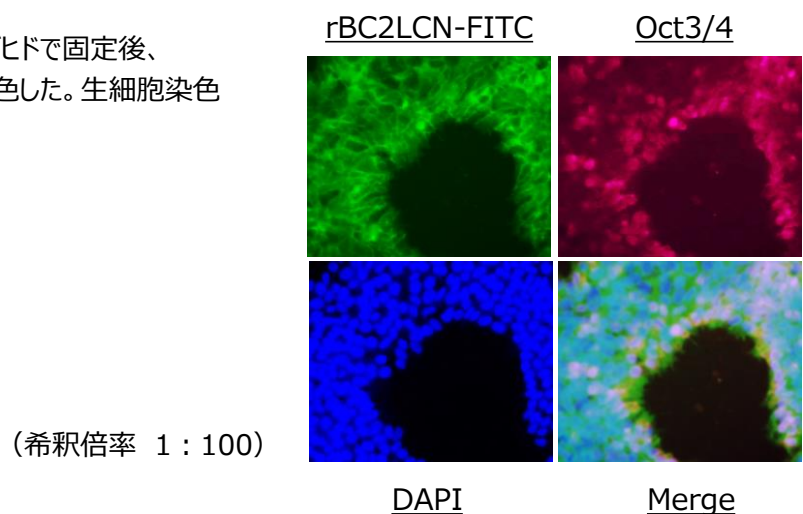
ヒトiPS細胞の生細胞染色 (Live Cell Imaging)

rBC2LCN、SSEA-4、Tra-1-60を用いてヒト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での染色が、各抗体での染色よりも明瞭に細胞を観察することができた。



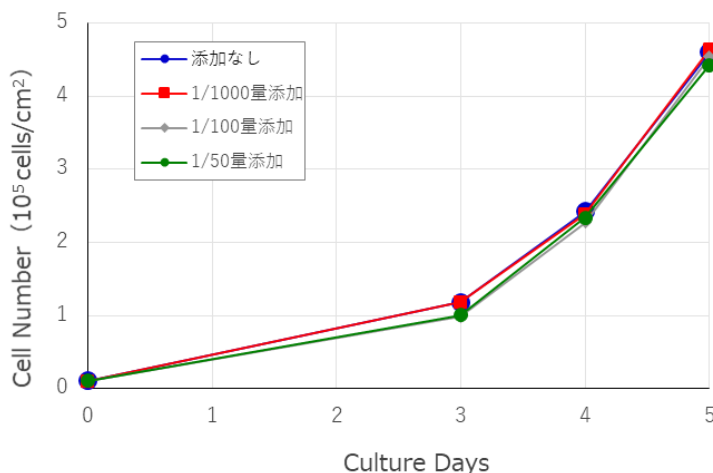
ヒトiPS細胞の固定後染色

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。



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, AF を添加した状態でヒトiPS細胞を培養した。結果、rBC2LCN-FITC, AF 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〕

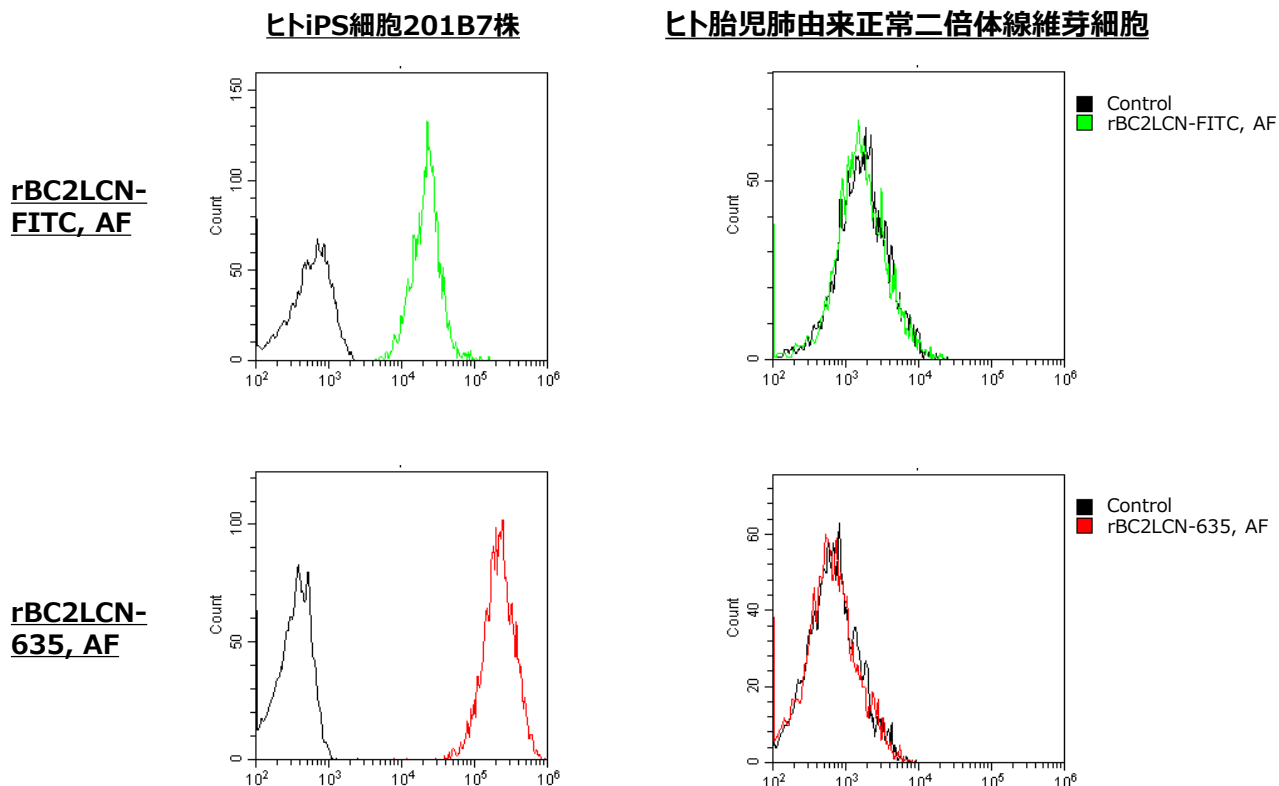
Matrigel® hESC-Qualified Matrix

〔細胞播種数〕

4×10⁴ cells/well (12ウェルプレートを使用)

フローサイトメトリーを用いたヒトiPS細胞の分離

rBC2LCN-FITC, AF および rBC2LCN-635, AF を用いてヒトiPS細胞201B7株とヒト胎児肺由来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。結果、未分化であるヒトiPS細胞と分化したヒト二倍体線維芽細胞を分離できた。



価格表

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
184-03511 180-03513	rBC2LCN-FITC, AF 【AiLecS1-FITC】 [Ex. 495nm, Em 520nm]	F 細胞染色用	100μL 100μL×5	26,400 96,000
187-03501	rBC2LCN-635, AF 【AiLecS1-635】 [Ex. 634nm, Em. 654nm]	F 細胞染色用	100μL	35,000

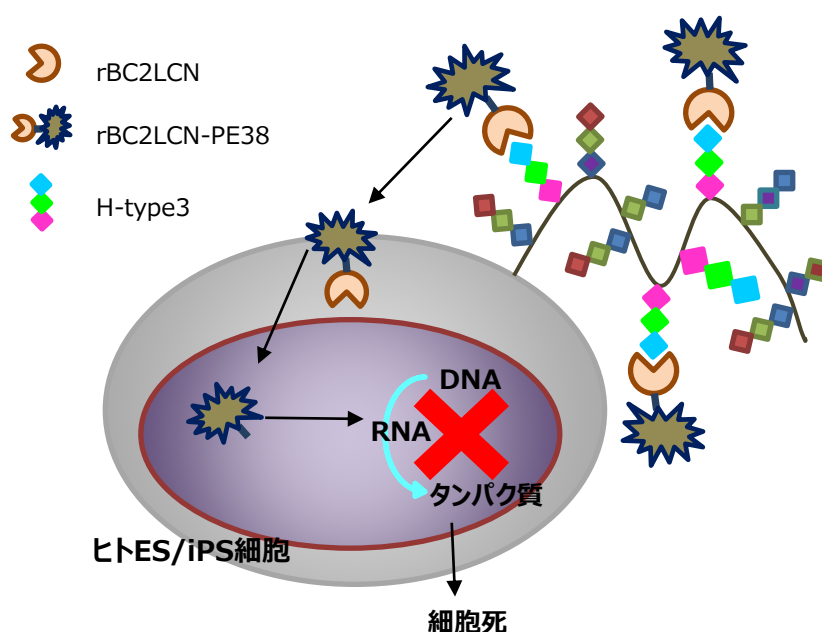
未標識体

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
029-19661	BC2LCN 【AiLecS1】 Lectin, recombinant, Solution, AF 未標識体	F 細胞培養用	1mg	40,000
029-18061 025-18063	BC2LCN 【AiLecS1】 Lectin, recombinant, Solution 未標識体	F 糖鎖研究用	1mg 1mg×5	35,200 照会

培地に添加するだけで未分化細胞の除去が可能

StemSure® hPSC リムーバー

本製品は、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。本製品の原料および製造工程に動物由来成分を使用していません。そのため、ヒトES/iPS細胞由来再生医療等製品の製造時に安全に使用でき、ヒトES/iPS細胞を効率よく除去でき、ヒトES/iPS細胞を用いた再生医療の安全性向上が期待されます。



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
- 原料、製造工程で動物由来成分不使用

製品概要

- 無菌試験済み
- PBS(-)溶液
- 濃度：0.09～0.11mg/mL（製品ラベルに記載）
- 実用試験実施済み：ヒトiPS細胞の殺傷性能を確認
- エンドトキシン試験済み

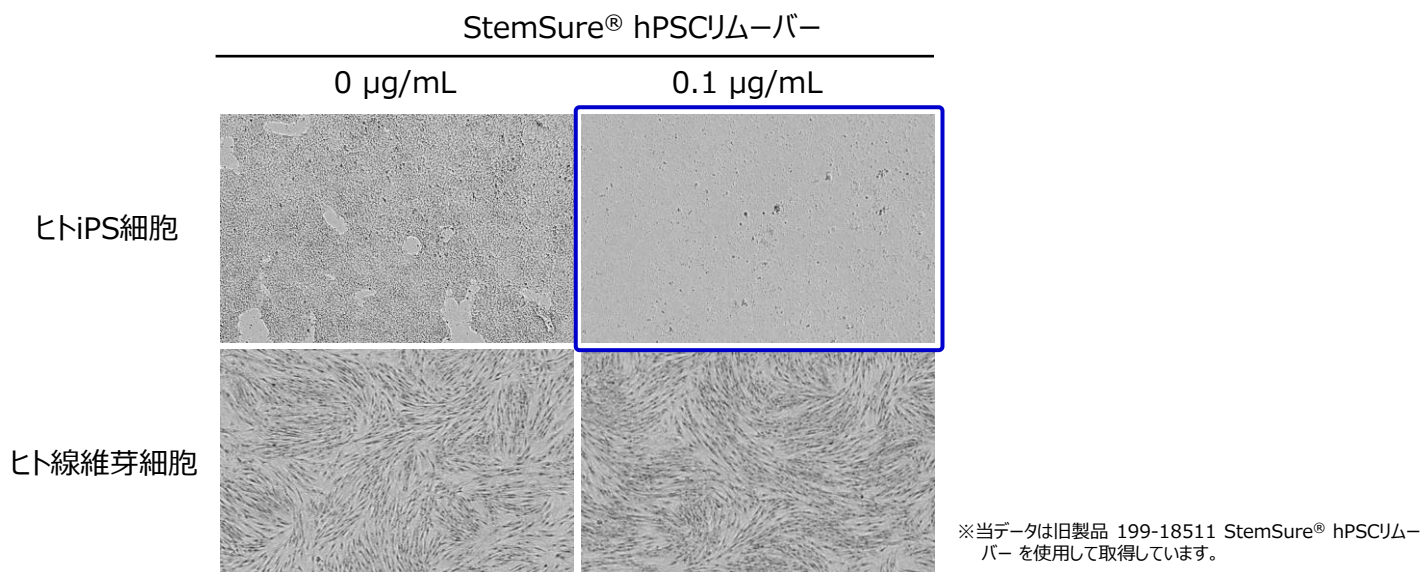
使用方法

1. ヒトES/iPS細胞から分化誘導した細胞中にヒトES/iPS細胞を含む培養液を準備する。
2. 培養液に終濃度 0.1μg/mL となるように本製品を添加する。
※添加濃度は一例のため、ご使用時に最適な濃度を検証してください。
3. 37℃、5% CO₂下でインキュベートする。
※細胞を観察し、残存するヒトES/iPSが除去される時間を検証してください。
4. 分化誘導した細胞に適した培地に交換する。


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終濃度0.1µg/mLとなるようにStemSure® hPSCリムーバーを添加した。添加した状態で48時間培養後、維持用培地で24時間培養した。結果、StemSure® hPSCリムーバーを添加したものはヒトiPS細胞がほぼ除去された（下図右上）。

一方、ヒト線維芽細胞は同様の処理を行っても全く細胞が除去されず、分化した細胞は除去されず、未分化細胞のみが除去されたことが確認された。



価格表

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
192-19081	StemSure® hPSC Remover (rBC2LCN-PE38, AF) 	細胞培養用	100µL	33,000

参考文献

1. Watanabe, T., Yasuda, S., Kusakawa, S., Kuroda, T., Futamura, M., Ogawa, M., Mochizuki, H., Kikkawa, E., Furukawa, H., Nagaoka, M. and Sato, Y.: *Cytherapy*, **23**, 176 (2021). Multisite studies for validation and improvement of a highly efficient culture assay for detection of undifferentiated human pluripotent stem cells intermingled in cell therapy products.
2. Haramoto, Y., Onuma, Y., Mawaribuchi, S., Nakajima, Y., Aiki, Y., Higuchi, K., Shimizu, M., Tateno, H. and Hirabayashi, J.: *Regen. Ther.*, **14**, 306 (2020). A technique for removing tumorigenic pluripotent stem cells using rBC2LCN lectin.
3. Saito, A., Hiemori, K., Kiyoi, K. and Tateno, H.: *Sci. Rep.*, **8**, (2018). Glycome analysis of extracellular vesicles derived from human induced pluripotent stem cells using lectin microarray.
4. Tateno, H. and Saito, S.: *Molecules*, **22** (2017). Engineering of a Potent Recombinant Lectin-Toxin Fusion Protein to Eliminate Human Pluripotent Stem Cells.
5. Tateno, H., Hiemori, K., Hirayasu, K., Sougawa, N., Fukuda, M., Warashina, M., Amano, M., Funakoshi, T., Sadamura, Y., Miyagawa, S., Saito, A., Sawa, Y., Shofuda, T., Sumida, M., Kanemura, Y., Nakamura, M., Okano, H., Onuma, Y., Ito, Y., Asashima, M. and Hirabayashi, J.: *Regen. Ther.*, **6**, 1 (2017). Development of a practical sandwich assay to detect human pluripotent stem cells using cell culture media.
6. 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). Elimination of Tumorigenic Human Pluripotent Stem Cells by a Recombinant Lectin-Toxin Fusion Protein.
7. 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). A medium hyperglycosylated podocalyxin enables noninvasive and quantitative detection of tumorigenic human pluripotent stem cells.
8. 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). Podocalyxin is a glycoprotein ligand of the human pluripotent stem cell-specific probe rBC2LCN.
9. Onuma, Y., Tateno, H., Hirabayashi, J., Ito, Y. and Asashima, M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **431**, 524 (2013). rBC2LCN, a new probe for live cell imaging of human pluripotent stem cells.

再生医療研究用製品

製造工程や分析法バリデーションを実施し、恒常的に安定した品質を得られる体制で製造した化合物や、再生医療等製品材料適格性確認書取得済みのサイトカイン溶液を紹介いたします。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
062-06661 068-06663	bFGF Solution, MF	F [○]	細胞培養用 50μL 50μL×4	105,000 341,300
010-26741 018-26742	A-83-01, MF	F [○]	細胞培養用 5mg 25mg	44,000 148,500
032-25441 038-25443	CHIR99021, MF	F [○]	細胞培養用 5mg 25mg	55,000 220,000
259-00613 257-00614	Y-27632, MF	F [○]	細胞培養用 5mg 25mg	55,000 220,000

材料適格性確認書取得済み製品

014-27621 010-27623	Activin A Solution, Human, recombinant	-80 [○]	細胞培養用 10μg 50μg	44,000 154,000
195-19071 191-19073	SCF Solution, Human, recombinant	-80 [○]	細胞培養用 10μg 50μg	43,000 160,000
116-01151	KGF Solution, Human, recombinant	-80 [○]	細胞培養用 10μg	39,000

CultureSure[®] 低分子化合物

ES/iPS細胞の未分化能維持や分化誘導に関わると報告されている低分子化合物を、細胞培養用に安心してご使用いただくためにエンドトキシンやマイコプラズマといった微生物に関する品質保証を行っている製品です（品質保証項目は製品による）。製品ラインアップ等の詳細は、当社HPをご覧ください。

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/00564.html>

CultureSure低分子化合物

検索 🔍



Ref[○]…2~10℃保存 F[○]…-20℃保存 -80[○]…-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。
 特定 毒-I …特定毒物 毒-II …毒物 劇-I 劇-II 劇-III …劇物 毒薬 …毒薬 劇薬 …劇薬 危 …危険物 向 …向精神薬 特麻原 …特定麻薬向精神薬原料 カルタヘナ …カルタヘナ法
 審-1 …化審法 第一種特定化学物質 審-2 …化審法 第二種特定化学物質 化兵1 …化学兵器禁止法 第一種指定物質 化兵2 …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。覚
 国民保護法…生物・毒素兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」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。毒薬等
 上記以外の法律及び最新情報は、弊社試薬サイト (<https://labchem-wako.fujifilm.com>) をご参照下さい。

- 本文に記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、「医療品」、「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

試薬URL : <https://labchem-wako.fujifilm.com>

■ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation
 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA
 TEL: +1-804-714-1920 FAX: +1-804-271-7791

■ 富士フイルム和光(香港)有限公司
 Room 1111, 11/F, International Trade Centre,
 11-19 Sha Tsui Road, Tsuen Wan, N.T., Hong Kong
 TEL: +852-2799-9019 FAX: +852-2799-9808

■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH
 Fuggerstr 12, 41468 Neuss, Germany
 TEL: +49-2131-311-0 FAX: +49-2131-311-100

■ 富士フイルム和光(広州)貿易有限公司
 广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼3002-3003室
 TEL: +86-20-8732-6381 (广州)
 TEL: +86-21-6288-4751 (上海)
 TEL: +86-10-6413-6388 (北京)