

間葉系幹細胞用 無血清培地／骨分化用 無血清培地

STK[®] シリーズ



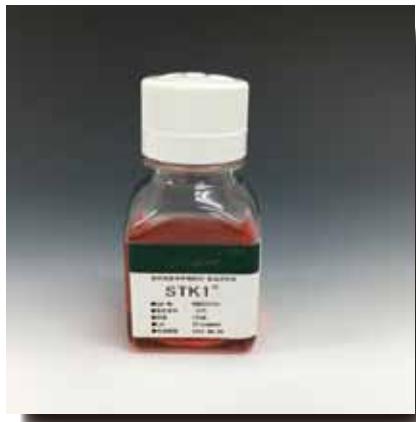
- STK1[®]: 初代間葉系幹細胞用 無血清培地
骨髓、脂肪・滑膜組織から、間葉系幹細胞を選択的に樹立できます。
- STK2[®]: 間葉系幹細胞用 無血清培地
間葉系幹細胞の増殖培養用無血清培地です。
優れた増殖性を実現し、高い分化能を維持したまま間葉系幹細胞が培養できます。
- STK3[®]: 間葉系幹細胞骨分化用無血清培地
骨分化の効率が高く、培養期間を大幅に短縮できます。

STK[®]シリーズは、広島大学とJST（独立行政法人 科学技術振興機構）、(株)ツーセルの共同研究により開発された商品で、(株)ツーセル取得の特許（第4385076号、第5660572号）の実施許諾を受け、(株)ツーセルとの契約に基づき製品化した無血清培地です。

STK1® 初代 間葉系幹細胞用 無血清培地

研究用試薬

生体内から採取した間葉系幹細胞は、培養器材への接着が弱く増殖を開始するのにも数日を要しておりました。STK1®は、間葉系幹細胞と培養器材との速やかな接着を促し、間葉系細胞のみを選択的に増殖させる効果があります。



■ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞からの初代培養（培養 15 日目）

通常の組織培養用容器を使用した場合、血清添加培地に比べて培養器材への接着と増殖は若干遅くなります。（この状態でもSTK2®への継代により十分な細胞数を得ることが可能です。）Fibronectin (5 μg/mL) を別途添加いたしますと血清添加培地に比べて培養器材への速やかな接着と増殖を実現します。



■ヒト骨髓由来間葉系幹細胞からの初代培養（培養 11 日目）

血清添加培地に比べて培養器材への速やかな接着と増殖を実現します。



【データ提供：JST イノベーションプラザ広島 加藤プロジェクト 那ら】

STK1®によるヒト脂肪組織及び滑膜組織由来間葉系幹細胞からの初代培養 (データ提供：㈱ツーセル 第11回日本再生医療学会ポスター発表)

脂肪組織、滑膜組織いずれの群でもSTK1®培地は血清培地と比較して非常に良い培養成績を得ることができました。



組織をビーカーに移し、解剖用のハサミで細かく切り刻む



ヒト脂肪組織は0.2%、ヒト滑膜組織は0.4%を
コラゲナーゼ (Worthington社、Collagenase-A、Type AFA、
Animal Origin Free) で37°C、90min処理



所定時間反応後、細胞を懸濁しながら100 μmメッシュでろ過、
1,500rpm、5min遠心



遠心後、上澄みを吸引した後、軽くタッピングを行い、D-MEM
もしくはSTK1®を20mL加え再度1,500rpm、5min遠心



遠心後、上澄みを吸引した後、D-MEMもしくはSTK1®を10mL
加え、細胞数のカウントを行い、5,000 cells/cm²で播種

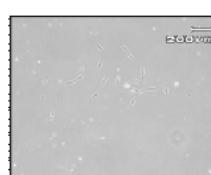


約5,000 cells/cm²
※骨髓由来間葉系幹細胞においては処理方法や
播種細胞数が異なります。
(1~2×10⁵ cells / cm²)



播種後、day5にSTK1®にて培地交換を実施し、その後は2~
3日おきにSTK1®にて培地交換を実施

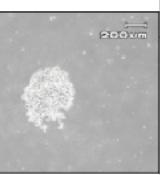
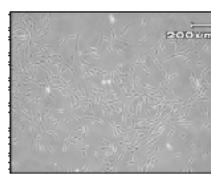
10%FBS+D-MEM



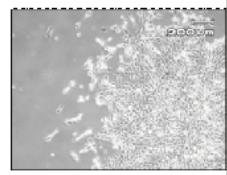
STK1



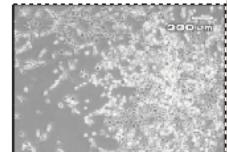
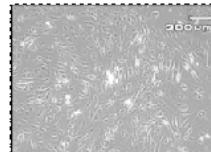
Day 5



Day 8



Day 14



Day 16

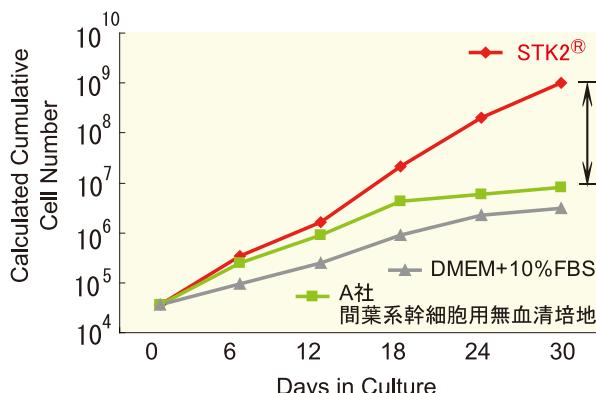
*写真は脂肪組織の初代培養

STK2 は、一般的な方法である10%ウシ胎児血清添加培地 (+10%FBS) や市販の間葉系幹細胞専用培地／低血清培地より優れた増殖性と分化能維持を実現した無血清培地です。また、ハイドロキシアパタイトを足場とする細胞増殖の面でも有効と報告されています*。 * : YAKUGAKU ZASSI 129 (3) 381-384 (2009)
なお、培養器材へのコーティングは不要です。



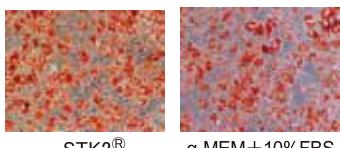
■ヒト骨髓由来間葉系幹細胞の増殖能

STK2®では、継代を重ねても間葉系幹細胞の増殖能と分化能が低下しませんので、同一ロットの細胞を長くご使用いただけます。



■ヒト骨髓由来間葉系幹細胞の脂肪・骨・軟骨への分化能 (Passege 6での比較)

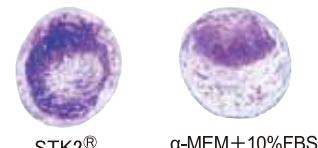
脂肪への分化能：Oil red染色



骨への分化能：Alizarin red染色

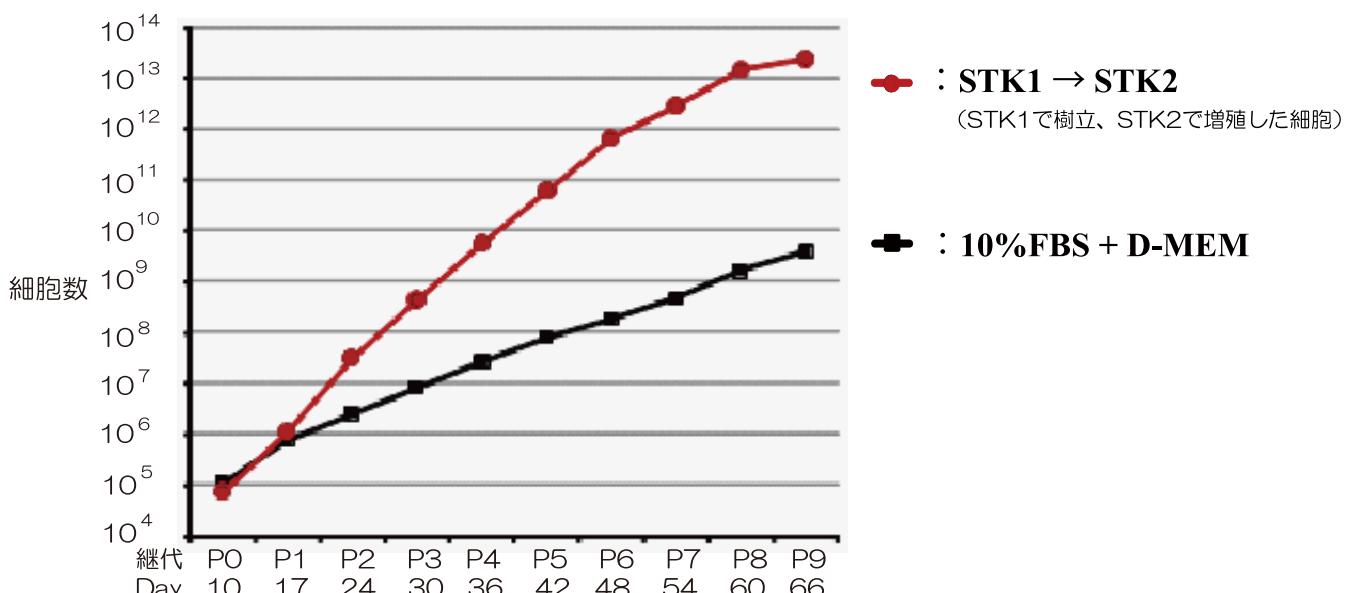


軟骨への分化能：Toluidine Blue染色



【データ提供：JST イノベーションプラザ広島 加藤プロジェクト 邸ら】

STK1®およびSTK2®を用いたヒト滑膜組織由来間葉系幹細胞の長期連続的な継代培養・大量増殖
(データ提供：株ツーセル 第11回日本再生医療学会ポスター発表)



● : STK1 → STK2

(STK1で樹立、STK2で増殖した細胞)

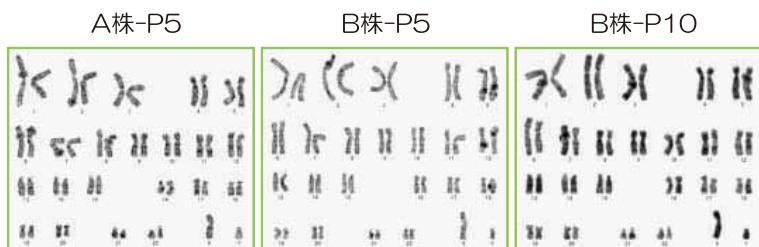
■ : 10%FBS + D-MEM

STK1[®] および STK2[®] で培養したヒト滑膜組織由来間葉系幹細胞の染色体検査結果 (G バンド分離法)

(データ提供: (株)ツーヤル 第11回日本再生医療学会ポスター発表)

無血清培地で培養したヒト滑膜組織由来間葉系幹細胞は、いずれの染色体においても異常は認められませんでした。

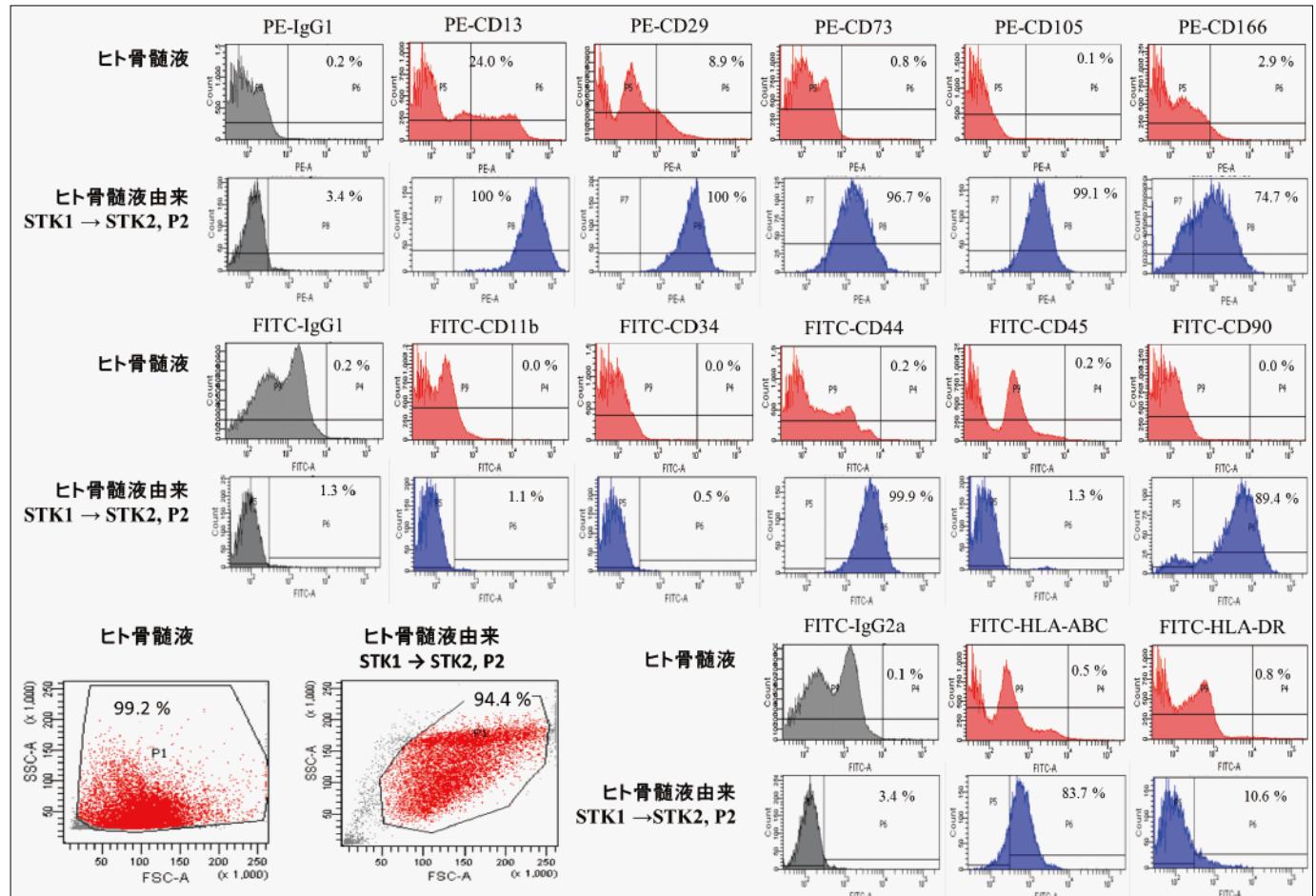
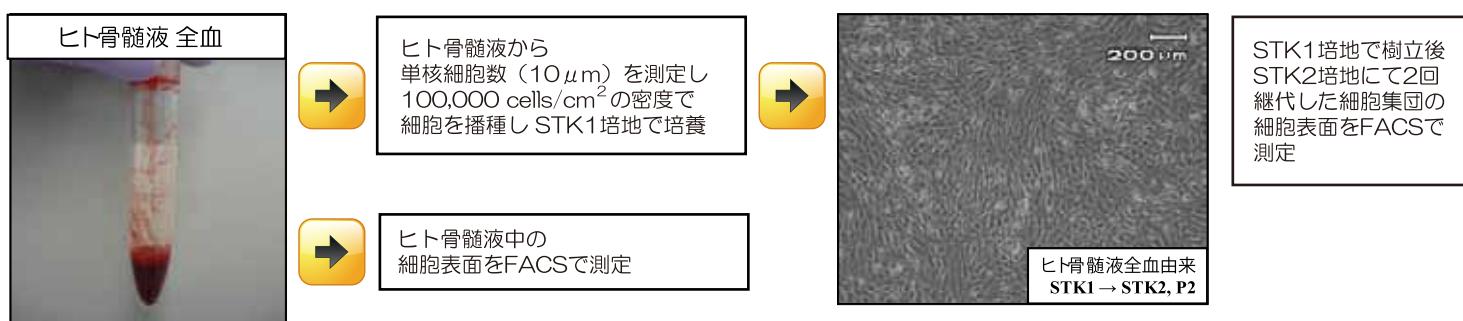
「(株)日本遺伝子研究所の検査結果より」



STK1[®]およびSTK2[®]を用いたヒト骨髓由来間葉系幹細胞の選択的樹立

(データ提供：株式会社ツーセル 第11回日本再生医療学会ポスター発表)

STK1[®]およびSTK2[®]を用いることで、骨髓液を直接播種するだけで間葉系幹細胞のマーカーであるCD73、CD90陽性の細胞を樹立できました。

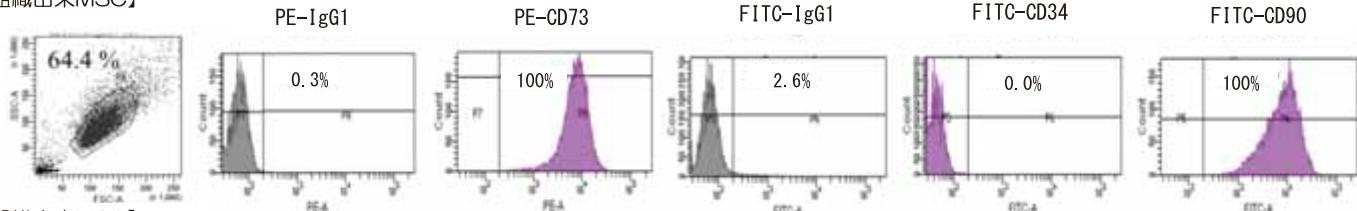


STK1[®] および STK2[®] を用いて樹立、培養したヒト滑膜組織及び脂肪組織由来間葉系幹細胞の
細胞表面マーカーの解析結果

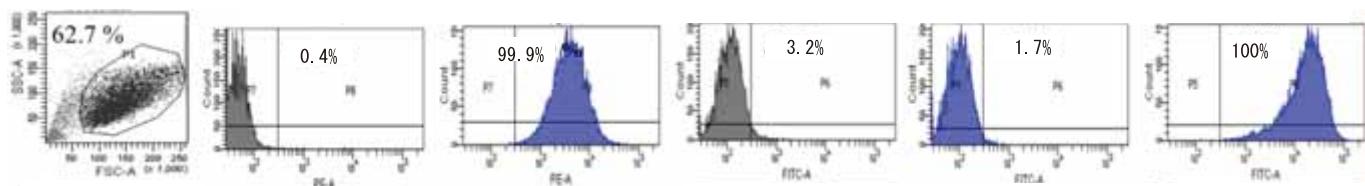
(データ提供 : (株)ツーセル 第 11 回日本再生医療学会ポスター発表)

STK1[®] および STK2[®] で培養した株は脂肪・滑膜問わず間葉系幹細胞マーカーであるCD73、CD90を始めとした陽性マーカーを強く発現していました。また、FACS測定のゲート範囲からも血清培地よりも細胞集団の均一性が高いことが分かりました。

【滑膜組織由来MSC】



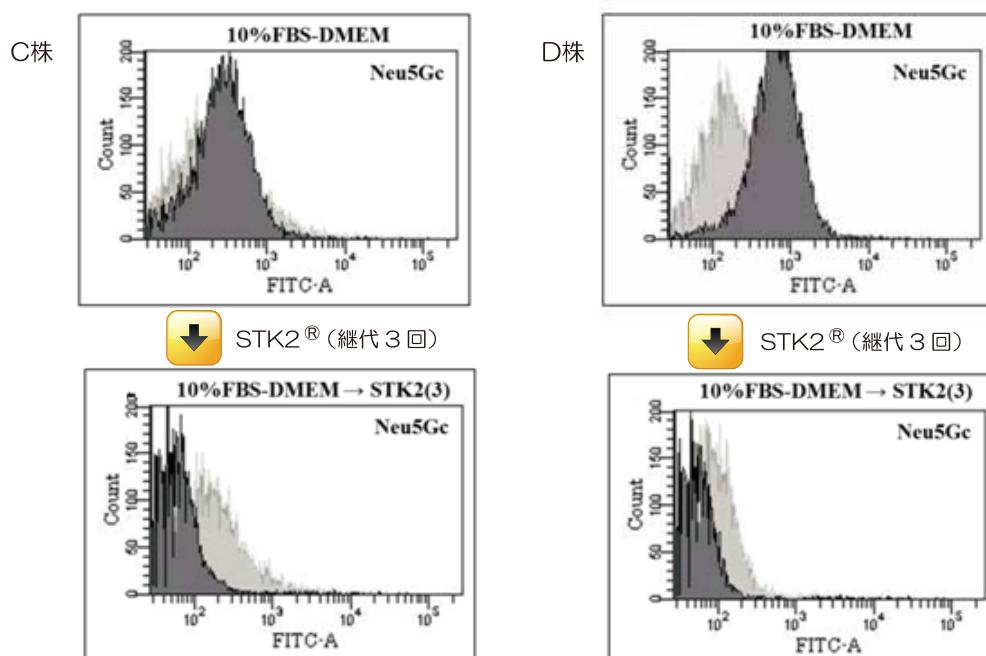
【脂肪組織由来MSC】



STK2[®] 使用による異種シアル酸 (Neu5Gc) の除去効果

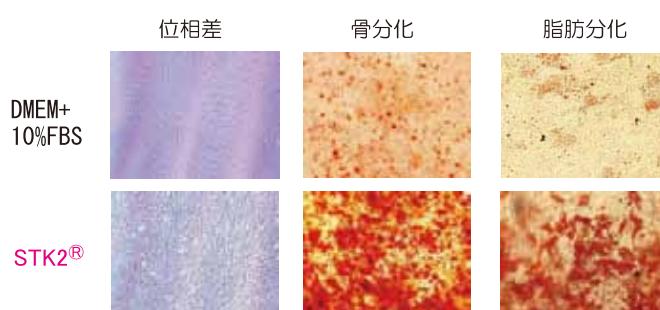
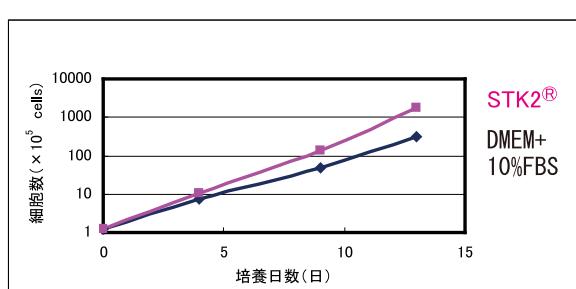
(データ提供 : (株)ツーセル 第 11 回日本再生医療学会ポスター発表)

血清添加培地で培養した細胞には異種のシアル酸 (Neu5Gc) が存在していますが、ヒト腸骨由来間葉系幹細胞を無血清培地 (STK2[®]) で3回継代することで、異種のシアル酸を除去できました。



STK2[®] によるヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞 (カタログ番号 : BBASCF) の増殖曲線と分化能 (社内データ)

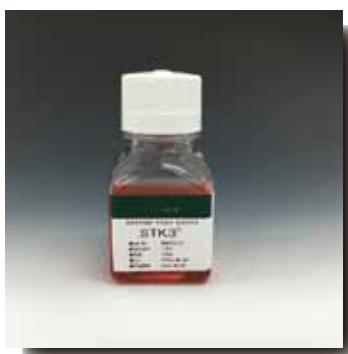
STK2[®] を用いて、皮下脂肪由来間葉系幹細胞を 1×10^5 cells/T25フラスコに播種し4日おきに継代した結果、血清添加培地と比較して高い増殖能と高い分化能を認めました。



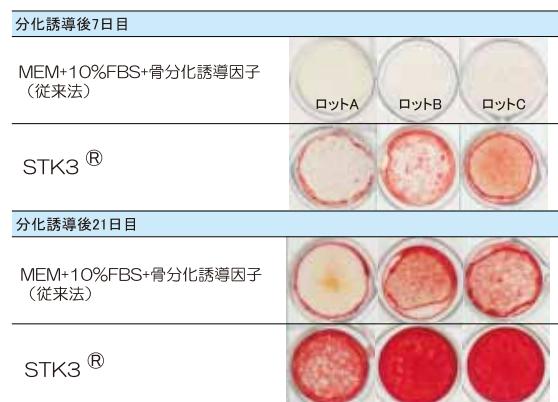
STK3® 間葉系幹細胞 骨分化用 無血清培地

研究用試薬

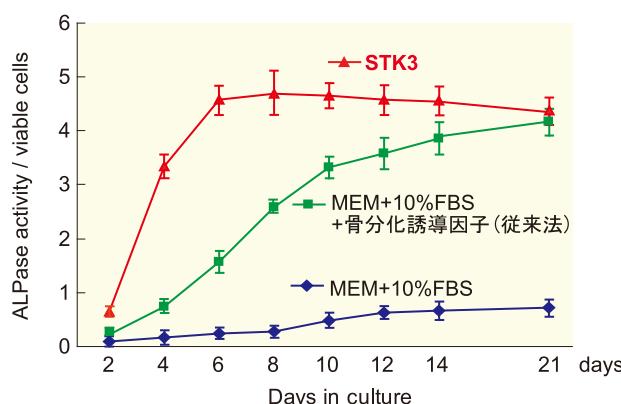
間葉系幹細胞の骨分化には約21日間の培養期間が必要でしたが、STK3®を使用すると7~10日間程度に短縮でき、細胞のロット間にによる分化能発現の差を軽減できます。



■骨分化の染色結果 (Alizarin red)



■Alkaline Phosphatase (ALP) 活性の測定



STK3®で骨分化を誘導すると、

□ 培養7日目…
ALPの活性上昇（左図）とAlizarin red染色（上図）が認められます。これまで21日を要した培養期間が7日に短縮できますので、研究スピードが大幅にアップします。

□ 培養21日目…
MEM+10%FBS+骨分化誘導因子（従来法）で分化誘導した場合よりも、高効率に分化誘導できます。（上図）
また、ロットAのように従来法では分化しない細胞に対しても、STK3®を使用すると分化を誘導することができます。（上図）

【データ提供：JST イノベーションプラザ広島 加藤プロジェクト 那ら】

注文 Cat.No	メーカー Cat.No	品 名	容量	価格 (円:税別)
KBDSTC101	DSTC101	STK1® : 初代 間葉系幹細胞用 無血清培地	100mL	43,000
KBDSTC102	DSTC102	STK2® : 間葉系幹細胞用 無血清培地	500mL	132,000
KBDSTC103	DSTC103	STK3® : 間葉系幹細胞 骨分化用 無血清培地	100mL	お問い合わせ下さい

適用確認済み 間葉系幹細胞	ヒト			
	骨髓	脂肪	滑膜	臍帯
STK1（初代培養用）	○*	○	○	○
STK2（増殖培養用）	○	○	○	○
STK3（骨分化用）	○	○	○	未確認

* : フィプロネクチンコートティッシュ使用時に確認済み

【保存条件】いずれの製品も凍結保存（解凍後は再凍結を避け、冷蔵保存にて1ヶ月以内にご使用下さい。）

【備考】①イス脂肪・滑膜組織由来MSCはSTK1、STK2で確認済み
②ブタ滑膜組織由来MSCはカルボキシルコートティッシュ使用時にSTK1、STK2で確認済み
※ 確認された細胞には個体差がございますので、必ずお手元の細胞を製品サンプルにてご確認下さい。

- 掲載の商品は、全て研究用試薬です。人や動物の医療用・臨床診断用等には使用しないでください。
- 掲載の価格は、2018年7月1日現在の価格です。予告なしに改定される場合がありますので、ご注文の際にご確認ください。

[開発元]

株式会社ツーセル

[販売元]

株式会社ケー・エー・シー

試薬事業部

〒661-0978 兵庫県尼崎市久々知西町2丁目1-20

（お問い合わせ窓口）

TEL: 06-6435-9747 FAX: 06-6435-9748

▪ URL: <http://www.kacnet.co.jp/>

▪ E-mail: cs-info@kacnet.co.jp