

TAKE CHARGE OF YOUR CELL QUALITY

各ワークフローのニーズに対応可能な
eTeSR™ および mTeSR™ Plus

高品質なヒト多能性幹細胞 (human pluripotent stem cell, hPSC) の維持培養は、後続の研修を成功させるうえで必要不可欠です。hPSC の定期的な凝集塊継代では、多くの種類の細胞株を長期にわたって拡大培養できるうえ、期待される核型の維持も可能であるため、STEMCELL Technologies は、この手法を推奨してきました。mTeSR™ Plus を含む既存の TeSR™ 培地は、凝集塊継代法の使用を目的として開発された培地です。

但し状況によっては、高密度な細胞を得るため、またはシングルセルアプリケーションに対応するために、hPSC のシングルセル継代が望まれる場合もあります。当社は、このようなニーズに応えるために eTeSR™ を開発しました。eTeSR™ は hPSC のシングルセルによる継代および維持培養で、細胞品質の維持に特化した新たな hPSC 維持培地です。eTeSR™ および mTeSR™ Plus を使用することで、どのような継代方法を用いた場合でもワークフローの各段階における細胞品質を保証することができます。

mTeSR™ Plus

cGMP 準拠のフィーダーフリー hPSC 維持培地

mTeSR™ Plus (商品コード 100-0276) は、論文で最も使用されているフィーダーフリー hPSC 維持培地¹⁻⁴の mTeSR™1 をベースとした培地で、高品質な hPSC の維持培養および拡大培養をサポートします。

mTeSR™ Plus で hPSC の凝集塊ベースの継代を行うことにより、細胞株の典型的な核型を維持しながらの長期にわたる拡大培養が可能です。Rho キナーゼ阻害剤も不要です。細胞株間のばらつきは依然として予測されますが、標準的な品質管理によりばらつきを抑え、妥当な再現性ある結果を得られます。細胞品質は、遺伝子解析および機能アッセイ (核型分析、hPSC Genetic Analysis Kit [商品コード 07550] または STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit [商品コード 05230] による分析など) により、定期的に評価可能です。

Why Use mTeSR™ Plus?

- pH 緩衝能の向上と主要な成分の安定化により、週末の培地交換を必要とせず、細胞品質を維持
- 凝集塊ベースの培養で優れた形態および細胞増殖率を実現
- 遺伝子編集および分化プロトコールとの適合性により、ワークフローを完成
- cGMP 準拠で製造されたウイルス安全性が確保された培地で、細胞の安全性を保証

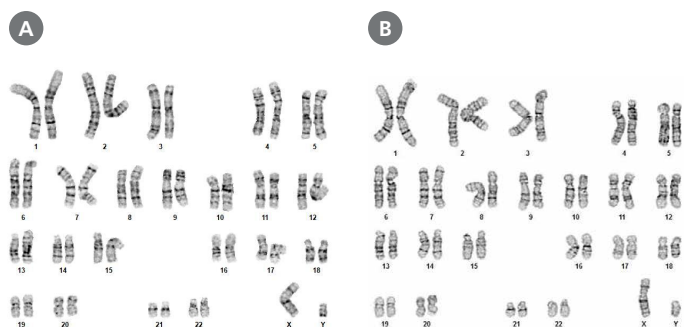


図 1. hPSCs Cultured in mTeSR™ Plus with Restricted Feeding Maintain a Typical Karyotype

mTeSR™ Plus で 30 回継代した (A) ヒト ES (H1) 細胞および (B) iPS (WLS-1C) 細胞の核型から、典型的な核型が維持されていることがわかります。

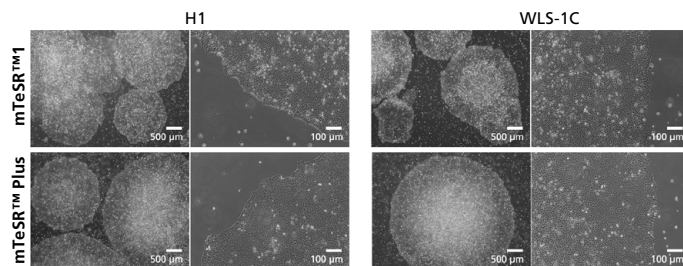


図 2. Normal Human ES and iPS Cell and Colony Morphology Is Observed in mTeSR™ Plus Cultures Passaged As Aggregates

図は、未分化のヒト ES (H1) 細胞および iPS (WLS-1C) 細胞を、Corning® Matrigel® マトリックス上の mTeSR™1 で培地交換を毎日行って培養した場合と、mTeSR™ Plus で培地交換の頻度を減らして培養した場合の細胞を示しています。10 回の継代後でも、細胞の核小体が明瞭に維持されており、hPSC に特徴的な高い核細胞質比も保たれています。細胞が高密度になり、多層構造が明瞭になったときが、継代のタイミングです。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/mTeSRPlus

hPSC のシングルセル継代は、ワークフローがシンプルで、技術的なトレーニングを減らすことができ、さまざまなアプリケーションに対する適合性があることから、日常的な維持培養として広く使用されるようになりました。このような利点はあるものの、長期にわたるシングルセル継代は hPSC の遺伝子不安定性の上昇と関連があり、これらの hPSC の品質を評価する厳格な品質管理対策を実施しているラボもありません。eTeSR™ を使用することで、hPSC のシングルセル継代でも遺伝子安定性を維持しながら hPSC の収量を増大させることが可能です。

eTeSR™

シングルセル継代に最適化された優れた維持培地

eTeSR™ (商品コード 100-1215) は、シングルセル継代に伴う細胞ストレスを軽減するために開発された培地で、hPSC の日常的な維持培養またはアプリケーション固有のシングルセル培養に使用することができます。eTeSR™ はこれまでの TeSR™ の組成¹⁻⁴をベースに、より短い継代スケジュールとより高い培養密度をサポートするように開発されたもので、シングルセル継代に伴う代謝効率の向上に対応しています。

主要な成分 (FGF2 など) の安定化、緩衝能の向上、および代謝物の最適化により、eTeSR™ では高品質な hPSC を作製することができ、凝集塊継代用の培地でシングル維持培養された hPSC に比べて遺伝子不安定性も向上します。

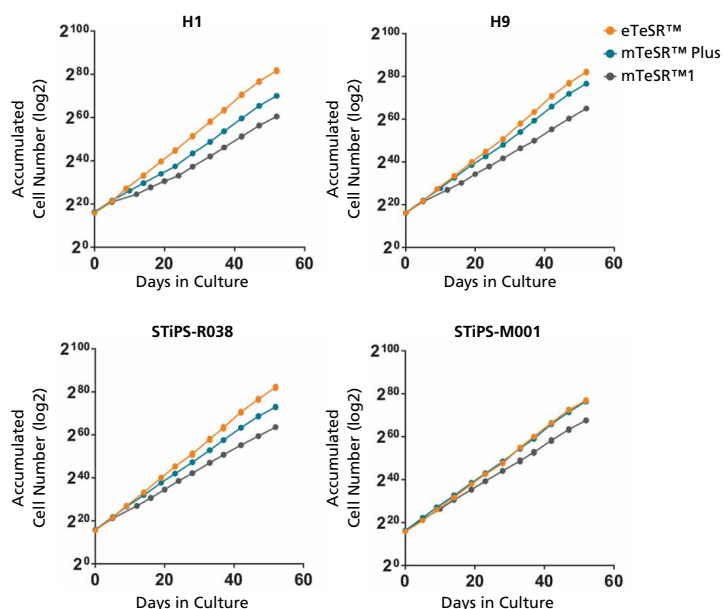


図 3. hPSCs Cultured As Single Cells Show Greater Expansion in eTeSR™

4 種類の hPSC 株を TrypLE™ でシングルセル継代し、Corning® Matrigel® でコーティングしたプレートで、mTeSR™1、mTeSR™ Plus、eTeSR™ のいずれかを使用して 11 回継代して維持培養しました。mTeSR™ Plus および eTeSR™ についてはフィーディングの回数を減らしたスケジュール、mTeSR™1 については毎日のフィーディングスケジュールで、hPSC を 4 日間維持培養し、5 日目に継代しました。累積細胞数は、各継代終了時における細胞数を、継代で播種した細胞数で割って算出しました。

Why Use eTeSR™?

- シングルセル継代や高密度培養に伴うストレスを軽減しながらも、収量が増大
- 遺伝子編集、クローニング、分化、および凍結保存プロトコールとの適合性により、ワークフローを完成
- 自発的分化を排除可能
- 毎日または回数を減らした培地交換スケジュールのいずれでも、高い細胞品質と性能を維持

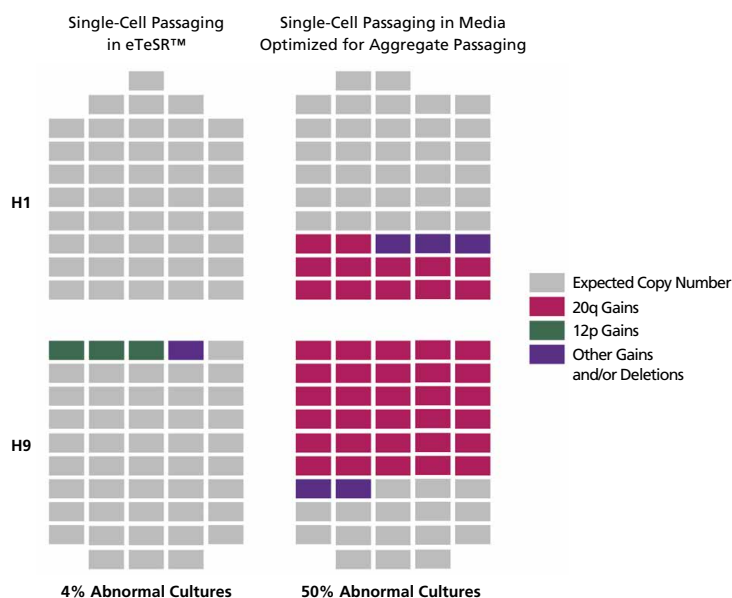


図 4. hPSC Cultures Demonstrate Improved Genetic Stability When Maintained Long Term in eTeSR™ Using Single-Cell Passaging

異なる培地で長期にわたりシングルセル継代した hPSC から作成したデータ。H1 および H9 由来の 24 個の hPSC クローンを、自動システムを使用して 20 週間継代しました。hPSC Genetic Analysis Kit (商品コード 07550) によるクローンの反復異常スクリーニングの実施後に、FISH (20q および 12p) による確認検査を実施しました。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/eTeSR

参考文献: 1. Chen G et al. (2011) Nat Methods 8(5): 424–9. 2. Ludwig TE et al. (2006) Nat Methods 3(8): 637–46. 3. Ludwig TE et al. (2006) Nat Biotechnol 24(2): 185–7. 4. Beers J et al. (2012) Nat Protoc 7(11): 2029–40.

Copyright © 2023 by STEMCELL Technologies Inc. All rights reserved including graphics and images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, and STEMdiff are trademarks of STEMCELL Technologies Canada Inc. TeSR, eTeSR, and mTeSR are trademarks of WARF. TrypLE is a trademark of Life Technologies Corporation. All other trademarks are the property of their respective holders.

PRODUCTS ARE FOR RESEARCH USE ONLY AND NOT INTENDED FOR HUMAN OR ANIMAL DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USES UNLESS OTHERWISE STATED. FOR ADDITIONAL INFORMATION ON QUALITY AT STEMCELL, REFER TO WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE.