

hPSC DIFFERENTIATION

多能性幹細胞由来細胞の
研究用ツール

目次

4 [STEMdiff™ の概要](#)

神経系

6 [Human iPSC-Derived Neural Progenitor Cells](#)

7 [BrainPhys™ Neuronal Medium](#)

7 [NeuroFluor™ NeuO](#)

8 **2D Neural Models**

8 [STEMdiff™ Neural System](#)

9 [STEMdiff™ Forebrain Neuron Kits](#)

9 [STEMdiff™ Midbrain Neuron Kits](#)

10 [STEMdiff™ Astrocyte Kits](#)

10 [STEMdiff™ Motor Neuron Kits](#)

11 [STEMdiff™ Microglia Culture System](#)

12 **3D Neural Models**

12 [STEMdiff™ Cerebral Organoid Kits](#)

13 [STEMdiff™ Dorsal Forebrain Organoid Kit](#)

13 [STEMdiff™ Ventral Forebrain Organoid Kit](#)

14 [STEMdiff™ Midbrain Organoid Kit](#)

14 [STEMdiff™ Choroid Plexus Organoid Kits](#)

循環系

15 **循環細胞**

15 [STEMdiff™ Megakaryocyte Kit](#)

15 [STEMdiff™ Erythroid Kit](#)

16 [STEMdiff™ Hematopoietic System](#)

17 **血管**

17 [STEMdiff™ Endothelial Kit](#)

18 [STEMdiff™ Blood Vessel Organoid Kit](#)

19 **心臓**

19 [STEMdiff™ Ventricular Cardiomyocyte System](#)

19 [STEMdiff™ Cardiomyocyte Expansion Kit](#)

呼吸器系

20 **2D 肺モデル**

20 [STEMdiff™ Lung Progenitor Kit](#)

21 **3D 肺モデル**

21 [STEMdiff™ Branching Lung Organoid Kit](#)

消化器系

22 [STEMdiff™ Definitive Endoderm Kit](#)

22 [hPSC-Derived Endoderm qPCR Array](#)

23 **腸**

23 [STEMdiff™ Intestinal Organoid Kit](#)

24 **胃**

24 [STEMdiff™ Gastric Organoid Kit](#)

25 **膵臓**

25 [STEMdiff™ Pancreatic Progenitor Kit](#)

26 **肝臓**

26 [STEMdiff™ Hepatocyte Kit](#)

免疫系

27 [STEMdiff™ NK Cell Kit](#)

27 [STEMdiff™ T Cell Kit](#)

28 [STEMdiff™ Monocyte Kit](#)

感覚系

29 [STEMdiff™ Neural Crest Kit](#)

29 [STEMdiff™ Sensory Neuron Kits](#)

筋肉系

30 [STEMdiff™ Myogenic Progenitor Supplement Kit](#)

間質系

31 [STEMdiff™ Mesoderm Induction Medium](#)

31 [STEMdiff™ Mesenchymal Progenitor Kit](#)

泌尿生殖器系

32 [STEMdiff™ Kidney Organoid Kit](#)

自由度の高い、ユーザーによる分化誘導

33 [STEMdiff™ APEL™2 Medium](#)

33 [TeSR™-E5](#)

33 [TeSR™-E6](#)

細胞の品質評価

34 [STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit](#)

34 [hPSC Trilineage Differentiation qPCR Array](#)

関連製品

35 [低分子化合物](#)

35 [サイトカイン](#)

36 [AggreWell™ プレート](#)

37 [抗体](#)

37 [ミトコンドリア用キットおよび色素](#)

37 [GloCell™ Fixable Viability Dye](#)

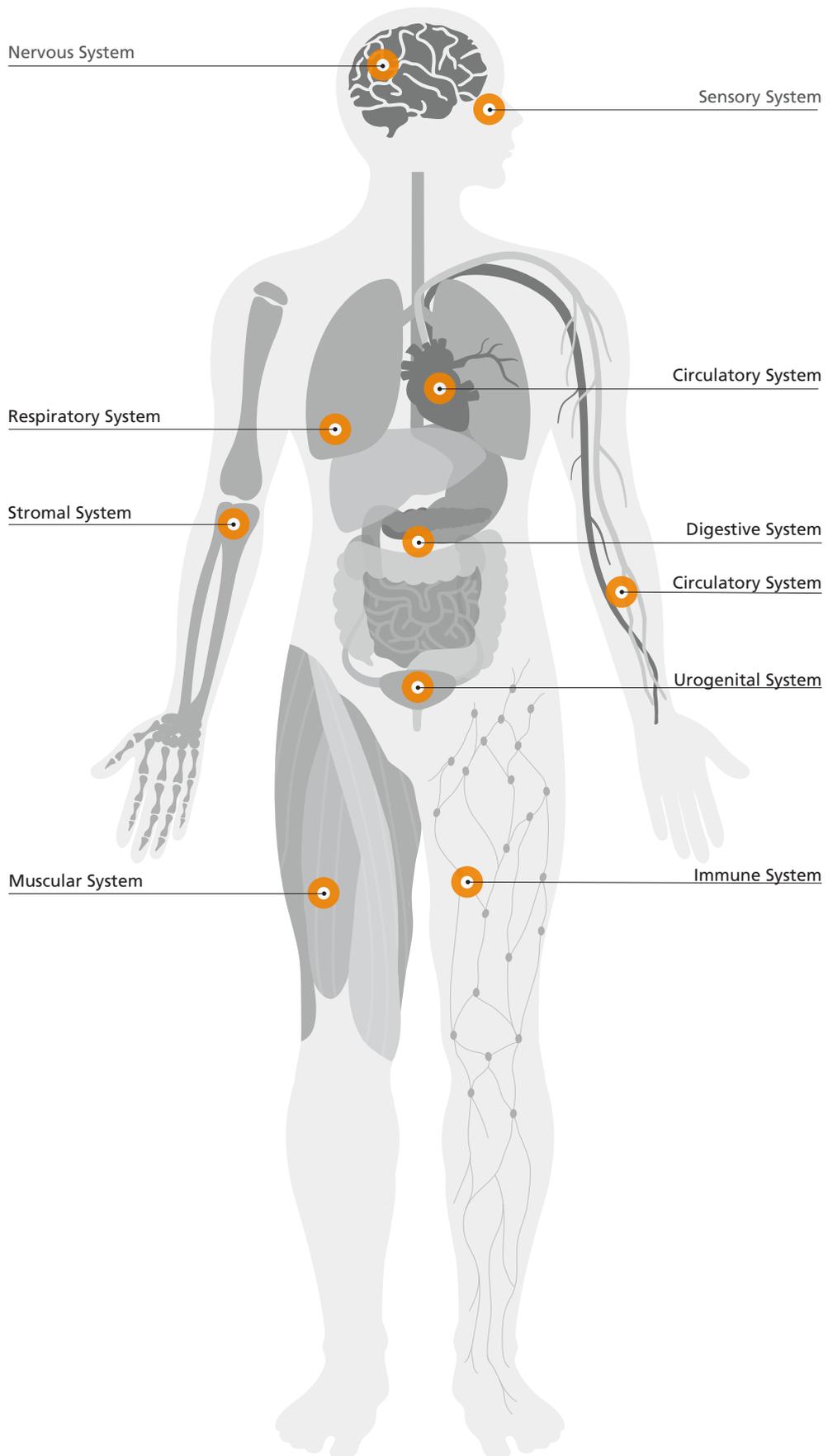
37 [Annexin V Dye](#)

37 [Caspase 3/7 Assay Reagents](#)

ラボトレーニングコースおよびプログラム

38 [ラボトレーニングコースおよびプログラム](#)

39 [参考文献](#)



STEMdiff™ 多能性幹細胞分化培地

高品質な結果を得るためには、ヒト多能性幹細胞 (human pluripotent stem cell, hPSC) の安定した分化が必要不可欠です。hPSC 培養条件が標準化されていないと、詳細な幹細胞分化プロトコルがあり、厳格に従ったとしても、安定した分化は得られません^{1,2}。hPSC に最適化された培地キットシリーズSTEMdiff™ をお試しください。様々な胚性幹 (embryonic stem, ES) 細胞株および人工多能性幹 (induced pluripotent stem, iPSC) 細胞株を、三胚葉すべてに由来する 2D 細胞タイプおよび 3D オルガノイドに再現性よく分化させることができます。使いやすい各キットには詳細でわかりやすいプロトコルがあり、お客様の分化プロトコルの標準化が可能です。これらの最適化された培地およびプロトコルにより、遺伝子編集された、または患者由来の hPSC 株から、同一の遺伝子型を有するさまざまな細胞タイプを作製できます。STEMdiff™ シリーズの製品は、当社の hPSC 培養試薬システムの一部として、TeSR™ hPSC 維持培地に対応しています。

以降のページで、神経系、循環系、呼吸器系、消化器系、免疫系、感覚系、筋肉系、間質系、泌尿生殖器系、およびカスタマイズ可能な細胞やオルガノイドへの分化を可能にするツールについてご紹介いたします。

Why Use STEMdiff™?

- 厳格な品質管理下で最適化された組成により、実験の変動を低減
- さまざまな ES および iPSC 細胞株の分化が可能
- 簡素化されたキット構成により、三胚葉すべての細胞への分化を標準化
- 前駆細胞タイプのセルバンクを作製することにより、実験の自由度を高めることや独自の後続分化のための信頼性ある細胞供給源として使用することが可能

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.STEMdiff.com

hPSC の維持培養：適切な細胞で研究を開始できます

自己複製能を有する未分化の ES 細胞および iPSC 細胞を維持培養し、後続のあらゆる研究アプリケーションを成功させるためには、特定の培養条件、最良の方法による培養が必要不可欠です。当社の組成が明確なフィーダーフリー培地 TeSR™ ファミリー、ゼノフリー細胞接着基質、組成が明確な継代試薬を使用して hPSC を培養することで、研究におけるばらつきを最小限に抑えられます。また、hPSC 特性解析ツールも取りそろえており、品質管理および研究の透明性の確保を可能にします。長期保管に関して、当社の凍結保存培地製品は、融解後の生存率を高く維持し、hPSC 回収率を最大限に高めることを目的としています。

ヒト人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC) を用いた再現性のある研究は、特性が十分に解析され、品質管理されたセルバンクにかかっています。コントロール細胞株 SCTi003-A を使用することにより、信頼性のある高品質な iPSC 供給源の細胞で、確信をもって研究を開始することができます。独自の細胞株を作製する場合、当社ではさまざまなドナー細胞タイプに対応したリプログラミングソリューションを取り揃えています。研究にかかる時間を短縮し、研究を分化誘導から開始することをご希望ですか？ iPSCdirect™ はすぐに分化誘導に使用できる iPSC で、hPSC バンクの作製、維持培養、特性解析が不要であるだけでなく、iPSC を長期にわたって維持培養する必要もありません。



Select the Right Tools for Maintenance and More

hPSC のリプログラミング、維持培養、ゲノム編集、特性解析、凍結保存用ツールをご覧ください。



Successful Differentiation Begins with High-Quality hPSCs

確信をもって hPSC ワークフローを開始することができます。当社の hPSC 株および hPSC 由来細胞に関する詳細情報をご覧ください。

神経系

Human iPSC-Derived Neural Progenitor Cell

高品質ですぐに使える Human iPSC-Derived Neural Progenitor Cell (NPC、商品コード 200-0620、200-0621) を使用して、神経系ワークフローの質を高めましょう。これらの凍結保存中枢神経系 (central nervous system, CNS) タイプの前駆細胞は、健康な女性ドナーの末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 由来で広範な検査を実施済みの堅牢なヒト人工多能性幹細胞 (iPSC) コントロール細胞株 SCTi003-A (商品コード 200-0511) から分化されたものです。解凍後すぐに使えるこのヒト NPC は多分化能をもち、独自の後続ワークフローに最適であり、前脳ニューロン、中脳ニューロン、アストロサイトなどのさまざまな CNS 細胞タイプを作製する STEMdiff™ Neural System に対応しています。NPC は、STEMdiff™ Neural Progenitor Medium (商品コード 05833) による拡大培養が可能で、大量の細胞を必要とするワークフローのスケールアップおよびコスト削減が実現可能です。拡大培養後の NPC を、STEMdiff™ Neural Progenitor Freezing Medium (商品コード 05838) を使用して凍結保存すれば、実験スケジュールの自由度が高まります。

この研究用 (research-use-only, RUO) 製品は、学術および商業目的の両方において同意が得られています。SCTi003-A は、施設内審査委員会 (Institutional Review Board, IRB) が承認した同意説明文書およびプロトコルに基づき、倫理的な方法で提供された細胞から作製されたものです。この細胞は、非組み込み型技術によってリプログラミングされたもので、核型が安定しており、三胚葉への分化能を示し、未分化細胞マーカーを発現しています。hPSCreg® に登録されているため、研究領域における基準に基づく倫理的および生物学的適合性が保証されています。

注記: 研究用または in vitro の研究室ベースの組織培養用です。いかなる場合であっても、ヒトに対する使用は認められていません。

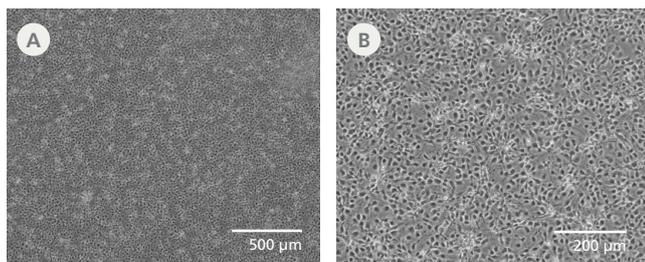


図 1. Human iPSC-Derived Neural Progenitor Cells Exhibit High-Quality Morphology Characteristic of Multipotent Central Nervous System Progenitor Cells

凍結保存された Human iPSC-Derived Neural Progenitor Cell を解凍し、Corning® Matrigel® でコーティングしたプレートに 200,000 細胞/cm² で播種しました。37°C で 24 時間、STEMdiff™ Neural Progenitor Medium で NPC をインキュベートしてから、明視野顕微鏡で分析しました。NPC は、NPC に期待される小さな涙滴形の形態を示しています。(A) 倍率 10 倍、(B) 倍率 20 倍。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/NPCs

Why Use Human iPSC-Derived Neural Progenitor Cells?

- STEMdiff™ Neural Progenitor Medium を使用して融解後直ちに拡大培養可能
- 高度に特性解析された中間神経前駆細胞から分化ワークフローを開始することにより時間を短縮可能
- STEMdiff™ Neural System を使用して、前脳ニューロンまたはアストロサイトに分化可能
- 同一の遺伝的背景を有するニューロンとアストロサイトの共培養により関連性を確認
- 高度に特性解析されたコントロール細胞株 SCTi003-A 由来の高品質な NPC

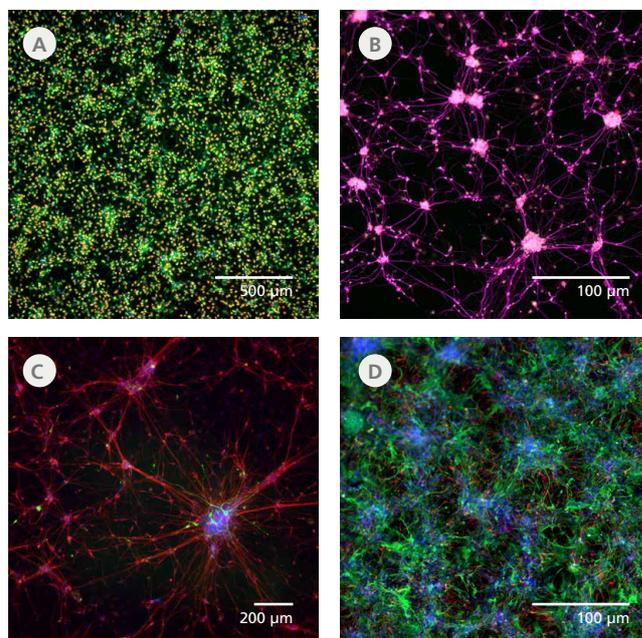


図 2. Human iPSC-Derived Neural Progenitor Cells Can Effectively Differentiate into Forebrain Neurons, Midbrain Neurons, and Astrocytes

SCTi003-A iPSC から作製された Human iPSC-Derived Neural Progenitor Cell を融解後培養し、固定後に免疫組織化学法で解析しました。(A) NPC は神経前駆細胞マーカーである SOX1 (赤) および PAX6 (緑) を発現。(B) STEMdiff™ Forebrain Neuron Kit で培養した NPC は、ニューロン特定マーカーである βIII-TUB (マゼンタ) を発現する前脳ニューロン細胞集団を産生。(C) STEMdiff™ Midbrain Neuron Kit で培養した NPC は、ニューロン特定マーカーである βIII-TUB (赤) およびドーパミン作動性ニューロンマーカーである TH (緑) を発現する中脳ニューロン細胞集団を産生。(D) STEMdiff™ Astrocyte Kit で培養した NPC は、アストロサイトマーカーである S100β (緑) および GFAP (赤) を発現するアストロサイト集団を産生。

BrainPhys™ Neuronal Medium

生理条件下で活動性ニューロンを培養できます

BrainPhys™ Neuronal Medium (商品コード 05790) およびサプリメントを使用して、hPSC 由来 NPC からニューロンを効率的に作製することができます。hPSC 由来 NPC の分化およびニューロン成熟のための基礎培地として BrainPhys™ Neuronal Medium を使用すると、ヒトの脳環境の再現性に優れた神経生理学的に活性の高い培地を作製できます³。

NeuroCult™ SM1 Neuronal Supplement (商品コード 05792、公表済みの B27 組成⁴に基づく)、N2 サプリメント (商品コード 05793)⁵ などの神経系サプリメントやさまざまなサイトカインおよび低分子化合物と基礎培地を併用するプロトコールを使用して、さまざまなニューロンのサブタイプを作製できます。

BrainPhys™ Neuronal Medium を使用して、系統転換した体細胞由来 (つまり、hPSC 中間体を経由しない) または Ngn2 を強制発現させた hPSC 由来の誘導ニューロンの培養にも使用可能です³。

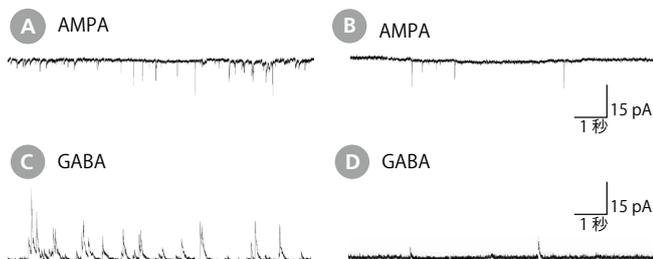


図 3. hPSC-Derived Neurons Matured in BrainPhys™ Neuronal Medium Show Improved Excitatory and Inhibitory Synaptic Activity by 44 Days

NPC は、EB ベースのプロトコールで、STEMdiff™ Neural Induction Medium を使用し、H9 細胞から作製しました。その後、(A、C) 2% の NeuroCult™ SM1 Supplement、1% の N2 Supplement-A、20 ng/mL の GDNF、20 ng/mL の BDNF、1 mM の db-cAMP、および 200 nM のアスコルビン酸を添加した BrainPhys™ Neuronal Medium または (B、D) 同一のものを添加した DMEM/F12 で、44 日間 in vitro 培養し、ニューロンへの分化を開始しました。(A、C) BrainPhys™ Neuronal Medium で成熟させたニューロンは、自発的な興奮性 (AMPA による伸介、A) および抑制性 (GABA による伸介、C) のシナプスイベントをパッチクランプ解析で示しました。自発的シナプスイベントは、DMEM/F12 に播種して成熟させたニューロン (B、D) に比べ、BrainPhys™ Neuronal Medium で成熟させたニューロンのほうが、一貫して頻度が高く、振幅が大きくなっていました。図はデータの一例です。hPSC 由来ニューロンは、BrainPhys™ Neuronal Medium で 126 日まで正常に in vitro で成熟しました。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.BrainPhys.com

Why Use BrainPhys™ Neuronal Medium?

- 脳の細胞外環境を模した培地で生理的培養条件を実現
- ニューロンの機能が向上し、シナプス活性の高いニューロンの比率が上昇
- 培地交換や細胞への影響を与えることなく、機能アッセイが可能
- ES/iPS 細胞由来ニューロンおよび CNS 由来ニューロンの長期培養に対応
- 厳格な原料スクリーニングおよび品質管理に合格した培地で、ロット間のばらつきが最小限に抑えられており、一貫した結果を保証

NeuroFluor™ NeuO

Live ニューロンを選択的に標識

NeuroFluor™ NeuO (商品コード 01801) は、初代および多能性幹細胞由来 Live ニューロンを選択的に標識する、膜透過性蛍光プローブです⁶。このプローブによる標識は非永続的なもので、洗浄によって除去可能であり、標識されていない生細胞を後続アプリケーションで使用できます。

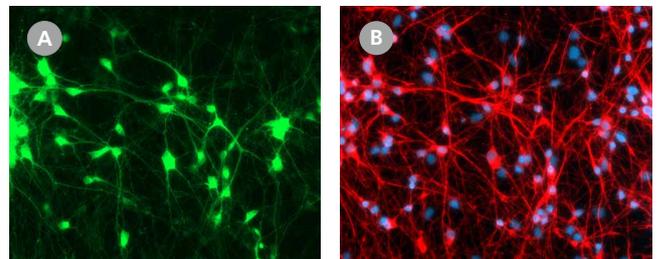


図 4. NeuroFluor™ NeuO Selectively Labels hPSC-Derived Neurons

(A) hPSC 由来 (XCL-1) NPC から作製したニューロン前駆細胞を STEMdiff™ Neuron Maturation Medium で培養しました。18 日間の培養後、hPSC 由来ニューロンを NeuroFluor™ NeuO (緑) で標識しました。(B) 同一の培養物をその後固定し、クラス III β チューブリン (赤) の免疫染色を実施しました。核は DAPI で対比染色されています。画像から、NeuroFluor™ NeuO がクラス III β チューブリン陽性ニューロンを特異的に標識していることがわかります。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/NeuO-imaging

2D 神経系モデル

STEMdiff™ Neural System

hPSC を神経前駆細胞、ニューロン、グリアに分化させます

STEMdiff™ SMADi Neural Induction Kit (商品コード 08581) は、STEMdiff™ Neural Induction Medium (商品コード 05835) に STEMdiff™ SMADi Neural Induction Supplement を組み合わせたもので、TGF-β および BMP 依存性 SMAD シグナル伝達の阻害によって分化を誘導し、分化の難しい細胞株も効率的に神経誘導することができます。

STEMdiff™ SMADi Neural Induction Kit を用いた胚様体 (embryoid body, EB) プロトコルまたは単層培養プロトコルで、神経前駆細胞 (NPC) を作製できます。STEMdiff™ Neural Rosette Selection Reagent (商品コード 05832) により神経ロゼットを迅速かつ効率的に分離し、CNS タイプの NPC を濃縮することができます。

STEMdiff™ SMADi Neural Induction Kit で作製した NPC は、無血清の STEMdiff™ Neural Progenitor Medium (商品コード 05833) および STEMdiff™ Neural Progenitor Freezing Medium (商品コード 05838) を使用して、効率的に拡大培養および凍結保存することができます。

STEMdiff™ Neural Progenitor Medium で培養した NPC は、典型的な NPC の形態を示し (図 5D)、各継代で安定的に 3 ~ 5 倍に拡大培養可能で、大量の細胞を作製できます。また、STEMdiff™ SMADi Neural Induction Kit で作製した NPC は、系列特異的な STEMdiff™ 分化および成熟キット類を使用して、機能性ニューロンのサブタイプに分化させることができます。

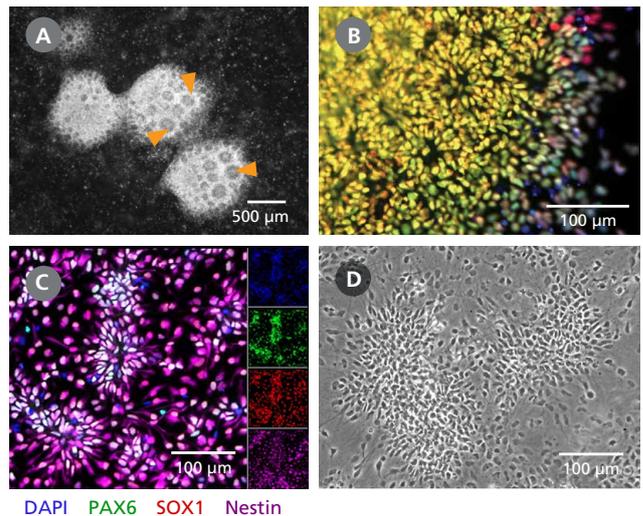


図 5. Neural Induction Using the STEMdiff™ SMADi Neural Induction Kit and STEMdiff™ Neural Progenitor Medium Generates Neural Rosettes and Enriches for CNS-type Neural Progenitor Cells

hPSC は mTeSR™1 で維持培養し、EB プロトコルで NPC に分化しました。(A) 形態的に明瞭な神経ロゼット (矢印で図示) が、EB の再播種後 2 日ではっきり確認できるようになりました。(B、C) NPC は、CNS タイプの NPC マーカーである PAX6 (B および C、緑)、SOX1 (B および C、赤)、Nestin (C、紫) を発現しています。核は DAPI で対比染色されています。(D) STEMdiff™ Neural Progenitor Medium で維持培養された NPC (C) は、典型的な NPC の形態を示しています (継代 1 代 6 日目)。



TECH TIP

神経誘導および分化ワークフローの設計



TRAINING

無料のバーチャルオンデマンド神経誘導コース

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-NIM-SMADi

STEMdiff™ Forebrain Neuron Kits

無血清の STEMdiff™ Forebrain Neuron Differentiation Kit (商品コード 08600) および STEMdiff™ Forebrain Neuron Maturation Kit (商品コード 08605) を使用して、興奮性および抑制性的の前脳タイプ (FOXG1⁺) ニューロンが混在する細胞集団を作製することができます。この成熟キットの基礎培地は、機能性ニューロンの電気活性および成熟を可能にするニューロン用培地である BrainPhys™ (商品コード 05790) です。

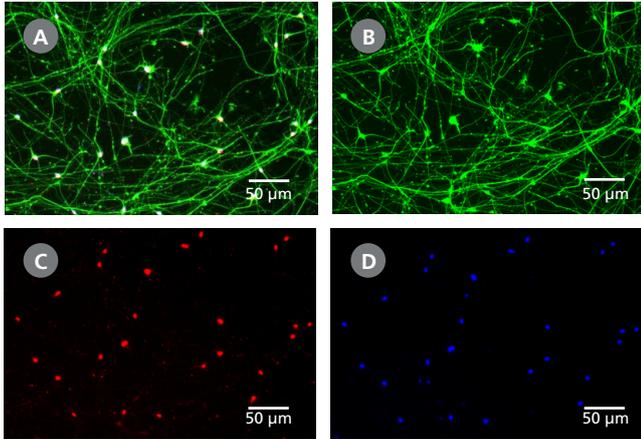


図 6. Downstream Differentiation of Neural Progenitor Cells to Neurons Is Possible Using the STEMdiff™ Differentiation and Maturation Kits

(A) STEMdiff™ SMADi Neural Induction Kit の EB プロトコールを使用し、mTeSR™1 で培養した STiPS-R038 hPSC から作製した NPC を、STEMdiff™ Forebrain Neuron Differentiation Kit を 7 日間、STEMdiff™ Forebrain Neuron Maturation Kit を 14 日間使用して、皮質ニューロンに分化させ、成熟させました。得られた培養物には、(B) 高純度のクラス III β チューブリン陽性ニューロン (緑) 集団と 10% 未満の GFAP 陽性アストロサイト (図示せず) が含まれます。(C) 作製したニューロンは FOXG1 発現 (赤) についても陽性を示し、前脳タイプであることがわかります。(D) 核は Hoechst (青) で標識されています。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/STEMdiff-Neuron

STEMdiff™ Midbrain Neuron Kits

無血清の STEMdiff™ Midbrain Neuron Differentiation Kit (商品コード 100-0038) および STEMdiff™ Midbrain Neuron Maturation Kit (商品コード 100-0041) を使用して、ドーパミン作動性ニューロンを作製することができます。産生された中脳へパターン化された細胞集団には、FOXA2、LMX1A 陽性ニューロン前駆体が含まれ、長期の維持培養が可能なニューロンが得られます (図 7)。

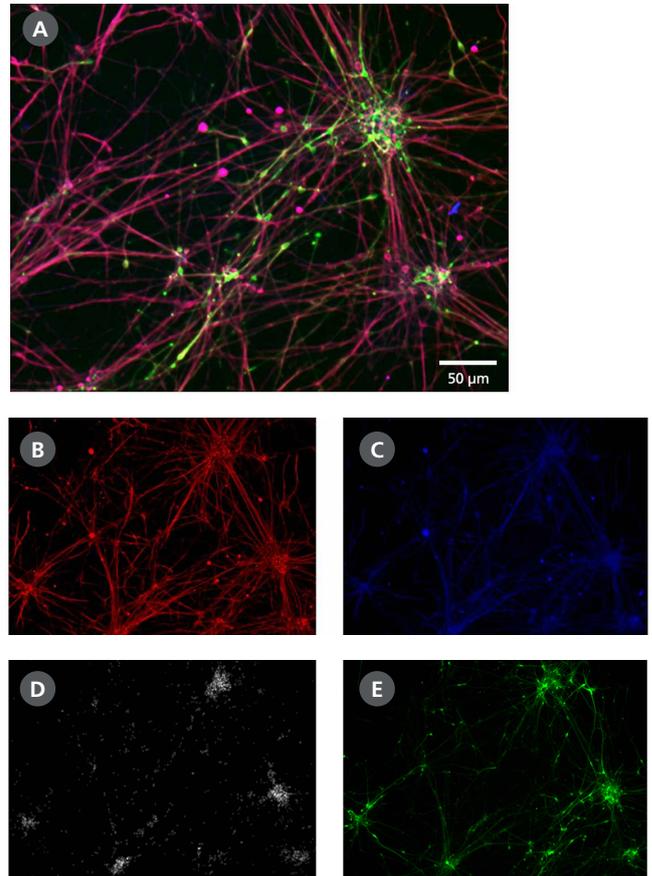


図 7. Midbrain-Type Neurons Express Tyrosine Hydroxylase and Dopamine Transporters (DAT) After Differentiation and Maturation in STEMdiff™ Midbrain Neuron Kits

(A) STEMdiff™ SMADi Neural Induction Kit の単層培養プロトコールを使用し、mTeSR™1 で培養した H9 hPSC から作製した NPC を、STEMdiff™ Midbrain Neuron Differentiation Kit を 12 日間、STEMdiff™ Midbrain Neuron Maturation Kit を 14 日間使用して、中脳タイプのニューロンに分化させ、成熟させました。得られた培養物には、(B) クラス III β チューブリン陽性ニューロン (赤) の集団が含まれ、これらは (C) DAT (青) を発現しており、(E) 15% 以上のチロシンヒドロキシラーゼ陽性細胞 (緑) も含まれています。(D) 核は DAPI (白) で標識されています。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/STEMdiff-Dopa

STEMdiff™ Astrocyte Kit

STEMdiff™ Astrocyte Differentiation Kit (商品コード 100-0013) および STEMdiff™ Astrocyte Maturation Kit (商品コード 100-0016) を使用して、高純度のアストロサイト集団を作製することができます。成熟後のアストロサイトは、カルシウムイメージングにより機能的であることが確認され(データ図示せず)、共培養アプリケーションに応用することができます。

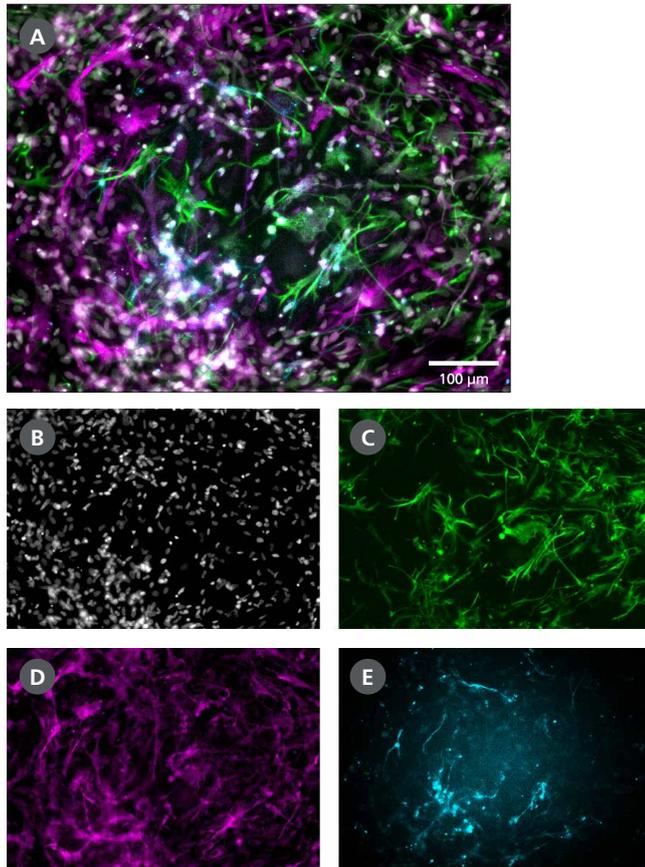


図 8. Cortical-Type Astrocytes Are Generated After Culture in STEMdiff™ Astrocyte Differentiation and Maturation Kits

(A) STEMdiff™ SMADi Neural Induction Kit の胚様体 (EB) プロトコールを使用し、TeSR™-E8™ で培養した hPSC から作製した NPC を、STEMdiff™ Astrocyte Differentiation Kit による 3 週間の培養後に STEMdiff™ Astrocyte Maturation Kit で 3 週間培養し、皮質タイプのアストロサイトに分化させ、成熟させました。(B) 核は DAPI (グレー) で標識されています。得られた培養物には、高純度のアストロサイト集団が含まれ、これらの (C) 60% 以上が GFAP 陽性 (緑)、(D) 70% 以上が S100B 陽性 (マゼンタ) であり、(E) ニューロン (DCX 陽性細胞、シアン) は 15% 未満です。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-Astro

www.stemcell.com/Motor-Neuron

STEMdiff™ Motor Neuron Kit

STEMdiff™ Motor Neuron Differentiation Kit (商品コード 100-0871) を使用して、わずか 14 日間で、純粋な in vitro 運動ニューロン集団を hPSC から作製することができます。これらの運動ニューロンは、BrainPhys™ ベースの STEMdiff™ Motor Neuron Maturation Kit (商品コード 100-0872) を使用して、さらに成熟させることもできます。得られる運動ニューロン集団は、期待される運動ニューロンマーカーを高発現します。

Why Use the STEMdiff™ Motor Neuron Kits?

- わずか 14 日間で、ヒト人工多能性幹細胞から運動ニューロンを作製可能
- シンプルでスケーラブルなワークフローにより、運動ニューロン培養を効率化
- ニューロンの活性および成熟を可能にする BrainPhys™ Neuronal Medium により、生理学的に関連する結果を実現
- 共培養アプリケーションに対応する分化キットと組み合わせることにより、複雑な細胞間相互作用をモデル化

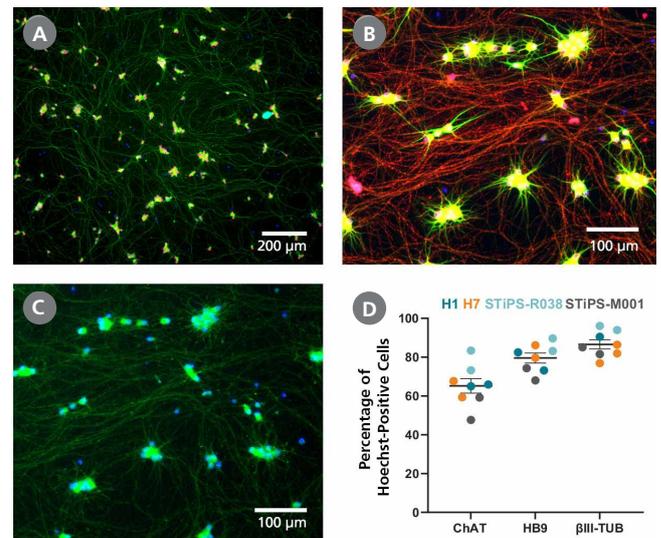


図 9. hPSC-Derived Motor Neurons Can Be Further Matured in STEMdiff™ Motor Neuron Maturation Medium

STEMdiff™ Motor Neuron Maturation Kit を使用して、さまざまな細胞株由来の運動ニューロン前駆細胞を成熟させました。(A) 成熟運動ニューロン培養物には、ニューロン特定マーカーである βIII-TUB (緑)、成熟運動ニューロンマーカーである HB9 (赤)、(B) SYNAPSIN (赤)、MAP2 (緑)、(C) コリン作動性ニューロンマーカーである ChAT (緑) を発現する細胞集団が含まれています。核は Hoechst (青) で標識されています。(D) 2 種類の hES (H1 および H7) ならびに 2 種類の hiPS (STiPS-R038 および STiPS-M001) 細胞株由来の培養物における ChAT、HB9、βIII-TUB の発現率を定量しました。この分化では、ChAT⁺ (65.16% ± 3.737%、平均値 ± SEM, n = 4 細胞株, 1 条件あたり反復実験 2 回)、HB9⁺ (79.58% ± 2.570%、平均値 ± SEM)、βIII-TUB⁺ (86.56% ± 2.331%、平均値 ± SEM) の運動ニューロンが作製されました。数値は、Hoechst 陽性細胞全体における陽性率です。

STEMdiff™ Microglia Culture System

hPSC からミクログリアへの分化が可能です

STEMdiff™ Microglia Differentiation Kit (商品コード 100-0019) および Maturation Kit (商品コード 100-0020) は、hPSC から造血前駆細胞 (hematopoietic progenitor cell, HPC) 中間体を介して高効率に再現性よくミクログリアを作製できる、無血清基礎培地およびサプリメントで構成されています。

これらのキットは、STEMdiff™ Hematopoietic Kit (商品コード 05310) で作製された HPC での使用に最適化されており、機能的ミクログリアを 28 日間で作製することができます。

STEMdiff™ Microglia Culture System を使用して作製されたミクログリアは、ヒトの神経学的発達、神経免疫応答、疾患 (特に神経炎症および神経変性のモデル化) の研究において、さまざまな用途で使用することができます。また、他のニューロン細胞タイプとの 2D および 3D 共培養にも使用可能です。

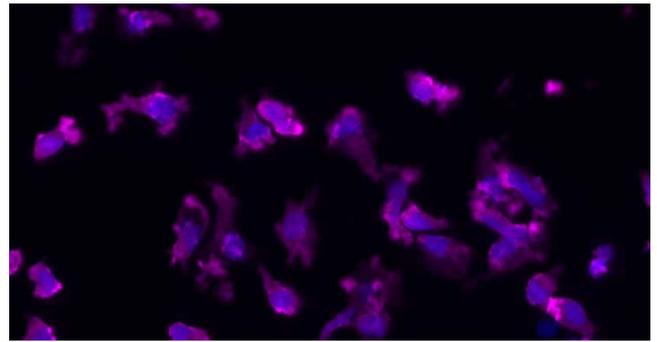
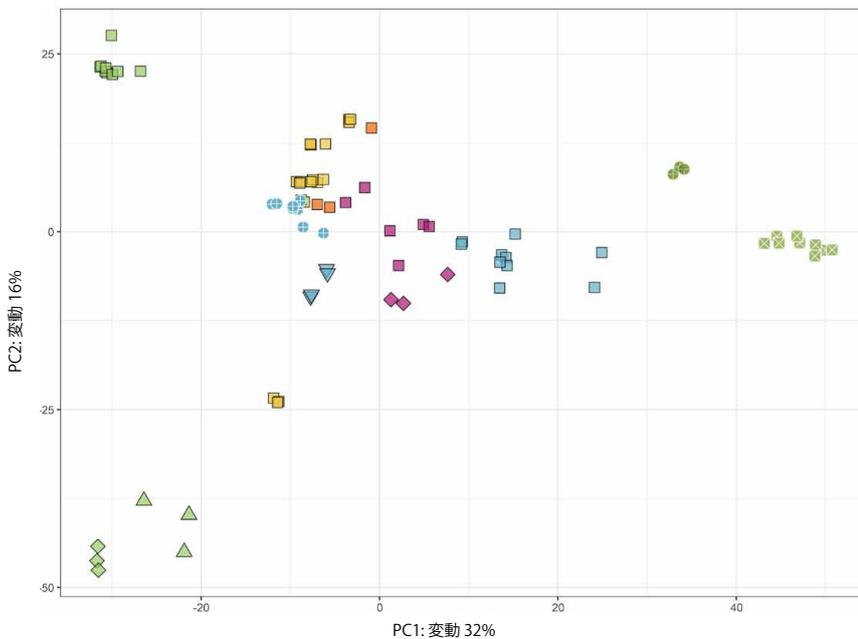


図 10. Microglia Generated with STEMdiff™ Microglia Culture System Show Expected Morphology and Markers

STEMdiff™ Microglia Differentiation Medium での 24 日間の培養後に STEMdiff™ Microglia Maturation Medium で 4 日間培養したミクログリア (STiPS-M001 細胞株) は、IBA1 (マゼンタ。DAPI は青) を発現します。Mathew Blurton-Jones の研究室で開発されたプロトコルに基づき得られる細胞は、高純度のミクログリア集団 (CD45/CD11b 陽性細胞が 80% 以上、TREM2 陽性細胞が 50% 以上) で、形態的に明瞭な単球またはマクロファージは 20% 以下です。また、ミクログリアは、TMEM119、および APOE (データ図示せず) も発現します。



Protocol	Protocol				Cell Type	
	STEMdiff™	A	B	C		D
STEMdiff™	■	■	■	■	■	hPSC-Derived Microglia
			◆	◆		Fetal Primary Microglia
				▲		Adult Primary Microglia
				▼		Unspecified Primary Microglia
				×		Blood-Derived Monocytes
				●		Blood-Derived Myeloid Dendritic Cells
				+		Blood-Derived Macrophages

図 11. Microglia Generated with STEMdiff™ Microglia Culture System Are Typical PSC-Derived Microglial Cells

hPSC 由来ミクログリア、初代ミクログリア、その他の免疫細胞タイプの RNA-seq データセットを、4 報の論文 (プロトコル A ~ D) から抽出しました。STEMdiff™ Microglia Culture System で作製されたミクログリアの RNA-seq データと、これらのデータの主成分分析 (PCA) を実施しました。STEMdiff™ Microglia Culture System で作製された hPSC 由来ミクログリアのプロットは、プロトコル A および B で作製された hPSC 由来ミクログリアのプロットに最も近似しています。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/microglia



PROTOCOL

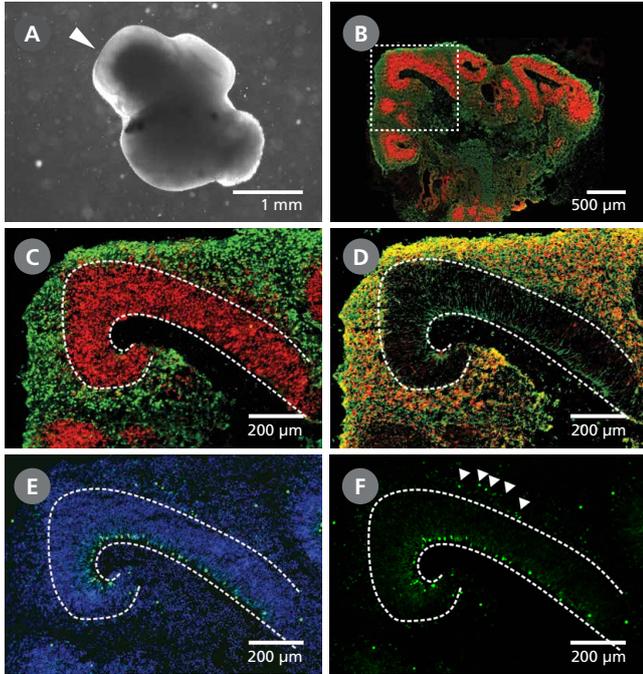
hPSC 由来前脳ニューロン、アストロサイト、およびミクログリアの共培養の方法

神経堤細胞または感覚ニューロンへの分化については、29 ページをご参照ください。

3D 神経系モデル

STEMdiff™ Cerebral Organoid Kit

大脳オルガノイドは、発達中のヒトの脳の発達プロセスおよび組織を再現した 3 次元 in vitro 培養物です。STEMdiff™ Cerebral Organoid Kit (商品コード 08570) は、ヒト ES および iPS 細胞から、パターン化されていない多層神経オルガノイドを作製するためのキットです。長期にわたってオルガノイドを培養する場合に、オルガノイドの成熟に必要なキットは、STEMdiff™ Cerebral Organoid Maturation Kit (商品コード 08571) として別途ご購入いただけます。3D 凝集塊の包埋を容易にするため、この培地は Organoid Embedding Sheet (商品コード 08579) に対応しています。



Why Use the STEMdiff™ Cerebral Organoid Kit?

- 自発的分化能を有し、同一オルガノイド内に複数の脳領域を産生するパターン化されていないオルガノイドを作製可能
- マトリックス液滴への包埋または液体マトリックスを使用し、柔軟な条件下で培養可能
- 一般的な公表済みのプロトコル⁸に基づく組成で、オルガノイドの形成効率が向上
- 新規または改良されたオルガノイドモデルを作製可能な適合性の高いプラットフォーム

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/COKit

図 12. Cerebral Organoids Contain Multiple Layered Regions That Recapitulate the Cortical Lamination Process Observed During In Vivo Human Brain Development

(A) STEMdiff™ Cerebral Organoid Kit を使用して作製された 40 日目の大脳オルガノイド全体の位相差画像例。この段階の大脳オルガノイドは、層構造を示す薄い半透明な領域 (矢印で図示) が、位相差で暗い構造を囲んでいます。(B) 大脳オルガノイドの凍結切片の免疫組織学的解析では、オルガノイド内の皮質領域が、未分化型前駆細胞マーカーである PAX6 (赤) およびニューロンマーカーである β チュープリン III (緑) で標識されています。(C ~ F) (B) の点線で囲まれた領域の拡大図。(C) PAX6+ 未分化型前駆細胞 (点線で囲まれた赤の領域) は、脳室帯様領域に局在します。β チュープリン III+ ニューロン (緑) は、脳室帯に隣接します。(D) 発達中の皮質板マーカーである CTIP2 は、皮質様領域に β チュープリン III+ ニューロンと共局在します。この層形成は、ヒトの脳の発達中に見られる早期の皮質形成を再現しています。(E) Ki-67 (緑) で標識される増殖前駆細胞は脳室に沿って局在し、核は DAPI (青) で対比染色されています。(F) 外側脳室下帯様領域 (矢印で図示) にも、別の Ki-67+ 細胞集団が認められます。

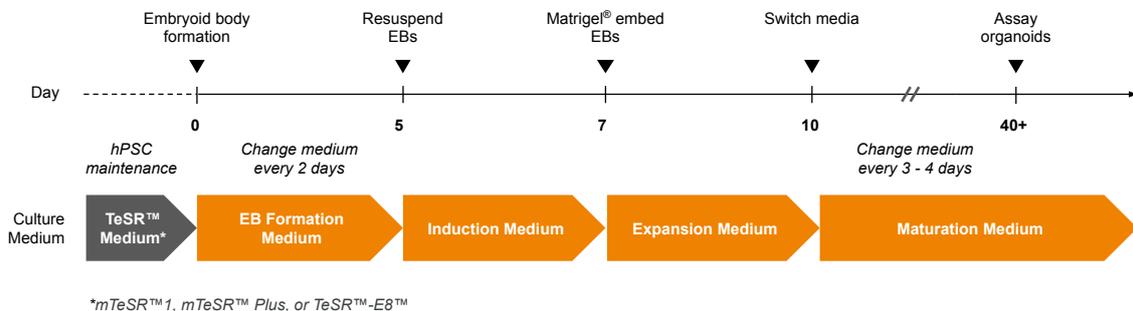


図 13. Schematic for Generating Unpatterned Neural Organoids Using the STEMdiff™ Cerebral Organoid Kit

STEMdiff™ Cerebral Organoid Kit を使用するヒト大脳オルガノイドの作製プロトコルでは、EB 形成後に神経誘導を行います。細胞外マトリックスへの包埋後に、神経上皮を増殖させ、拡大培養します。その後にオルガノイドが成熟し、STEMdiff™ Cerebral Organoid Maturation Kit で 40 日を超える長期にわたって維持培養が可能です。MA Lancaster および JA Knoblich が公表したプロトコル⁸に基づいています。

STEMdiff™ Dorsal および Ventral Forebrain Organoid Kit

ヒト多能性幹細胞から、3次元のパターン化された脳オルガノイドを、マトリックス包埋を行うことなく安定的に作製できます。STEMdiff™ Dorsal (商品コード 08620) および Ventral (商品コード 08630) Forebrain Organoid Differentiation Kit は無血清の細胞培養培地で、AggreWell™ (商品コード 34811) で作製された胚様体 (EB) を、発達中のヒト前脳の代表的な脳領域特異的のオルガノイドに分化させることができます。

STEMdiff™ Dorsal Forebrain Organoid Differentiation Kit は早期発達中の背側外套組織を産生し、STEMdiff™ Ventral Forebrain Organoid Differentiation Kit は早期発達中の腹側外套下部組織を産生します。

長期 (50 日超) にわたってオルガノイドを培養する場合に、オルガノイドの維持培養に必要なキットは、STEMdiff™ Neural Organoid Maintenance Kit (商品コード 08571) として別途ご購入いただけます。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/DFOrganoid

www.stemcell.com/VFOrganoid

Why Use the STEMdiff™ Dorsal and Ventral Forebrain Organoid Kits?

- フュージョンフリーの成長培地で、操作と培地の無駄を削減
- 細胞株間および各オルガノイド間における形態の再現性が高く、疾患表現型の解析感度が向上
- マトリックスフリーの組成とプロトコールにより、マトリックス包埋手順が不要
- 神経毒性および神経変性モデルに関して、長期培養における生存およびカスパーゼ 3 の発現低下を実現
- モジュール式領域パターン化オルガノイドを組み合わせ、疾患モデリングや再生応用のための高度な AssemBloids™ を作製可能

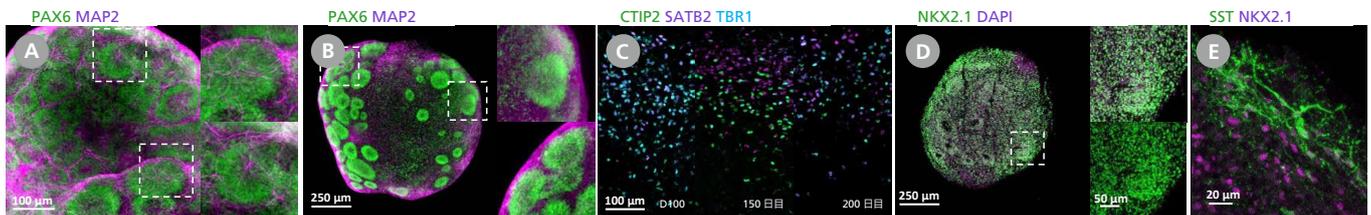


図 14. Dorsal Forebrain Organoids Exhibit Cortical Layering, and Both Dorsal and Ventral Organoids Express Markers Characteristic of Their Respective Brain Regions

(A) 25 日目の背側前脳オルガノイドには、放射状に並んだ PAX6+ 細胞を MAP2 ニューロンが囲むことを特徴とする、複数の皮質様領域が認められます。(B) 50 日目の背側前脳オルガノイドには、PAX6 および MAP2 を特徴とする複数の皮質様領域が引き続き認められます。(C) 培養 100 ~ 200 日目の背側前脳オルガノイドには、上層ニューロン (SATB2) からの深層ニューロン (CTIP2、TBR1) の分離増大が認められます。(D) 25 日目の腹側前脳オルガノイドは、NKX2.1 を高レベルで発現します。(E) ソマトスタチン (SST) 陽性 GABA 作動性介在ニューロンは 75 日目に確認できます。

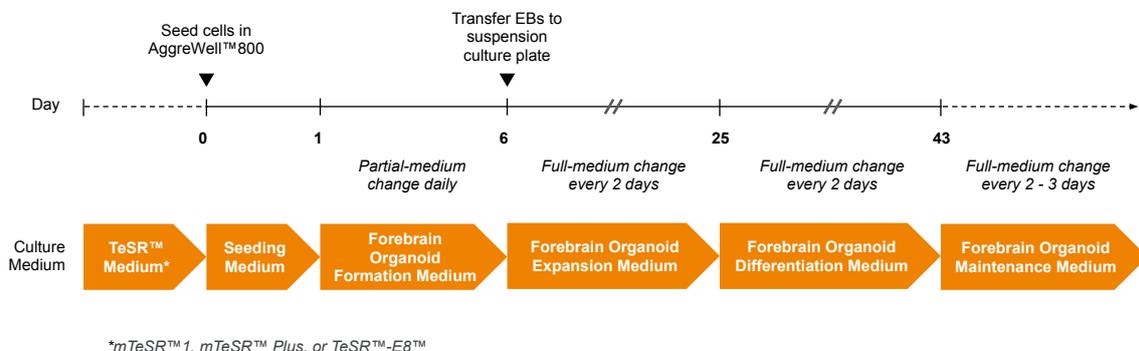


図 15. Schematic for the STEMdiff™ Dorsal and Ventral Forebrain Organoid Differentiation Kits

ヒト ES または iPS 細胞由来の背側前脳または腹側オルガノイドは、43 日間で作製できます。胚様体は AggreWell™ 800 プレートを使用して 6 日間で作製できます。作製した EB を浮遊培養して成長させ、その後背側前脳へパターン化します。腹側前脳へのパターン化におけるプロトコールの違いは、Forebrain Organoid Expansion Medium に添加するサプリメントのみです。背側前脳オルガノイドの長期維持培養およびさらなる成熟については、製品情報シートをご覧ください。Sergiu Pașca によるプロトコール⁹を改変したものです。

STEMdiff™ Midbrain Organoid Kit

効率的でマトリックスフリーの STEMdiff™ Midbrain Organoid Differentiation Kit (商品コード 100-1096) を使用し、中脳オルガノイドを確実に作製しましょう。この無血清細胞培養培地を AggreWell™800 (商品コード 34811) マイクロウェル培養プレートと併用すると、オルガノイドの融合を防ぐことができるうえ、1 キットで 500 個を超えるオルガノイドの作製に対応するため、強力な統計学的反復実験と詳細な縦断的研究が可能です。

中脳オルガノイドを、STEMdiff™ Dorsal Forebrain Organoid Differentiation Kit (商品コード 08620) を使用して作製したオルガノイドと組み合わせることにより、皮質-線条体 Assembloid™ 培養物を作製することができます。オルガノイドは、STEMdiff™ Neural Organoid Maintenance Kit (商品コード 08571) による長期的 (50 日超) な維持培養が可能で、予測アッセイ、ハイスループットな表現型スクリーニング、神経毒性アッセイに使用することができます。

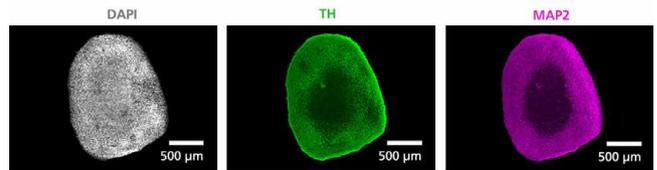


図 16. STEMdiff™ Midbrain Organoids Express Catecholaminergic Protein Tyrosine Hydroxylase

STEMdiff™ Midbrain Organoid Differentiation Kit を使用して中脳オルガノイドを作製しました。さらに、STEMdiff™ Midbrain Organoid Maturation Kit を使用し、50 日目までオルガノイドを成熟させました。中脳オルガノイドは、ニューロンマーカーである MAP2 およびカテコールアミン作動性ニューロンの特異的マーカーであるチロシンヒドロキシラーゼ (TH) を発現します。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/midbrain-org

STEMdiff™ Choroid Plexus Organoid Kit

hPSC 由来の脈絡叢へパターン化されたオルガノイドを使用して、ヒトの神経バイオマーカーの発見と CNS 透過性に対し、in vitro でアプローチできます。STEMdiff™ Choroid Plexus Differentiation Kit (商品コード 100-0824) で作製されたオルガノイドは、成熟期後に、脳脊髄液 (CSF) 類似の液体で満たされ、上衣マーカー (TTR, CLIC6, AQP1) を発現する上皮層に囲まれた嚢胞構造を示します。

長期 (40 日超) にわたってオルガノイドを培養する場合に、オルガノイドの維持培養に必要なキットは、STEMdiff™ Choroid Plexus Organoid Maturation Kit (商品コード 100-0825) として別途ご購入いただけます。3D 凝集塊の包埋を容易にするため、この培地は Organoid Embedding Sheet (商品コード 08579) に対応しています。

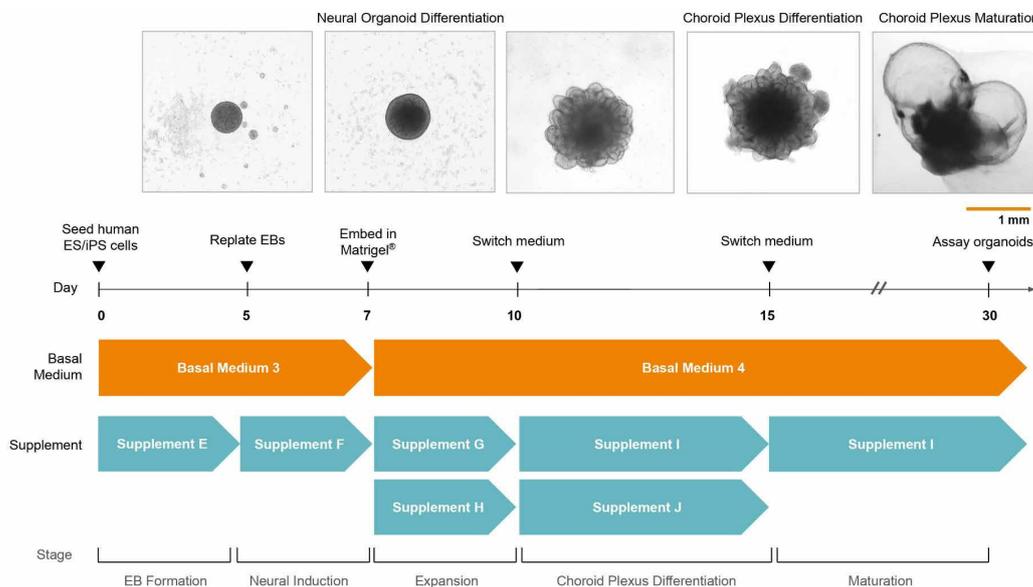


図 17. Schematic for the STEMdiff™ Choroid Plexus Organoid Differentiation and Maturation Kits

脈絡叢オルガノイドは、ヒト胚性幹 (ES) または人工多能性幹 (iPS) 細胞から 30 日間で作製できます。プロトコルの最初の手順は胚様体 (EB) の形成で、その後に神経上皮が拡大し、脈絡叢様上皮へパターン化されます。オルガノイドは、広範囲にわたる泡状化を含む上皮の成熟期後に、上衣上皮層に囲まれ、脳脊髄液 (CSF) 類似の液体で満たされた嚢胞構造を示します。Pellegriani¹⁹による公表済みのプロトコルを改変したものです。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/choroid-plexus-organoid

循環系

循環細胞

STEMdiff™ Megakaryocyte Kit

STEMdiff™ Megakaryocyte Kit (商品コード 100-0901) は、ヒト胚性幹 (hES) 細胞および人工多能性幹 (iPS) 細胞を、CD41a および CD42b を発現する巨核球へ、無血清フィーダーフリー条件下で分化させるためのキットです。この最適化された 2 次元培養用の 2 段階のプロトコールにより、17 日間で高収量の巨核球を作製することができます。得られる巨核球は高倍数性で血小板放出能を有し、大規模培養にも適しています。

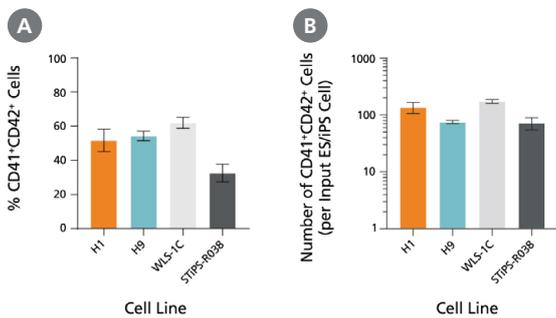


図 18. hPSC-Derived HPCs Efficiently Expand and Differentiate to CD41a⁺CD42b⁺ Megakaryocytes

12 日間培養した hPSC 由来 HPC を、Medium MK2 でさらに 5 日間培養し、成熟巨核球 (MK) への分化を促進しました。グラフは、2 種類の hES 細胞株 (H1、H9) および 2 種類の hiPS 細胞株 (WLS-1C、STIPS-R038) に関して、インプット細胞 (hPSC) あたりの CD41a⁺CD42b⁺ MK の頻度および細胞数を示したものです。17 日目における CD41a⁺CD42b⁺ 生細胞の頻度の平均値は、56% ~ 77% でした。インプット細胞あたりの CD41a⁺CD42b⁺ MK の平均収量は、223 ~ 425 個でした。データは平均値 ± SEM で示されています (H1 の n = 12、H9 の n = 29、WLS-1C の n = 27、STIPS-R038 の n = 12)。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/megakaryocyte-diff

STEMdiff™ Erythroid Kit

hPSC を、グリコホリン A および CD71 を発現する赤血球前駆細胞 (赤芽球) へ分化させることができます。hPSC を、赤血球への分化傾向を有する造血前駆細胞へ誘導し、さらに赤血球前駆細胞へと分化させます (10 ~ 24 日目)。STEMdiff™ Erythroid Kit (商品コード 100-0074) で作製した細胞を、成熟に適した培養条件に移すことで、さらに正赤芽球および網状赤血球へ成熟させることもできます。

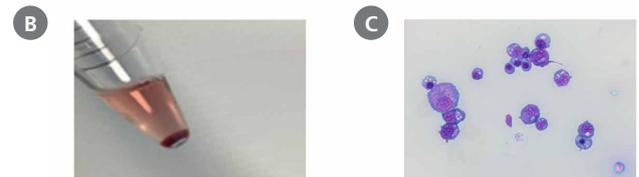
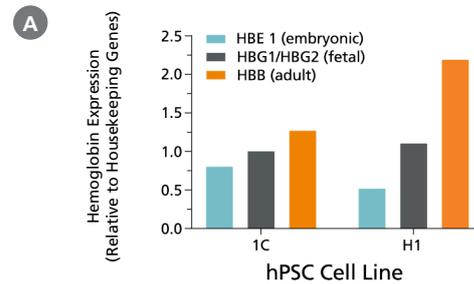


図 19. hES and hiPS Cell-Derived Erythroid Cells Are Hemoglobinized and Display Typical Erythroid Morphology

(A) STEMdiff™ Erythroid Kit で作製した赤血球系細胞において発現するヘモグロビンには、原始 (胚性) ヘモグロビンおよび決定 (胎児型および成人型) ヘモグロビンが混在します。グラフは、24 日間の培養後におけるグロビン遺伝子発現の qPCR 解析の結果です。(B) 細胞ペレットの写真から、培養物中に産生した細胞がヘモグロビンを発現していることがわかります。(C) STEMdiff™ Erythroid Kit で 24 日間培養した細胞は、典型的な好塩基性赤芽球の形態を示しています (40 倍、May-Grunwald Giemsa 染色)。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/erythro-diff

STEMdiff™ Hematopoietic Kit

造血前駆細胞、免疫細胞、血球細胞の作製が可能です

STEMdiff™ Hematopoietic Kit (商品コード 05310) は、無血清基礎培地およびサプリメントで構成される、造血前駆細胞 (HPC) を作製するためのキットです。このキットは、標準的な 12 日間の分化プロトコル用に最適化されており、hPSC から HPC への安定した分化を可能にします。HPC は、CD34 および CD45 を発現すること、および MethoCult™ 培地を使用するコロニー形成単位 (CFU) アッセイにおいて複数系列の造血コロニー形成能を有することで確認できます。

作製した HPC は、後続アッセイでの使用、あるいは hPSC 由来 HPC 専用の MethoCult™ SF H4636 (商品コード 04636) 培地、または MethoCult™ H4435 Enriched (商品コード 04435) 培地を使用する CFU アッセイでの定量が可能です。また、STEMdiff™ Hematopoietic Kit で作製した HPC は、STEMdiff™ Microglia Differentiation Kit (商品コード 100-0019) または STEMdiff™ Monocyte Kit (商品コード 05320) を使用して、さらに分化させることもできます。HPC およびそれに由来する赤血球系細胞は STEMdiff™ Erythroid Kit (商品コード 100-0074)、HPC およびそれに由来するリンパ系免疫細胞タイプは STEMdiff™ NK Kit (商品コード 100-0170) および T Cell Kit (商品コード 100-0194) を使用して作製可能です。

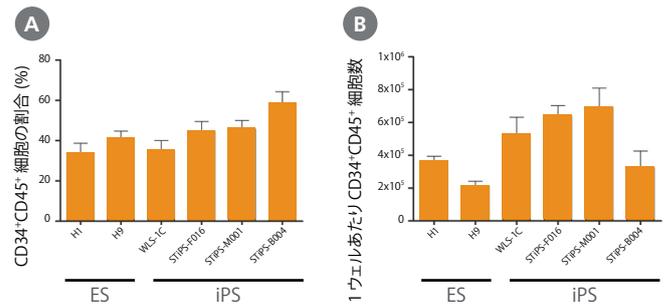


図 20. Efficient and Robust Generation of CD34⁺CD45⁺ HPCs

STEMdiff™ Hematopoietic Kit を使用し、12 ウェルプレートの各ウェルで、ヒト ES 細胞および iPS 細胞を 12 日間培養しました。培養期間の終了時に、懸濁液から細胞を回収し、染色して、フローサイトメトリーにより造血細胞表面マーカーである CD34 および CD45 の発現について分析しました。6 種類のヒト ES 細胞株または iPS 細胞株の培養物における CD34⁺CD45⁺ 細胞の (A) 割合および (B) 総数のグラフです。データは、平均値 ± SEM (n ≥ 3) で示されています。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiffHeme



WEBINAR

血管構造体の構造的および機能的特性の血管オルガノイドによるモデリング

www.stemcell.com/bvo

血管

STEMdiff™ Endothelial Kit

hPSC の内皮細胞への効率的な分化が可能です

STEMdiff™ Endothelial Differentiation Kit (商品コード 08005) には、接着基質、動物由来成分フリー (animal component-free, ACF) の内皮誘導培地、および内皮増殖培地が含まれています。また、Corning® Matrigel® 上における hPSC から内皮様細胞への分化に最適化されています。このキットは、STEMdiff™ Mesoderm Induction Medium (商品コード 05220) による早期中胚葉誘導の直後に使用するよう設計されています。

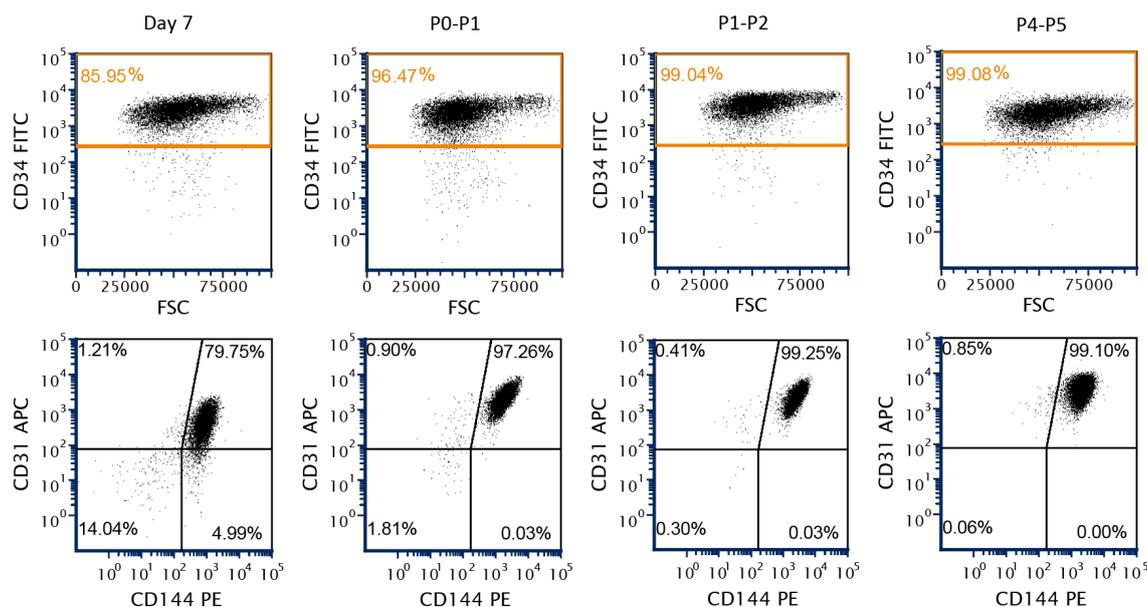


図 21. A Representative Flow Cytometric Analysis of Endothelial Marker Expression in hPSC-Derived Endothelial Cells

hPSC (H9 細胞株) 由来内皮細胞は、STEMdiff™ Endothelial Induction Medium を使用して 7 日間で得られました。85% 以上の細胞が CD34⁺ で、CD31 および CD144 を高レベルに発現しました。その後の継代 (継代 5 代まで) で、内皮マーカー (CD34、CD31、CD144) を発現する細胞の割合が増加しました。

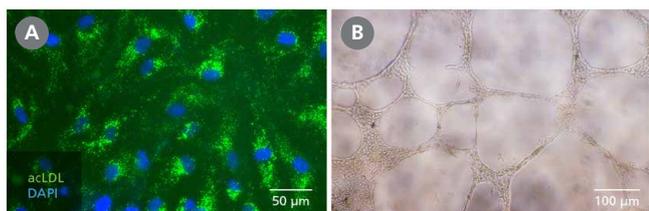


図 22. STEMdiff™ Endothelial Differentiation Kit Generates Functional hPSC-Derived Endothelial Cells

(A) STEMdiff™ Endothelial Differentiation Kit を使用して hPSC (F016 細胞株) から作製した内皮細胞は、10,000 細胞/cm² でプレートに播種すると、アセチル化 LDL を取り込みます。(B) また、in vitro のチューブ形成アッセイにおいて 96 ウェルプレートに 20,000 細胞/ウェルで播種し、24 時間静置すると、管状ネットワークを形成することができます。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/endo-diff

STEMdiff™ Blood Vessel Organoid Kit

血管は、すべての臓器系に必須の部位であるとともに、糖尿病、アルツハイマー病、がんなどの複数の疾患で重要な役割を果たします。血管構造体は、管腔を形成する内皮細胞と内皮壁を取り囲む周皮細胞でできています。血管生物学の *in vitro* モデルでは、周皮細胞と内皮細胞が共培養されますが、3次元 (3D) の組織および機能を完全に再現したものではありません。

STEMdiff™ Blood Vessel Organoid Kit (商品コード 100-0651) は、5段階のプロトコールで hPSC を血管オルガノイド (BVO) に分化させる血清含有培地キットで、スケールアップにより 96 ウェルフォーマットでのハイスループットスクリーニングも可能です。このキットで作製した BVO は、CD31⁺/CD34⁺/CD144⁺/KDR⁺ 内皮細胞および PDGFR-β⁺/CD146⁺/SMA⁺/NG-2⁺ 周皮細胞を有します。この自己形成 hPSC 由来 BVO は、機能性の灌流可能な血管を *in vivo* において形成可能で、さまざまな疾患に伴う血管の機能障害の研究に使用することができます。オルガノイドは、長期アッセイのために、STEMdiff™ Blood Vessel Organoid Maturation Medium (商品コード 100-0658) で維持培養することもできます*。

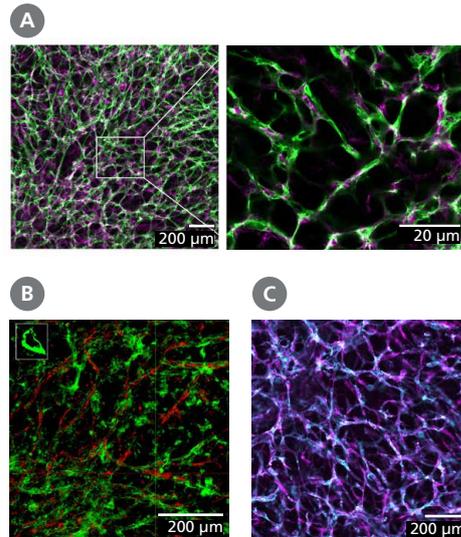


図 23. Vascular Networks Mature into Stable Blood Vessels When Cultured Within the Extracellular Matrix in STEMdiff™ Blood Vessel Maturation Medium

(A) hPSC 由来血管オルガノイドは、hCD31⁺ 細胞 (緑) および hPDGFRβ⁺ 細胞 (マゼンタ) で構成されます。小さな四角形で囲んだ範囲では、内皮細胞と周皮細胞の強固な相互作用を確認できます。(B) hPSC 由来血管オルガノイドは、hCD31⁺ 細胞 (赤) および沈着したコラーゲン IV (緑、オプションの Z スタックによる 3D 再構築) で構成されます。小さな四角形で囲んだ範囲が血管内腔です。(C) hPSC 由来血管オルガノイドは、hCD31⁺ 細胞 (青) および α 平滑筋アクチン細胞 (マゼンタ) で構成されます。

*STEMdiff™ Blood Vessel Organoid Maturation Medium は、別途単品でもご購入いただけます。

心臓

STEMdiff™ Ventricular Cardiomyocyte System

機能性で表現型的に純粋な心室性心筋細胞を hPSC から効率的に再現性よく作製し、疾患モデリング、創薬、心毒性スクリーニングなどの後続アプリケーションに利用可能です。STEMdiff™ Ventricular Cardiomyocyte Differentiation Kit (商品コード 05010) には、15 日間の分化プロトコールに最適化された組成が明確な無血清基礎培地が含まれています。hPSC から心室性心筋細胞への安定した分化が可能で、心室性心筋細胞は主要なマーカーである心筋トロポニン T (cTnT) の発現により確認できます (図 24)。収縮する hPSC 由来心筋細胞を、早期 (8 日目) に確認することができます。このキットは、フィーダーフリー条件下で使用するキットで、mTeSR™1 (商品コード 05850) または TeSR™-E8™ (商品コード 05940) で維持培養された hPSC の分化に最適化されており、複数のヒト胚性幹 (hES) 細胞株およびヒト人工多能性幹 (hiPS) 細胞株に対応しています。

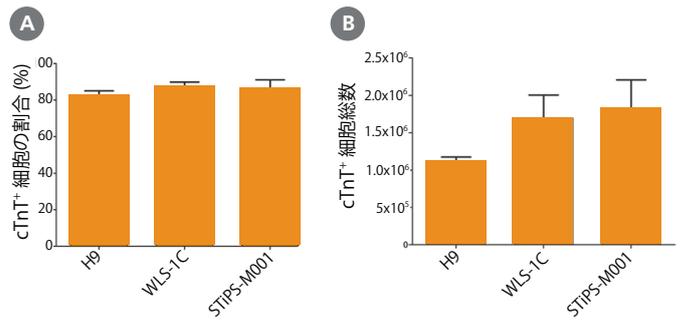


図 24. Efficient and Robust Generation of cTnT-Positive Ventricular Cardiomyocytes

STEMdiff™ Ventricular Cardiomyocyte Differentiation Kit を使用し、12 ウェルプレートの各ウェルで、hPSC を 15 日間培養しました。培養期間の終了時に、細胞を回収し、フローサイトメトリーにより細胞マーカーである cTnT の発現について分析しました。ヒト ES 細胞 (H9) または iPS 細胞 (WLS-1C、STiPS-M001) の培養物における cTnT 発現細胞の (A) 割合および (B) 総数のグラフです。データは、平均値 ± SEM (n = 3) で示されています。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/cardio-diff

STEMdiff™ Cardiomyocyte Expansion Kit

無血清の STEMdiff™ Cardiomyocyte Expansion Kit (商品コード 100-1109) を使用して、分化初期段階のヒト多能性幹細胞 (hPSC) 由来心筋細胞を安定的に拡大培養しましょう。このキットは、機能性の hPSC 由来心筋細胞を高純度で大量に作製することができ、STEMdiff™ Ventricular Cardiomyocyte Differentiation Kit (商品コード 05010) で作製した心室性心筋細胞または STEMdiff™ Atrial Cardiomyocyte Differentiation Kit (商品コード 100-0215) で作製した心房性心筋細胞に対応しています。

STEMdiff™ Cardiomyocyte Expansion Kit を使用すると、1 回の心筋細胞分化で数十億単位の心筋細胞集団が得られます。PSC を拡大培養し、その後分化させる従来の手法と異なり、分化初期段階の hPSC 由来心筋細胞をそのまま拡大培養します。このキットを使用して拡大培養する hPSC 由来心筋細胞では、安定した電気的特性が維持され、継代 5 代における cTnT 陽性率が 90% を超えます。拡大培養した hPSC 由来心筋細胞は、ハイスループットな薬剤試験、組織工学、再生医療研究に利用できます。

心筋細胞を効率的に拡大培養可能なこの市場初のキットを使用することで、時間とリソースを節約することが可能です。

その他の STEMdiff™ Cardiomyocyte 製品:	商品コード
STEMdiff™ Cardiomyocyte Expansion Kit	100-1109
STEMdiff™ Ventricular Cardiomyocyte Differentiation Kit	05010
STEMdiff™ Atrial Cardiomyocyte Differentiation Kit	100-0215
STEMdiff™ Cardiomyocyte Dissociation Kit	05025
STEMdiff™ Cardiomyocyte Support Medium	05027
STEMdiff™ Cardiomyocyte Freezing Medium	05030
STEMdiff™ Cardiomyocyte Maintenance Kit	05020

呼吸器系

2D 肺モデル

STEMdiff™ Lung Progenitor Kit

hPSC 由来肺前駆細胞の作製が可能です

STEMdiff™ Lung Progenitor Kit (商品コード 100-0230) は、ヒト ES 細胞および iPS 細胞から肺前駆細胞を効率的に再現性よく作製するための無血清培地です。分化後の細胞は、肺前駆細胞の主要なマーカーである NKX2.1 を発現します。得られた細胞は、本キットの培養プロトコールを使用して近位または遠位気道の細胞へ成熟させることができ、肺疾患および肺発達の研究に使用可能です。

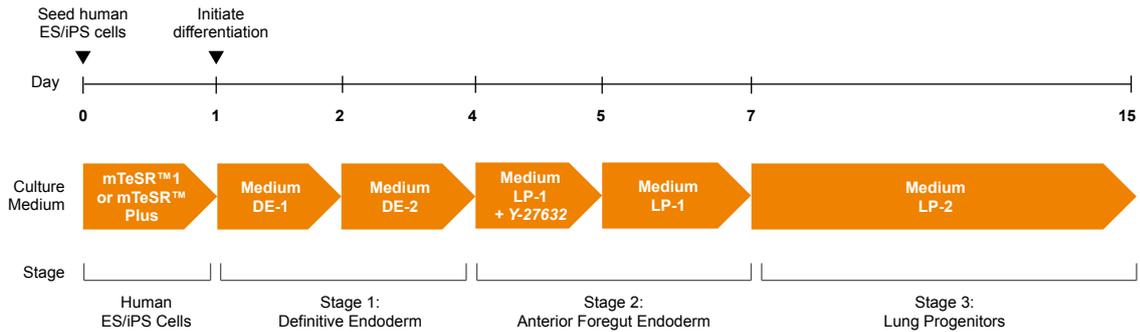


図 25. Schematic for Generating Lung Progenitor Cells from Human ES/iPS Cells Using STEMdiff™ Lung Progenitor Kit

hPSC から、シンプルな 3 段階のプロセスを経て、肺前駆細胞を作製します。まず、hPSC 凝集塊を mTeSR または、mTeSR Plus に播種します。1 日目に、DE-1 培地により分化を開始させます。さらに 2 日目および 3 日目に、培地を DE-2 培地に交換し、胚体内胚葉へ分化させます。4 日目に、前方前腸内胚葉へのパターン化を開始させるために、Y-27632 を添加した LP-1 培地に内胚葉単層を継代します。さらに 7 日目に、LP-2 培地により肺前駆細胞段階へ細胞を分化させます。以上のすべての培地 (DE-1、DE-2、LP-1、LP-2) は STEMdiff™ Lung Progenitor Kit に含まれています。

3D 肺モデル

STEMdiff™ Branching Lung Organoid Kit

hPSC 由来の分枝肺オルガノイドの作製が可能です

STEMdiff™ Branching Lung Organoid Kit (商品コード 100-0195) は、ヒト多能性幹細胞 (hPSC) から、1) 胚体内胚葉、2) 前方前腸内胚葉、3) 肺芽オルガノイド、4) 分枝肺オルガノイドの 4 段階の分化を経て、分枝肺オルガノイドを効率的に再現性よく作製できます。得られるオルガノイドは、EPCAM、NKX2.1、SOX2、SOX9、MUC1、P63 を発現し、近位および遠位様分岐気道上皮構造を形成します。オルガノイドを長期培養すると、成熟肺細胞マーカーである SFTPC、SFTPB、ABCA3 などの発現レベルが上昇します。

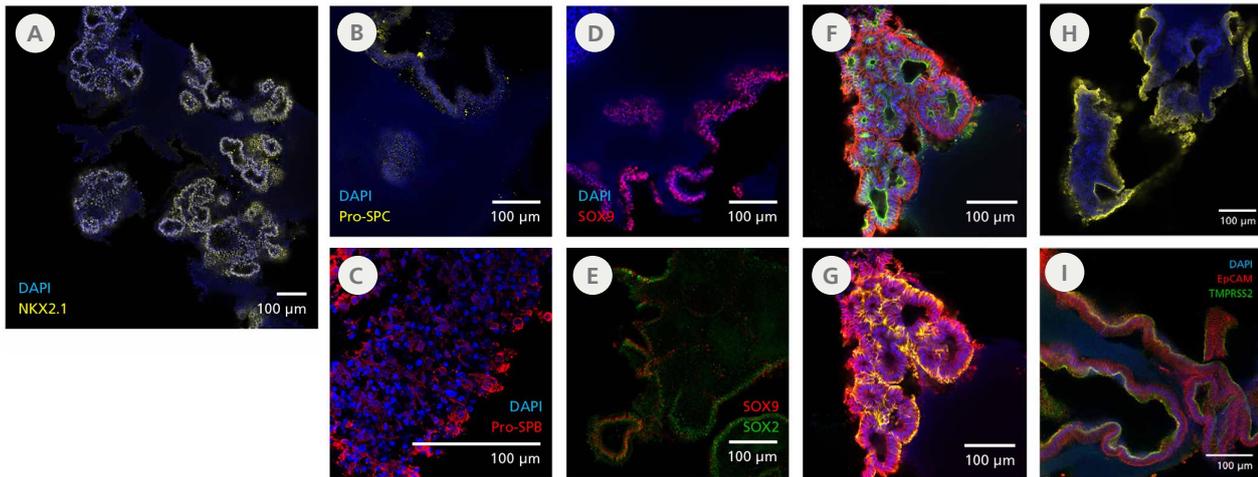


図 26. Branching Lung Organoids Cultured in STEMdiff™ Branching Lung Organoid Kit Feature Key Protein Markers and Exhibit Branching Morphogenesis

分枝肺オルガノイドは、(A) 肺前駆細胞マーカーである NKX2.1 を分枝構造全体で発現し、(B、C) プロサーファクタントタンパク質 B および C を発現する肺胞タイプ II 様細胞を有しています。(D、E) これらのオルガノイドは、SOX2 および SOX9 の差次的発現によって示される近位および遠位の気道上皮への分化を引き起こします。(F) MUC1 が内腔に発現していることがわかります。(G) また、オルガノイドは VIM を発現する間葉に囲まれています。(H、I) STEMdiff™ Branching Lung Organoid Kit で作製した分枝肺オルガノイドは、SARS-CoV-2 の侵入に関連するタンパク質である ACE2、および TMPRSS2 も発現します。これらのタンパク質の発現は、63 日目に免疫組織化学的検査を実施し、共焦点顕微鏡下で観察しました。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-Respiratory-Research

消化器系

STEMdiff™ Definitive Endoderm Kit

短期間で簡単に胚体内胚葉へ分化できます

STEMdiff™ Definitive Endoderm Kit (商品コード 05110) は、短期間のシンプルなプロトコルを使用して、hPSC から多分化能を有する胚体内胚葉細胞への分化を可能にする、無血清の動物由来成分フリー培地です。この製品は、mTeSR™ Plus (商品コード 100-0276)、mTeSR™1 (商品コード 85850)、または TeSR™-E8™ (商品コード 05990) で培養された hPSC に対して使用するように最適化されています。このキットで作製した胚体内胚葉細胞は、肝¹¹および膵¹²前駆細胞などの複数の内胚葉細胞タイプへさらに分化させることができ、創薬、毒性検査、細胞ベース治療の開発に関する研究、発達経路研究などに利用できます。

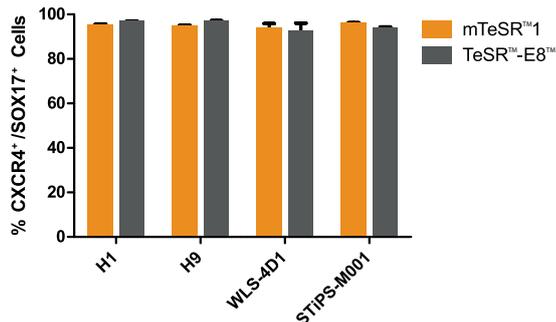


図 27. Definitive Endoderm Differentiation Is Efficient Across Multiple Human ES and iPS Cell Lines, Regardless of hPSC Maintenance Medium

複数のヒト ES 細胞株 (H1, H9) および iPSC 細胞株 (WLS-4D1, STiPS-M001) からの胚体内胚葉形成の定量解析: CXCR4 および SOX17 の共発現で評価。mTeSR™1 培地で維持培養した細胞は STEMdiff™ Definitive Endoderm Kit を使用し、TeSR™-E8™ 培地で維持培養した細胞は STEMdiff™ Definitive Endoderm Kit (TeSR™-E8™ Optimized) を使用して分化させました。データは、両方のマーカーを発現している細胞の割合 (%) の平均値です。エラーバーは SEM を示します。各細胞株の n = 4 ~ 18。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-DE

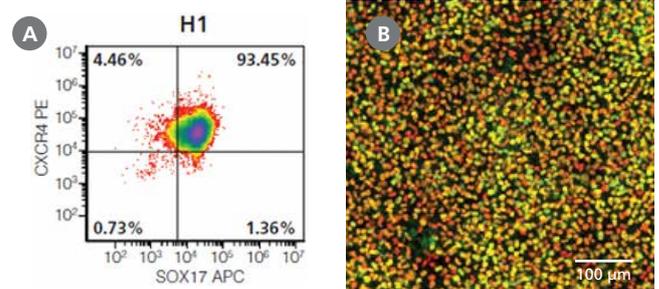


図 28. hPSCs Differentiated with STEMdiff™ Definitive Endoderm Kit Are Highly Enriched for Expression of Key Definitive Endoderm Markers

(A) mTeSR™1 培養 H1 ES 細胞 (5 日間の分化後) の CXCR4 および SOX17 発現に関する密度プロット例。(B) WLS-4D1 iPSC 細胞 (4 日間の分化後) における FOXA2 (緑) および SOX17 (赤) の画像例。FOXA2 (緑)、SOX17 (赤)、共発現 (黄)。

hPSC-Derived Endoderm qPCR Array

hPSC-Derived Endoderm qPCR Array (商品コード 07531) は、バリデーション済みの 90 種類の遺伝子発現量を解析することにより、胚体内胚葉前駆細胞、および前駆細胞から分化した膵細胞、肝細胞、腸細胞などの細胞の特性解析を行うことができます。ハウスキーピングコントロールおよび合成 DNA 陽性コントロールが含まれています。当社の自由度の高いオンラインアプリ (www.stemcell.com/qPCRanalysis) により、効率的にデータを解析できます。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/DE-array

腸

STEMdiff™ Intestinal Organoid Kit

ヒト ES 細胞株および iPS 細胞株を腸オルガノイドに分化させます

hPSC 由来オルガノイドはドナー細胞の遺伝子型および表現型が維持されます。

STEMdiff™ Intestinal Organoid Kit (商品コード 05140) を使用することにより、30 日間で、胚性幹 (ES) 細胞や人工多能性幹 (iPS) 細胞から腸オルガノイドへ分化させることができます。これらのオルガノイドは、腸上皮の主要な細胞タイプに加え、間葉系細胞が混在するなどの発生過程にみられる特徴が再現されます。腸オルガノイドは、継代により拡大培養または維持培養することや、将来の実験のために凍結保存することが可能です。

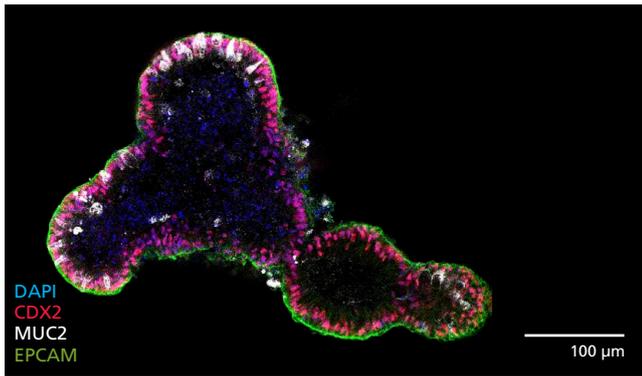


図 29. hPSC-Derived Intestinal Organoids Incorporate Features of the Intestinal Epithelium and Mesenchyme

STEMdiff™ Intestinal Organoid Kit で作製したオルガノイドは、腸上皮マーカー (EPCAM、CDX2、MUC2) を発現します。また、腸間葉系細胞および腸前駆細胞のマーカーも発現します。

Why Use the STEMdiff™ Intestinal Organoid Kit?

- 小腸オルガノイドでは、発生過程の腸上皮細胞と付随する間葉系細胞のモデル化が可能
- さまざまなヒト ES 細胞株および iPS 細胞株を高効率で分化可能
- 長期にわたる継代による腸オルガノイドの長期間の維持培養も、実験の自由度を高める凍結保存も可能
- 血清含有成分を含まず、実験のばらつきを抑制

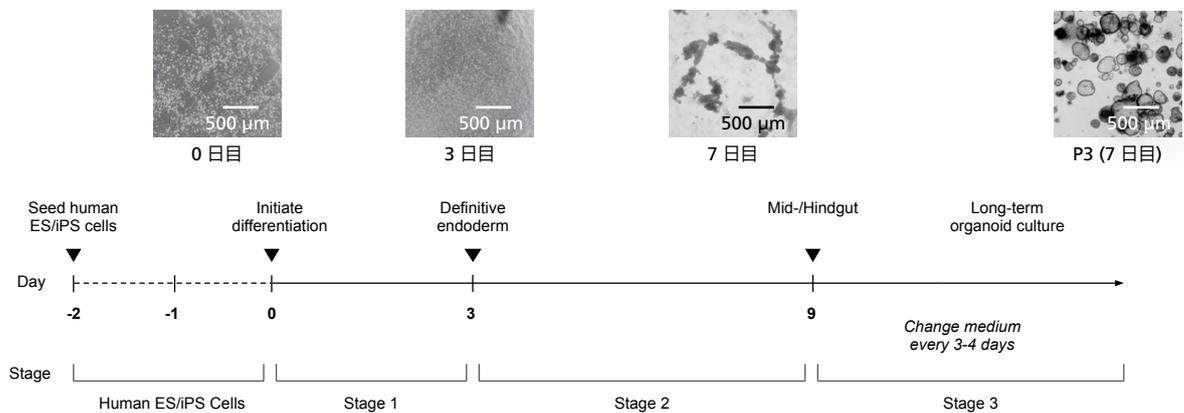


図 30. Schematic for Differentiating from hPSCs to Human Intestinal Organoids with the STEMdiff™ Intestinal Organoid Kit

hPSC から 3 段階の分化プロセスを経て、ヒト腸オルガノイドを作製します。培養物は、プロトコールの 3 日目までに胚体内胚葉の典型的な特徴を示し、中腸/後腸への分化を開始します。中腸/後腸への分化時 (5 ~ 7 日目) に、細胞は中腸/後腸スフェロイドを形成し、このスフェロイドが細胞単層から培地に放出されます。このスフェロイドを回収し、細胞外マトリックスに包埋して STEMdiff™ Intestinal Organoid Growth Medium で培養すると、腸オルガノイドに成熟します。() 内の日数は、各継代における包埋後の日数です。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-HIO

胃

STEMdiff™ Gastric Organoid Kit

ヒト胃オルガノイドの分化培養キット

hPSC から胃オルガノイドを確実に作製し、胃の発生、炎症、再生、微生物との相互作用の研究、そして疾患モデリングにも利用することができます。STEMdiff™ Gastric Organoid Differentiation Kit (商品コード 100-0475) では、さまざまな hPSC 株から、高効率に再現性よくオルガノイドを成長させ、拡大培養し、発生期の胃を模倣する便利なモデル系を構築可能です。

Why Use the STEMdiff™ Gastric Organoid Differentiation Kit?

- ヒトの胃の発生期の特徴を再現したオルガノイドをモデルとして、胃上皮および付随する間葉系の研究に利用可能
- さまざまなヒト ES 細胞株および iPS 細胞株を高効率で分化可能
- 長期にわたる継代による胃オルガノイドの維持培養も、実験の自由度を高める凍結保存も可能
- 血清含有成分を含まず、実験のばらつきを抑制

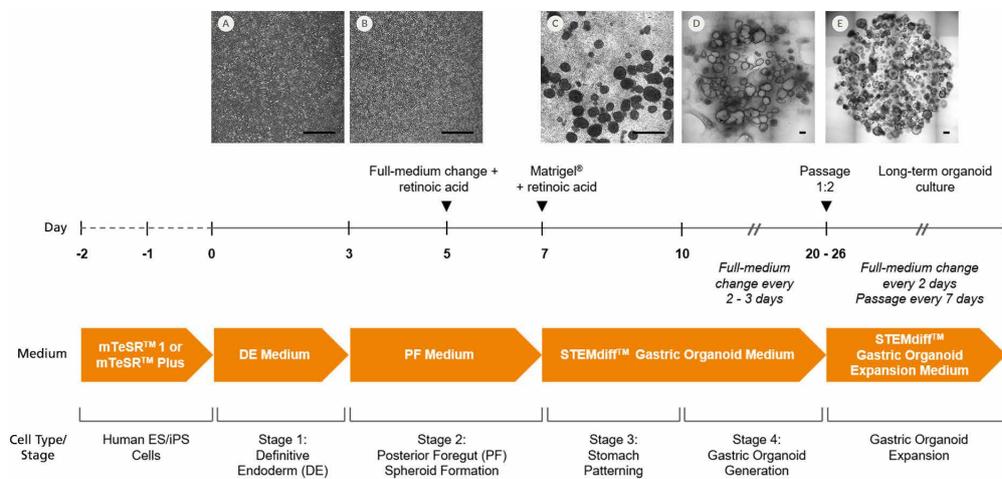


図 31. Schematic for Generation of Human Gastric Organoid Cultures Using STEMdiff™ Gastric Organoid Differentiation Kit

Corning® Matrigel® でコーティングした 24 ウェルプレート上に mTeSR™1 または mTeSR™ Plus を用いて、hPSC の小さな凝集塊 (50 ~ 200 μm) を低密度 (凝集塊 4,000 個/ウェル) で播種し、一晚接着させました。ほぼコンフルエントな状態 (85 ~ 90%) になるまで毎日培地交換し、2 次元単層培養を続けました。(A) 0 日目に、STEMdiff™ Definitive Endoderm (DE) Medium で分化を開始し (段階 1)、毎日培地交換を実施しました。(B) 3 日目に、DE Medium から STEMdiff™ Gastric Posterior Foregut (PF) Medium に培地を交換しました (段階 2)。5 日目に、レチノイン酸 (RA) を PF Medium に添加しました。(C) 7 日目に、浮遊している後方前腸 (PF) スフェロイドを上清から回収し、Corning® Matrigel® に包埋しました。7 日目から 10 日目まで、RA を添加した STEMdiff™ Gastric Organoid Medium で PF スフェロイドを培養しました (段階 3)。10 日目から 26 日目まで、STEMdiff™ Gastric Organoid Medium によりスフェロイドが胃オルガノイドに成熟し、間葉系細胞に囲まれました。(D) 20 日目から 26 日目までは、胃マーカーの発現が認められるまで STEMdiff™ Gastric Organoid Medium で胃オルガノイドを継代するか (34 日目まで)、(E) 後続アプリケーションでの使用や凍結保存を経た後日の実験での使用のため、STEMdiff™ Gastric Organoid Expansion Medium で拡大培養します。スケールバー = 500 μm。

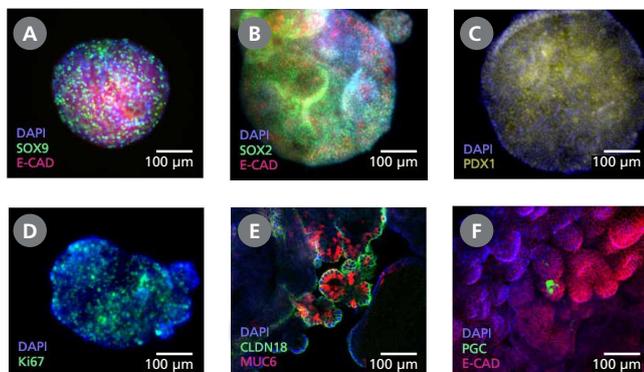


図 32. Immunohistochemistry Confirms Expression of Gastric-Specific Markers in Human Gastric Organoids Cultured in Gastric Organoid Expansion Medium

前駆細胞マーカーである (A) SOX9、(B) SOX2、および (C) PDX1、(A、B、F) 上皮マーカーである E-CAD、増殖マーカーである Ki67、(E) 胃密着結合マーカーである CLDN18 を発現する Expansion Medium 中のオルガノイド (継代 5 代) の例。(E) オルガノイドの腺領域に MUC6 が発現しており、腺細胞が存在することがわかりました。(F) 散在的に発現している PGC は、主細胞への分化を示しています (n = 2 ~ 5)。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/stemdiff-gastric

膵臓

STEMdiff™ Pancreatic Progenitor Kit

hPSC から膵前駆細胞の作製が可能です

STEMdiff™ Pancreatic Progenitor Kit (商品コード 05120) は、hPSC から膵前駆細胞を効率的に再現性よく作製するための無血清培地です。このキットを使用すると、複数の hPSC 株を、胚体内胚葉、原始腸管、後方前腸内胚葉を経て、膵前駆細胞へ分化させることができます。分化した細胞は、PDX-1、NKX6.1、NEUROD1 などの主要な転写因子を発現し、インスリンおよびグルカゴンの発現が上昇します (図 33 および 34)。得られた膵前駆細胞をさらに外分泌細胞および内分泌細胞に分化させ、糖尿病および 細胞成熟の研究、疾患モデリング、膵がんの研究の有用なツールとすることができます。

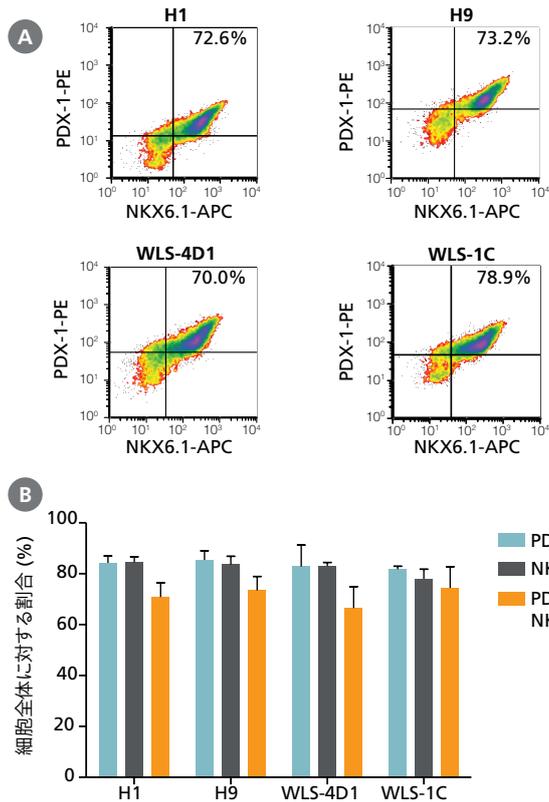


図 33. STEMdiff™ Pancreatic Progenitor Kit Efficiently Generates PDX-1, NKX6.1-Positive Progenitors Across Multiple hPSC Lines

4 種類の hPSC 株 (H1、H9、WLS-4D1、WLS-1C) 由来膵前駆細胞における PDX-1 および NKX6.1 の発現を調べました。(A) 段階 4 終了時における PDX-1 および NKX6.1 発現のフローサイトメトリープロット例。(B) 分化の段階 4 終了時における PDX-1 および NKX6.1 陽性率 (平均値 ± SD。各細胞株の n = 3 ~ 5)。分化効率の平均値は、細胞株によって異なり、66.5% ~ 74.5% です。胚体内胚葉から膵前駆細胞への転換効率は 77.3% ~ 96.3% です。また、発達中のヒトの膵臓で見られるのと同様に、ほぼすべての NKX6.1⁺ 細胞が PDX-1 を共発現します¹³。

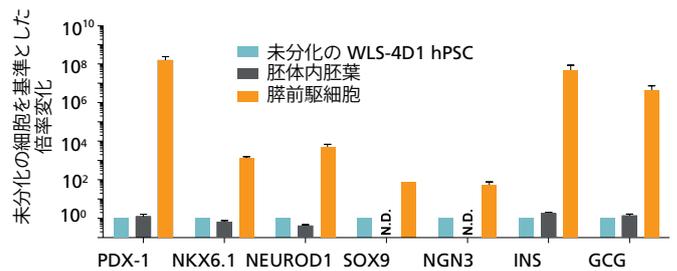


図 34. Gene Expression Profile Indicates Transition to Pancreatic Progenitor Cell

膵前駆細胞で発現する主要な転写因子またはホルモン (INS: インスリン、GCG: グルカゴン) の遺伝子発現プロファイル (平均値 ± SEM。WLS-4D1 細胞を分化させ各段階で n = 3 ~ 7 の実験)。発現は、まず 18S リボソーム RNA を内部標準とし、さらに未分化細胞における発現レベルの相対値で表しました。段階 1 の終了時 (胚体内胚葉) および段階 4 の終了時 (膵前駆細胞) における WLS-4D1 細胞の遺伝子発現が示されています。発現パターンは先行研究と一致しています¹⁴。N.D.: 未検出。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/STEMdiff-Pancreatic

肝臓

STEMdiff™ Hepatocyte Kit

ヒト PSC を肝細胞様細胞へ分化させます

hPSC を肝細胞様細胞 (hepatocyte-like cell, HLC) へ再現性よく分化させることにより、信頼性のある実験用 HLC 供給源が得られます。無血清組成で未知成分が含まれないようにすることにより、さまざまな hPSC 株において、分化のばらつきを最小限にとどめ、安定した事件結果を得ることができます。STEMdiff™ Hepatocyte Kit (商品コード 100-0520) で作製した HLC は、肝臓の研究、疾患モデリング、肝毒性検査におけるさまざまなアプリケーションに適しています。さらに拡大培養して 3D 肝オルガノイドすることで、長期間の維持培養とさらなる分化培養、あるいは凍結保存が可能となります。

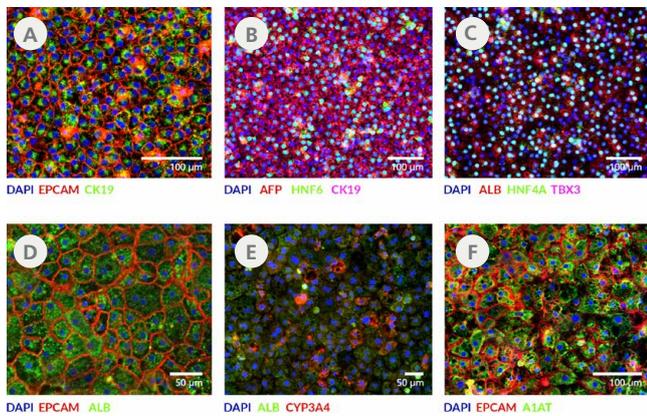


図 35. hPSC-Derived Hepatic Progenitor Cells and Hepatocyte-Like Cells Express Hepatic Markers As Confirmed by Immunocytochemistry Analysis

10 日目まで培養した細胞 (HP) および 21 日目まで培養した細胞 (HLC) を、4% のパラホルムアルデヒドで固定し、透過処理してから、一次および二次抗体で染色しました。(A ~ C) HP は、上皮マーカーである EPCAM、腺管マーカーである CK19、胎児性血清タンパク質である AFP、肝転写因子である HNF6 および HNF4a、段階特異的転写因子である TBX3 を発現していました。(C) 10 日目までに、一部の HP は、成熟血清タンパク質であるアルブミンも発現していました。(D ~ F) 大部分の HLC は、21 日目までに、成熟肝マーカーである ALB、CYP3A4、A1AT を発現していました。HP = 肝前駆細胞、HLC = 肝細胞様細胞、CK19 = サイトケラチン 19、AFP = α フェトプロテイン、ALB = アルブミン。

Why Use the STEMdiff™ Hepatocyte Kit?

- 主要な肝マーカーを発現し、肝臓特異的の活性を示す、成熟肝細胞様細胞 (HLC) を作製可能
- さまざまな hPSC 株から、効率的に HLC 培養物を樹立可能
- HepatiCult™ Organoid Kit (商品コード 100-0386) による HLC のさらなる拡大培養と 3D オルガノイドへの分化が可能
- 不死化細胞株である HepG2 よりも感受性が高い HLC により薬剤肝毒性を評価可能

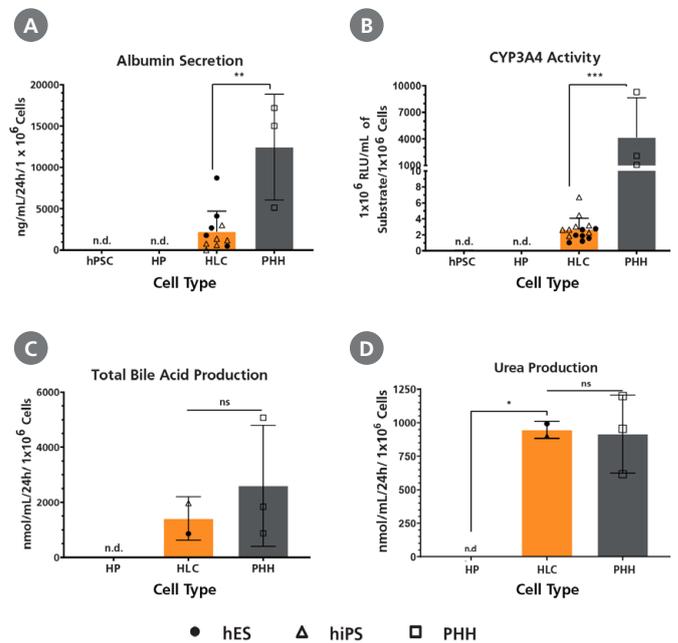


図 36. hPSC-Derived HLCs Exhibit Key Liver Functionalities

HP が成熟して HLC になると、細胞は (A) 血清タンパク質であるアルブミンの合成能および分泌能を獲得し (n = 11、ELISA [Abcam 社製、商品コード ab108788] で測定)、(B) CYP3A4 酵素活性 (n = 15、P450-Glo™ CYP3A4 Assay [Promega 社製、商品コード V9002] で評価) を示しました。21 日目の HLC は、初代ヒト肝細胞 (PHH、n = 3) と同等レベルの (C) 胆汁酸産生能 (n = 2) ならびに (D) 尿素合成能および分泌能 (n = 2) も有する可能性が高かった (比色アッセイ [Abcam 社製、それぞれ商品コード ab239702、ab83362] で測定)。エラーバー = SD。統計的検定には通常の片側 ANOVA を使用 (*** は調整済み p 値 0.0007、** は調整済み p 値 0.0011、* は調整済み p 値 0.0179、ns = 有意ではない)。HP = 肝前駆細胞、HLC = 肝細胞様細胞、PHH = 初代ヒト肝細胞。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-Hepatocyte

免疫系

STEMdiff™ NK Cell Kit

STEMdiff™ NK Cell Kit (商品コード 100-0170) によって実現する無血清フィーダーフリー条件により、hPSC から NK 細胞への安定した分化が可能となり、これらの細胞の基礎生物学的研究だけでなく、がん患者に対する養子免疫療法の開発にも利用することができます。

STEMdiff™ T Cell Kit

STEMdiff™ T Cell Kit (商品コード 100-0194) では、無血清フィーダーフリー培養条件下で、hPSC を分化させるために、高い分化効率で CD4⁺CD8⁺ 二重陽性 (double positive, DP) T 細胞を作製することができます。また、別のプロトコルにより、CD8⁺ 単独陽性 (single-positive, SP) T 細胞も作製可能です。

Why Use the STEMdiff™ NK Cell and T Cell Kits?

- 胚性幹 (ES) 細胞および人工多能性幹 (iPS) 細胞から T 細胞または NK 細胞への分化を、高回収率、高頻度で実現
- インプットする hPSC 由来 CD34⁺ 細胞 1 個あたり、約 230 個の CD56⁺ NK 細胞または 60 個の CD4⁺CD8⁺ 二重陽性 (DP) T 細胞を作製可能
- AggreWell™ によって胚様体 (EB) を形成し、均一な凝集塊が産生されることにより、ばらつきを抑制
- 無血清フィーダーフリー条件とすることにより、血清およびストロマ細胞を原因とするばらつきを排除
- ストロマ細胞をベースとする培養で必要とされる追加の継代ステップが不要

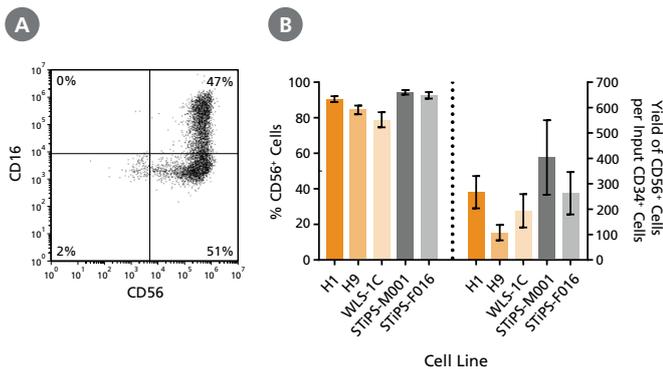


図 37. hPSCs Differentiate into CD56⁺ NK Cells After 40 Days of Culture

STEMdiff™ NK Cell Kit を使用して、hPSC を全 40 日間培養しました。細胞を回収し、フローサイトメトリーにより CD56 および CD16 の発現を調べました。(A) ES (H1) 由来細胞のフローサイトメトリープロット例。(B) 培養 40 日目において、hPSC 由来 CD34⁺ 細胞から分化した CD56⁺ NK 79% ~ 94% でした。hPSC 由来 CD34⁺ 細胞 1 個あたりの CD56⁺ 細胞回収量の平均値は 108 ~ 404 個でした。データは、平均値 ± SEM (n = 7 ~ 18) で示されています。



TECHNICAL BULLETIN

ヒト多能性幹細胞からの
ナチュラルキラー細胞の作製

www.stemcell.com/STEMdiffProtocol-NK

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-NK

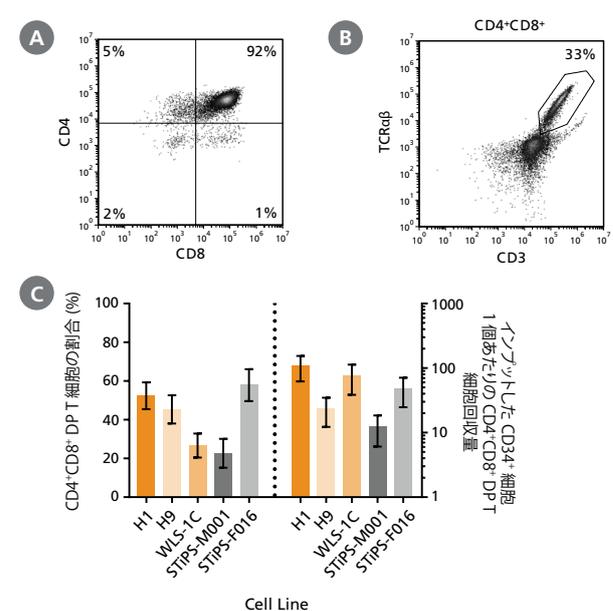


図 38. CD4⁺CD8⁺ DP T Cells Can Be Generated from Human hPSCs After a Total of 40 Days of Culture with the STEMdiff™ T Cell Kit

STEMdiff™ T Cell Kit を使用して、hPSC を CD4⁺CD8⁺ DP T 細胞へ分化しました。細胞を回収し、フローサイトメトリーにより、CD3、CD4、CD8、TCRαβ の発現を調べました。(A、B) ES (H1) 由来細胞のフローサイトメトリープロット例。(C) 28 日目における CD4⁺CD8⁺ DP T 生細胞の頻度の平均値は 23% ~ 58%、インプットした hPSC 由来 CD34⁺ 細胞 1 個あたりの DP T 細胞回収量の平均値は 12 ~ 108 個でした。データは、平均値 ± SEM (n = 6 ~ 17) で示されています。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-T

STEMdiff™ Monocyte Kit

STEMdiff™ Monocyte Kit (商品コード 05320) によって実現する無血清フィーダーフリー条件により、hPSC 由来単球の安定した分化が実現します。ImmunoCult™ Dendritic Cell Culture Kit (商品コード 1095) または ImmunoCult™-SF Macrophage Medium (商品コード 10961) をそれぞれ使用して、樹状細胞またはマクロファージへさらに分化させることもできます。

Why Use the STEMdiff™ Monocyte Kit?

- プレート 1 枚あたり最大 700 万個の CD14⁺ 単球をわずか 14 ~ 23 日で作製可能
- 無血清フィーダーフリー条件とすることにより、血清およびフィーダー細胞を原因とするばらつきを排除
- シンプルな単層培養で単球を生成でき、懸濁細胞の回収も容易

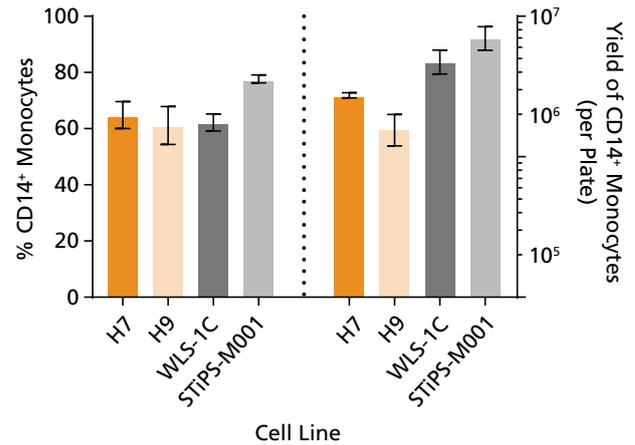


図 39. STEMdiff™ Monocyte Kit Enables Robust and Efficient Generation of CD14⁺ Monocytes

STEMdiff™ Monocyte Kit を使用して hPSC を分化し、17 日目から 23 日目まで 2 ~ 3 日ごとに回収しました。最大回収時における CD14⁺ 生単球の頻度の平均値は 61 ~ 78%、6 ウェルプレート 1 枚あたりの CD14⁺ 単球回収量の平均値は $1.6 \times 10^6 \sim 7.1 \times 10^6$ 個でした。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/STEMdiff-Monocyte

ミクログリアへの分化については、11 ページをご参照ください。

感覚系

STEMdiff™ Neural Crest Kit

高純度な神経堤細胞集団の作製が可能です

STEMdiff™ Neural Crest Differentiation Kit (商品コード 08610) には、hPSC から神経堤細胞 (neural crest cell, NCC) へ高効率に再現性よく分化させるための無血清基礎培地およびサプリメントが含まれています。

目的とする後続アプリケーションに応じ、STEMdiff™ Neural Crest Differentiation Kit または MesenCult™-ACF Plus Medium (商品コード 05445) を使用して、NCC 集団を 3 継代までさらに拡大培養することもできます。

このキットで作製した NCC は多分化性で、神経系および外胚葉性間葉系の両方の細胞タイプへのさらなる分化も可能です。

NCC を MesenCult™-ACF Plus Medium に継代すると、MesenCult™-ACF Chondrogenic Differentiation Kit (商品コード 05455) を使用して軟骨形成系へ (図 76E)、MesenCult™ Osteogenic Differentiation Kit (商品コード 05465) を使用して骨形成系へ (図 40F)、MesenCult™ Adipogenic Differentiation Kit (商品コード 05412) を使用して脂肪生成系へ分化させることができます。

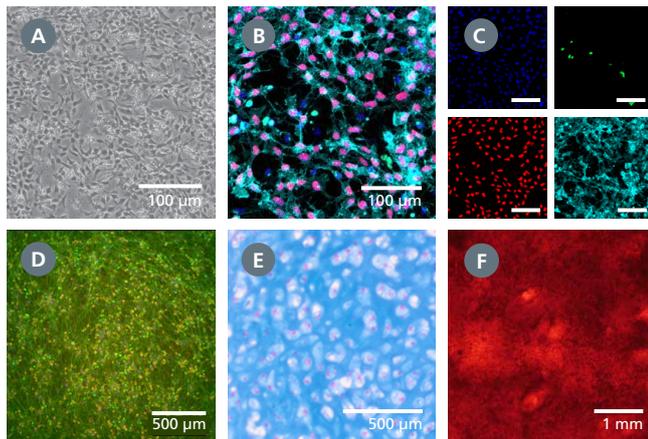


図 40. STEMdiff™ Neural Crest Differentiation Kit Generates a Highly Pure Population of Multipotent NCCs

培養 6 日後、6 日目の継代から 2 日後の分析で、神経堤細胞は、(A) 神経堤細胞に典型的な形態を示し、(B) 関連するマーカー (SOX10⁺ [赤]、CD271⁺ [明るい青]、DAPI [暗い青]) を発現し、その数は中枢神経系 (CNS) タイプの前駆細胞 (PAX6⁺ [緑]) を上回りました。(C) (B) の個々の免疫蛍光チャンネル。(D) STEMdiff™ Sensory Neuron Kit による NCC の培養により、末梢ニューロン (PRPH [緑]、BRN3a [赤]、DAPI [青]) を作製できます。(E) NCC を MesenCult™-ACF Plus Medium に継代してから MesenCult™-ACF Chondrogenic Differentiation Kit に継代すると、細胞の周囲に軟骨が沈着した軟骨細胞ペレット (Alcian Blue, Nuclear Fast Red) を作製できます。(F) NCC を MesenCult™-ACF Plus Medium に継代してから MesenCult™ Osteogenic Differentiation Kit (Human) に継代すると、アリザリンレッド陽性のミネラルが高レベルに沈着した骨芽細胞培養物を作製できます。スケールバー = (A ~ C) 100 μm、(D ~ E) 500 μm、(F) 1 mm。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/NCKit

STEMdiff™ Sensory Neuron Kits

無血清の STEMdiff™ Sensory Neuron Differentiation Kit (商品コード 100-0341) および STEMdiff™ Sensory Neuron Maturation Kit (商品コード 100-0684) を使用して、PRPH および BRN3A を発現する末梢ニューロンを作製できます。ニューロンは、生理的なグルコースレベルおよびモル浸透圧濃度の BrainPhys™ (商品コード 05790) により、感覚リガンドおよび温度変化に対する応答活性を示します。

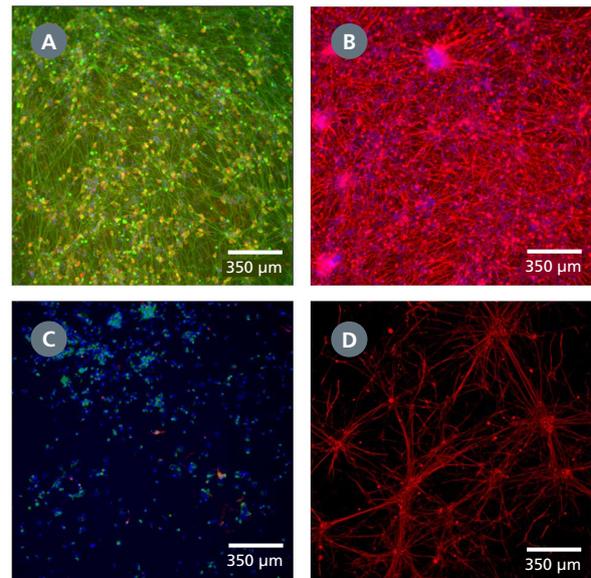


図 41. Sensory Neurons of the Peripheral Nervous System Can Be Generated Using STEMdiff™ Sensory Neuron Kits

STEMdiff™ Neural Crest Differentiation Kit を使用し、mTeSR™ Plus で 6 日間 hPSC から作製した NCC を、STEMdiff™ Sensory Neuron Differentiation Kit および Maturation Kit をそれぞれ 6 日間使用して、感覚ニューロン (SN) へ分化および成熟させました。得られた培養物には、(A) SN マーカーであるペリフェリン (緑) および BRN3A (赤) とともに、(B) ニューロンマーカーであるクラス III β チューブリン (TUJ1 [赤]) を発現する細胞集団が含まれます。(C) STEMdiff™ Midbrain Neuron Differentiation Kit および Maturation Kit で作製した中脳ニューロンコントロールに、検出可能なペリフェリン (緑) や BRN3A (赤) の発現は認められませんが、(D) ニューロンマーカーであるクラス III β チューブリン (TUJ1 [赤]) は発現しています。核は DAPI (青) で標識されています。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/stemdiff-sensory-neuron

筋肉系

STEMdiff™ Myogenic Progenitor Supplement Kit

hPSC から筋原性前駆細胞および筋管細胞の作製が可能です

STEMdiff™ Myogenic Progenitor Supplement Kit (商品コード 100-0151) には、hPSC を筋原性前駆細胞に分化させるための DMEM/F12 培地に添加する無血清サプリメントが含まれています。筋原性前駆細胞は、CD56、CD82 などの筋芽細胞マーカーの発現を特徴とし、MyoCult™-SF Expansion Supplement Kit (Human、商品コード 05980) による 5 継代以上の拡大培養や MyoCult™ Differentiation Kit (Human、商品コード 05965) による機能性多核 MyHC⁺ 筋管への高効率な分化が可能です。これらの筋管細胞は、さまざまな後続アプリケーションや解析に使用することができます。

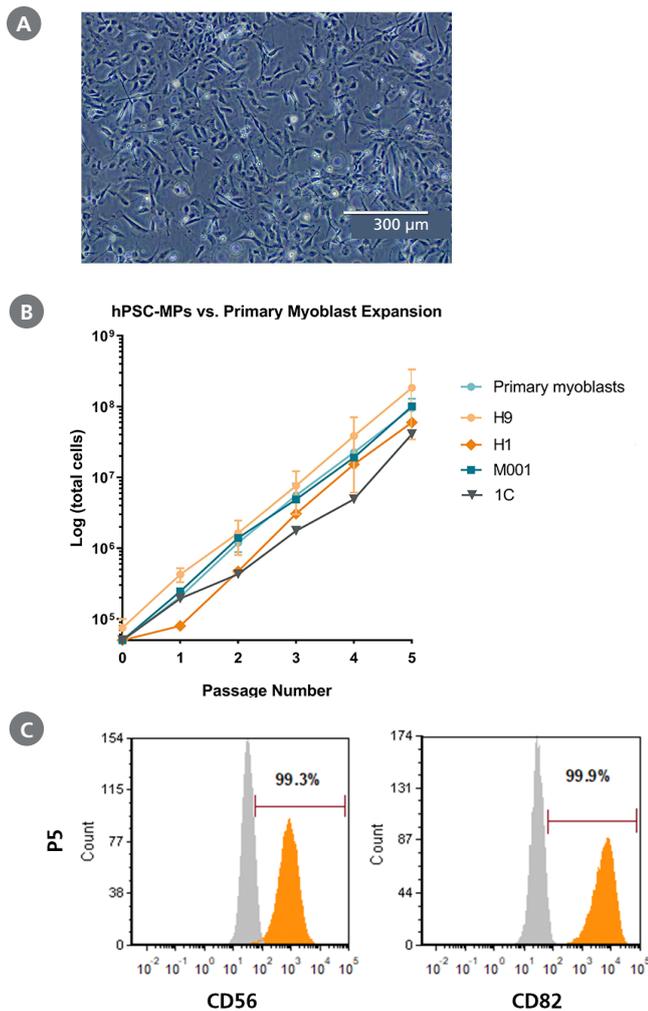


図 42. STEMdiff™ Myogenic Progenitor Kit Generates Expandable hPSC-Derived Myogenic Progenitors

(A) STEMdiff™ Myogenic Progenitor Kit を使用して作製され、継代培養された増殖中の hPSC 由来筋原性前駆細胞の画像例。(B) 複数の hPSC 株から作製された筋原性前駆細胞 (hPSC-MP) の 5 継代にわたる増殖率は、ヒト初代筋芽細胞と同等です。エラーバーは平均値の標準誤差を示しています (n = 3)。(C) 継代 5 代で回収した hPSC 由来筋原性前駆細胞は、ヒト筋芽細胞マーカーである CD56 および CD82 を発現していました。

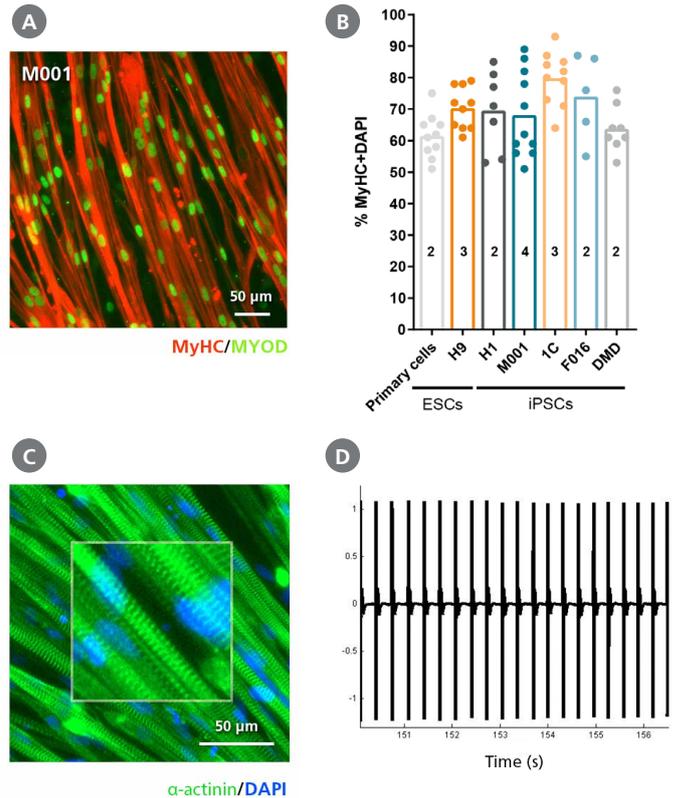


図 43. hPSC-Derived Myotubes Generated Using the STEMdiff™ Myogenic Progenitor Kit Are Efficiently Differentiated and Functionally Contractile

STEMdiff™ Myogenic Progenitor Kit を使用して hPSC (M001 細胞株) から筋原性前駆細胞を作製し、MyoCult™ Differentiation Medium (Human) を使用して筋管へ分化誘導しました。(A) 8 日後に筋管を固定し、MyHC および MyoD を染色しました。(B) この方法で複数の hPSC 株から分化誘導した細胞は、初代ヒト筋芽細胞と同等の高い融合指標を示しました (棒グラフ内の数字は n 数、丸印は技術的の反復実験を示しています)。(C) hPSC 由来筋管の α アクチンを染色しました。拡大表示領域に、器質化したサルコメア構造が認められました。(D) 微小電極アッセイプレートを使用して測定した hPSC 由来筋管の自発電位から、これらの筋管が収縮性を有することが示されました。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/myo-diff

間質系

STEMdiff™ Mesoderm Induction Medium

ゼノフリー条件下で初期中胚葉へ分化できます

STEMdiff™ Mesoderm Induction Medium (MIM、商品コード 05220) は、ヒト胚性幹 (ES) 細胞および人工多能性幹 (iPS) 細胞から初期中胚葉細胞を作製するためのゼノフリー培地です。中胚葉分化は複雑で安定した結果を得るには、確立されたプロトコルが重要です。STEMdiff™ MIM 単層培養プロトコルによって、短時間のシンプルな培養工程を経て、複数のヒト ES 細胞株および iPS 細胞株から、効率的に再現性よく分化させることができます。

STEMdiff™ MIM では、Brachyury (T)、MIXL1、NCAM マーカーが陽性の初期中胚葉細胞が豊富な細胞集団が産生されます (図 44)。

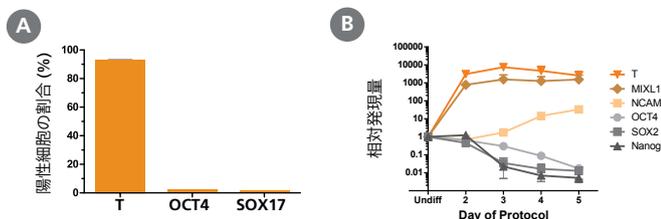


図 44. STEMdiff™ MIM Efficiently Generates a Homogenous Population of Early Mesoderm Cells

(A) プロトコル 5 日目において、初期中胚葉の特徴 (Brachyury [T] 発現が陽性、OCT4 および SOX17 発現が陰性) が認められるマーカー発現を示すデータ。データは、各マーカーを発現している細胞の割合の平均値 \pm SD。n = 33 (T, OCT4)。n = 5 (SOX17)。 (B) 未分化細胞マーカー (OCT4、SOX2、NANOG) および初期中胚葉マーカー (T、MIXL1、NCAM) の発現量 (qPCR で測定し、未分化細胞のレベルに対して基準化。n = 2)。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-MIM

STEMdiff™ Mesenchymal Progenitor Kit

機能性の間葉系前駆細胞を誘導します

STEMdiff™ Mesenchymal Progenitor Kit (商品コード 05240) によって、ヒト ES 細胞または iPS 細胞から間葉系前駆細胞 (mesenchymal progenitor cell, MPC) への効率的で再現性のある分化ができます。このキットには、MPC の誘導および拡大培養に使用する動物由来成分フリー (ACF) の誘導培地、拡大培養培地、接着基質が含まれています。また、3 週間のフィーダーフリー培養によって MPC を作製する、シンプルな単層培養プロトコルを使用します。ヒト ES 細胞または iPS 細胞由来 MPC は、長期にわたる拡大培養が可能です (図 45)。誘導した MPC は、細胞表面マーカーである CD73、CD90、CD105 を強発現しており、CD45 の発現は認められません。

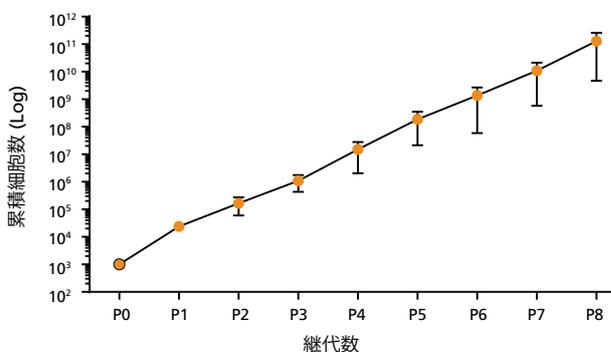


図 45. hPSC-Derived MPCs Generated Using the STEMdiff™ Mesenchymal Progenitor Kit Exhibit a High Rate of Cell Expansion in MesenCult™-ACF Plus Medium

STEMdiff™ Mesenchymal Progenitor Kit を使用して hPSC から作製した ヒト MPC の細胞増殖数の平均値。エラーバーは平均値の標準誤差 (SEM) を示しています (n = 5)。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/STEMdiff-MPC

泌尿生殖器系

STEMdiff™ Kidney Organoid Kit

hPSC を腎オルガノイドへ分化させると、発達中のヒトの腎臓と直接関連する *in vitro* モデルの培養系を使用して研究を行うことができます。腎オルガノイドは、生体内のネフロン構造およびセグメンテーションに似た、内皮細胞、ポドサイト、近位および遠位尿細管の上皮細胞を有する、大きな (150 ~ 400 μm 程度) 分枝構造体を形成します。さらに、患者由来の細胞をリプログラミングすることにより、特異的な遺伝的背景を有する、健康および疾患腎オルガノイドモデルを作製することができます。これらの *in vitro* モデルは、CRISPR-Cas9 による遺伝子編集で変異を導入または修正することで、さらに遺伝子を操作してから分化させることもできます。この手法は、多発性嚢胞腎や発達時におけるポドサイト形成のモデル化に使用され、成功しました^{15,16}。他の hPSC 由来オルガノイド系と同様に、腎オルガノイドも発達初期 3 カ月間の腎臓に類似し、分化マーカーだけでなく、発達中の腎臓のマーカーが認められます^{17,18}。

STEMdiff™ Kidney Organoid Kit (商品コード 05160) は、21 日間で、ES 細胞および iPS 細胞から管状の腎オルガノイドを作製することができます。これらのオルガノイドは、発達細胞学および細胞生物学、疾患モデリング、薬物スクリーニングおよび腎毒性評価、細胞治療研究などの幅広い実験に適しています。

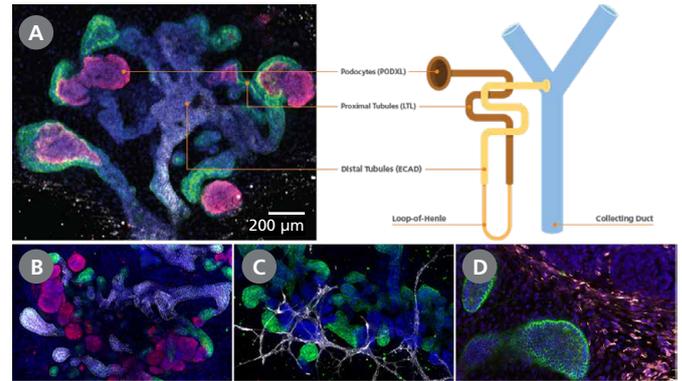


図 47. Kidney Organoids Display Distinct Domains of the Developing Nephron

STEMdiff™ Kidney Organoid Kit を使用して hPSC から作製した腎オルガノイドは、発達中のネフロン構造およびセグメンテーションに似た細胞および構造を有しています。(A, B) 分枝した管状オルガノイドには近位尿細管 (LTL [緑])、遠位尿細管 (ECAD [白])、ポドサイト (PODXL [赤]) の各マーカーが認められ、(C) 内皮細胞 (CD31 [白]) および (D) 間葉系細胞 (VIM [白], Meis 1/2/3 [赤]) を含むすべての細胞に DAPI (青) で示される核が認められます。スケールバー = 200 μm。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/STEMdiffKidney

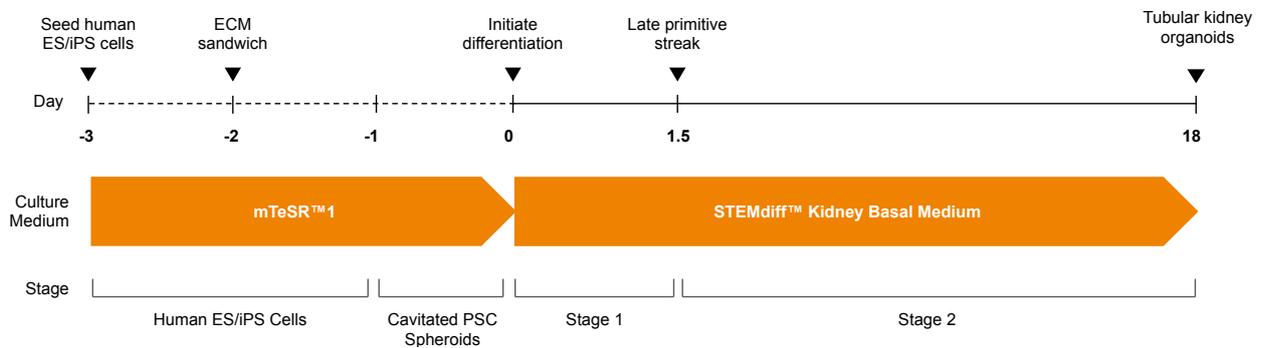


図 46. Schematic for Differentiation from hPSCs to Human Kidney Organoids with the STEMdiff™ Kidney Organoid Kit

hPSC から、シンプルな 3 段階のプロセスを経て、腎オルガノイドを作製します。hPSC を播種し、Corning® Matrigel® を重層することで中空構造を持つスフェロイドを形成させます。その後、後期原始線条、中間中胚葉へ誘導し、分化の 18 日目までに管状の腎オルガノイドが形成されます。

自由度の高い、ユーザーによる分化誘導

STEMdiff™ APEL™ 2

STEMdiff™ APEL™ 2 Medium (商品コード 05270) は、ヒト胚性幹 (ES) 細胞および人工多能性幹 (iPS) 細胞を分化させるための、組成が完全に明確な無血清動物由来成分フリー培地です。Ng ら¹⁹ が公表した APEL 組成に基づいており、タンパク質フリーのハイブリドーマ培地と同様に、未知成分が含まれていません。この培地は、接着ベースプロトコルでも、AggreWell™ プレート (36 ページを参照) を併用するような胚様体 (EB) ベースプロトコルでも使用可能です。適切な誘導因子を添加してから使用してください。

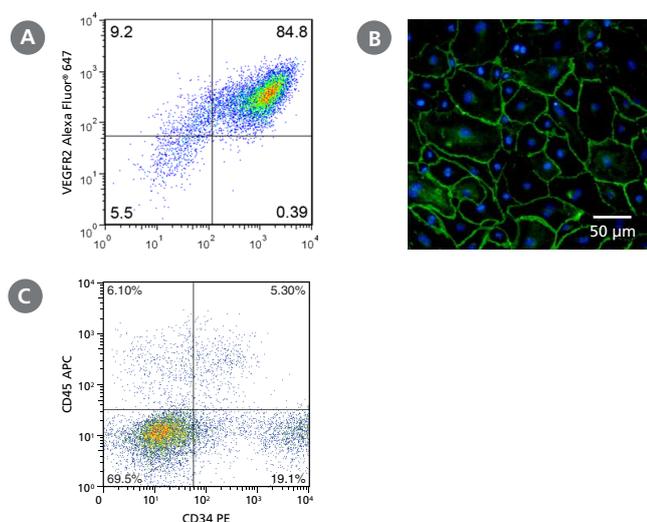


図 48. STEMdiff™ APEL™ Media Can Be Used for Customized Differentiation to Various Mesodermal Cell Lineages

(A) Tan ら²⁰の方法に基づき、STEMdiff™ APEL™ 培地*を使用して STiPS-F001 ヒト iPS 細胞を内皮細胞へ分化。(B) STEMdiff™ APEL™ 培地を使用して H1 細胞から分化させた内皮細胞における CD31 (緑。青の部分は核) の免疫細胞化学画像。画像提供: Cao Tong lab (University of Singapore)。(C) Ng ら¹⁹および Chadwick ら²¹の方法に基づき、H9 細胞を造血細胞へ分化。ただし、(1) 基礎培地として STEMdiff™ APEL™ 培地を使用した点、(2) 分化前の細胞を Matrigel® 上の mTeSR™1 で維持培養した点、(3) EB ベースの方法ではなく、Matrigel® コーティング面での接着細胞培養で分化を行った点が異なります。

*STEMdiff™ APEL™ の後継品が STEMdiff™ APEL™ 2 です。STEMdiff™ APEL™ 2 には、タンパク質フリーのハイブリドーマ培地と同様に、未知成分が含まれていません。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/APEL2

Why Use STEMdiff™ APEL™ 2?

- 結果が明確な増殖を動物由来成分フリー (animal origin-free, AOF) 組成で実現
- 安定した公表済みの基礎培地を使用することにより、独自の細胞に合わせて分化プロトコルを調整可能
- 造血、内皮、上皮などのさまざまな細胞系列へ分化可能
- さまざまな接着ベースまたは EB ベースのプロトコルで使用可能

TeSR™-E5 および TeSR™-E6 培地

TeSR™-E5 (商品コード 05916) および TeSR™-E6 (商品コード 05946) は、TeSR™-E8™ の組成に基づく、組成が明確な無血清ゼノフリー培地ですが、形質転換増殖因子 β (TGFβ) や塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) は含まれていません。また、TeSR™-E5 にはインスリンも含まれていません。この組成により、ヒト ES 細胞および iPS 細胞を分化する場合の基礎培地として、または前述のサイトカインおよびインスリンを含まないことが望ましいその他のアプリケーションの基礎培地として使用することができます。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.STEMdiff.com/#custom

細胞の品質評価

STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit

分化誘導で多能性を検証します

STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit (商品コード 05230) は、ヒト ES 細胞および iPS 細胞の三胚葉への安定した分化誘導を実施できるシンプルなキットです。このキットには、各胚葉の in vitro での分化誘導実験を行うための試薬とプロトコルが含まれており、3 胚葉への分化能を 1 週間以内ではっきり確認することができます。免疫組織化学法、フローサイトメトリー、またはトランスクリプトーム解析によって示された明確で定量的なアッセイの結果から、STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit が、ヒト ES 細胞株および iPS 細胞株の多能性を確認する有用なツールであることがわかります。



図 49. Molecular Analysis of Cultures Differentiated with the STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit Shows Strong Separation of Lineage-Specific Markers

H9 細胞を mTeSR™1 で維持培養してから、STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit による分化誘導または 10 日間のプロトコルを使用する血清含有培地における胚様体 (EB) の自発的分化により、in vitro で分化させました。その後、未分化細胞、分化誘導キットで分化させた外胚葉細胞、中胚葉細胞、内胚葉細胞、および EB について、マイクロアレイによるトランスクリプトーム解析を行い、主要な胚葉マーカーの発現レベルを調べました。STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit で分化させた細胞では、対応する胚葉に特異的なマーカーの発現上昇が明確に認められましたが、EB で自発的分化した同一の細胞では、中胚葉や内胚葉マーカーの顕著な発現上昇は認められませんでした。

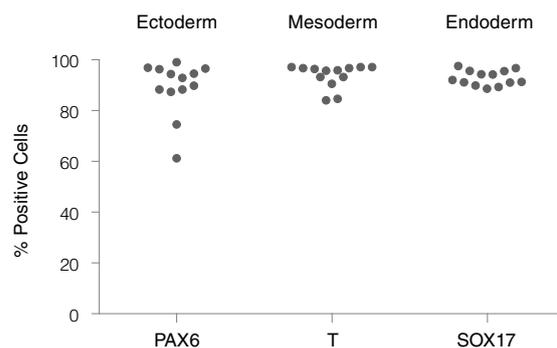


図 50. The STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit Promotes Efficient Differentiation to All Three Germ Layers

多能性幹細胞 (iPS 細胞および ES 細胞の両方) を mTeSR™1 で維持培養してから、STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit を使用して分化させ、フローサイトメトリーによる解析を行いました (n = 13 [生物学的反復実験、5 種類の細胞株で実施])。フローサイトメトリーにおいて各胚葉に使用したマーカーは、X 軸の下に示すとおりです。

hPSC Trilineage Differentiation qPCR Array

hPSC Trilineage Differentiation qPCR Array (商品コード 07515) は、バリデーション済みの 90 種類の遺伝子アッセイにより、未分化 hPSC または分化初期段階にある誘導体に関連する遺伝子発現を、ハウスキーピングコントロールおよび合成 DNA 陽性コントロールの発現を指標に調べることができます。当社の自由度の高いオンラインアプリ (www.stemcell.com/qPCRanalysis) により、データ解析の効率化が可能です。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/trilineage-array

関連製品

低分子化合物

低分子化合物は、幹細胞の生物学的特性を理解するための重要なツールとして、使用されています。リプログラミング、自己複製、分化のいずれのためであっても、適切な低分子化合物を使用することで研究計画が一変することもあり得ます。幹細胞のみ分化維持や細胞分化を制御する生理学的に重要な細胞内シグナルを標的とする様々な低分子化合物をご用意しております。

入手可能な低分子化合物の一覧と詳細、および影響力の大きな研究における使用方法については、www.stemcell.com/smallmolecules をご覧ください。

よく使用される低分子化合物

分子	経路/標的	アプリケーション	商品コード
CHIR99021	WNT 経路 アクティベーター GSK3 を阻害	リプログラミング、 維持培養、分化	72052
IWP-2	WNT 経路 インヒビター Porcupine を阻害	分化	72122
LDN193189	BMP 経路 インヒビター ALK1、ALK2、 ALK3、ALK6 を 阻害	分化	72147
SB431542	アクチビン/BMP/ TGF-β 経路 インヒビター ALK4、ALK5、 ALK7 を阻害	リプログラミング、 分化	72232
	Hedgehog 経路 アクティベーター Smoothened を 活性化	分化	72202
DAPT	Notch 経路 インヒビター g-セクレターゼを 阻害	分化	72082
Prostaglandin E2	Prostanoid 経路 アクティベーター プロスタグランジン 受容体 EP1、EP2、 EP3、EP4 を活性化	分化	72192
Dibutyryl-cAMP	cAMP 経路 アクティベーター cAMP 依存性- プロテインキナー ゼを活性化	分化	73882
SB202190	p38 MAPK インヒビター	維持培養、 分化	72632
IWR-1-endo	WNT 経路 インヒビター AXIN2 安定剤	維持培養、 分化	72562
All-Trans Retinoic Acid	レチノイド経路 アクティベーター レチノイン酸受容 体 (RAR) を活性化	分化	72262
BIO	WNT 経路 アクティベーター GSK3 を阻害	リプログラミング 、維持培養、 分化	72032

サイトカイン

サイトカインは、hPSC の自己複製に加え、系列特異的分化プロトコルで一般的に使用されます。動物由来成分フリー (ACF) の製品を含む、入手可能なサイトカインの一覧については、www.stemcell.com/cytokines をご覧ください。

よく使用されるサイトカイン

製品名	商品コード	
	非 ACF	ACF*
Activin A ¹	78001	78132
B18R Protein	78075	-
bFGF	78003	78134
BMP-2	78004	78135
BMP-4	78211	-
DKK-1	78208.1	-
EGF ¹	78006	78136
EGFR	78171.1	-
Flt3/Flk-2 Ligand	78009	78137
Heregulin-beta 1	79071	-
IGF-I	-	78142
LIF	78055	78149
Noggin	78060	-
SCF	78062	78155
TGF-β1 ¹	78067	-
VEGF-165	78073	78159
VEGF-121	78127	-

* ACF サイトカインはすべて、大腸菌で作製されたヒト組み換えタンパク質で、動物由来成分およびヒト由来成分を含まないことが保証されています。
¹国際単位 (IU) データあり。 www.stemcell.com/IU-data をご覧ください。

AggreWell™ プレート

均一な胚様体を再現性よく作製できます

多くの hPSC 分化プロトコールは、胚様体 (EB) と呼ばれる 3 次元の細胞凝集塊の形成から始まります。従来の EB 形成法²² では、大きさや形にばらつきのある EB が形成され (図 51A)、分化が非効率であったり、コントロール不能であったりしました²³。

AggreWell™ プレートを使用すると、簡単な標準化された方法で EB を作製することができます。各ウェルが所定の大きさのマイクロウェルに分割されており、均一性の高い EB を簡単に大量調整でき (図 51B)、分化実験の再現性も保証されます²⁴。

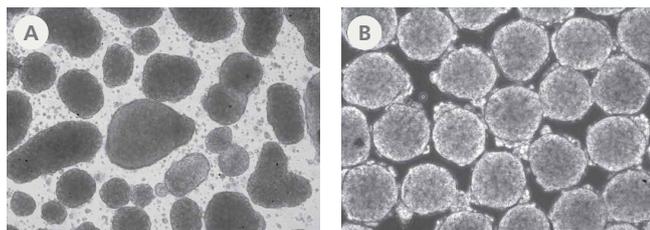


図 51. AggreWell™ Plates Are Used to Generate Uniform EBs

(A) 従来の手法で形成されたヒト EB は、大きさおよび形にばらつきがあります。(B) AggreWell™ プレートで形成されたヒト EB は、大きさが均一で、形はすべて球状です。図は、AggreWell™400 を使用し、細胞 2,000 個から作製した EB です。

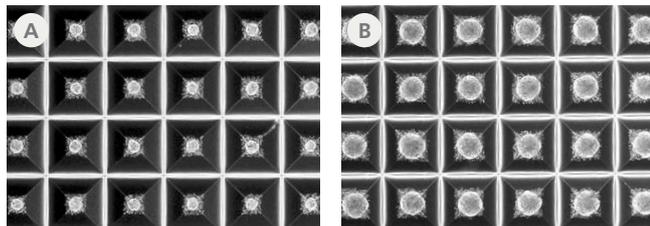


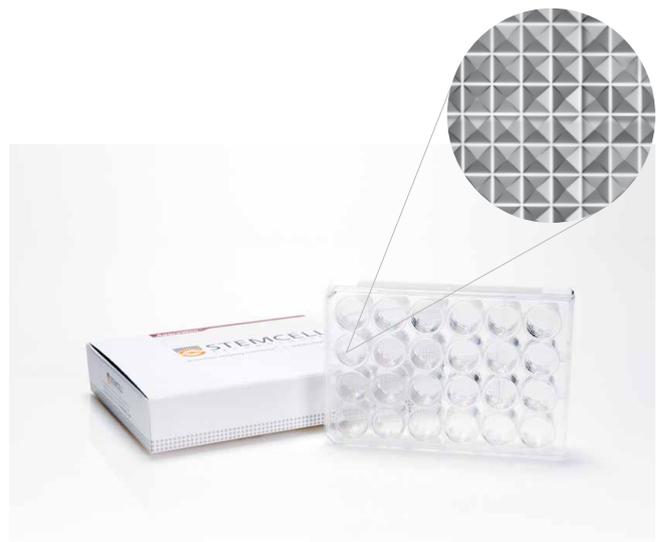
図 52. The Size of EBs Can Be Controlled in AggreWell™

シングルセル懸濁液から開始し、AggreWell™ での培養 24 時間後に、hPSC が EB を形成します。EB の大きさは、播種密度の調整により簡単に変更することができます。図の EB は、それぞれ AggreWell™400 の 1 マイクロウェルあたり細胞数 (A) 250 個および (B) 1,000 個で播種しました。

AggreWell™ には、マイクロウェルのサイズが 400 μm の製品 (AggreWell™400) および 800 μm の製品 (AggreWell™800) があります。

製品名	マイクロウェルのサイズ	細胞数範囲	プレートフォーマット	胚様体数	商品コード
AggreWell™400	商品コード	EB 1 個あたり 50 ~ 3,000 個	24 ウェルプレート	1 ウェルあたり 約 1,200 個	34411/34415
			6 ウェルプレート	1 ウェルあたり 約 5,900 個	34421/34425
AggreWell™800	800 μm	EB 1 個あたり 3,000 ~ 20,000 個	24 ウェルプレート	1 ウェルあたり 約 300 個	34811/34815
			6 ウェルプレート	1 ウェルあたり 約 1,500 個	34821/34825

最適な培養のためには、Anti-Adherence Rinsing Solution (商品コード 07010) が必要です。



詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/AggreWell

抗体

ヒト多能性幹細胞および分化細胞の免疫細胞化学染色に

STEMCELL Technologies の抗体を使用すると、実験の結果に確信を持つことができ、貴重な研究時間の短縮につながり、実験の再現性が保証されます。当社の高品質な一次および二次抗体は、各アプリケーションで使用する多能性幹細胞試薬との併用について確認済みであるため、表現型解析や純度評価などの後続の細胞分析を安心して遂行していただけます。

hPSC 研究でよく使用される抗体

標的抗原	クローン	アイソタイプ	商品コード
OCT4 (OCT3)	3A2A20	Mouse IgG2b	60093
OCT4 (OCT3)	40	Mouse IgG1	60059
SSEA-1 (CD15)	MC-480	Mouse IgM	60060
SSEA-3	MC-631	Rat IgM	60061
SSEA-4	MC-813-70	Mouse IgG3	60062
SSEA-5	8e11	Mouse IgG1	60063
TRA-1-60	TRA-1-60R	Mouse IgM	60064
TRA-1-81	TRA-1-81	Mouse IgM	60065
TRA-2-49	TRA-2-49/6E	Mouse IgG1	60066
TRA-2-54	TRA-2-54/2J	Mouse IgG1	60067

入手可能な抗体および抱合体については、以下をご覧ください。
www.stemcell.com/antibodies.

GloCell™ Fixable Viability Dyes

生細胞/死細胞の染色用

GloCell™ Fixable Viability Dye は、哺乳類の生細胞/死細胞染色用の蛍光アミン標識色素で、フローサイトメトリーデータから死細胞を確実に除去することができます。これらの色素は、洗浄および固定の影響を受けることなく、細胞内抗体染色プロトコールにも対応しています。また、染色後の細胞を凍結保存しても、蛍光強度は損なわれません。

詳細は、以下のページをご参照ください。
www.stemcell.com/GloCell

ミトコンドリア用キットおよび色素

ミトコンドリアは、エネルギーバランスの維持に重要で、正常な細胞の機能や活性だけでなく、細胞老化の制御でも重要な役割を果たしています。ミトコンドリアサンプル調製の蛍光ベースの色素およびキットが、生理的および病理的条件下におけるミトコンドリアの活性を調べるための有用なツールとしてご使用いただけます。当社の主要な培地製品による細胞培養後のミトコンドリアの活性および細胞代謝の研究には、以下の製品をご利用ください。

製品名	商品コード
Mitochondrial Isolation Kit	100-0990
Mitochondrial Superoxide Dye	100-0991
TMRE (過塩素酸塩)	100-0992
JC-1 (ヨウ化物)	100-0993
Rhod-2 AM (臭化物)	100-0994
Mitochondrial Tracking Dye, Deep Red	100-0995
Mitochondrial Tracking Dye, Blue	100-0996

Annexin V Dye および Caspase 3/7 Assay Reagent

初期段階の細胞アポトーシス検出用

Annexin V は、哺乳類の初期のアポトーシス細胞を特異的に検出することができる特徴的な細胞死マーカーです。Annexin V Apoptosis Detection Kit は、Annexin V による初期段階の細胞アポトーシスの検出と Annexin V および 7-Aminoactinomycin D (7-AAD) による後期細胞アポトーシスまたはネクローシスの検出が同時に行える仕様になっています。

幅広い細胞タイプにおいて、カスパーゼ 3 の活性化がアポトーシスカスケードの開始に必要なステップであるため、カスパーゼ 3/7 はアポトーシスの信頼できる指標として広く受け入れられています。

STEMCELL のカスパーゼ 3/7 製品は、アポトーシス細胞におけるカスパーゼ 3/7 活性の検出に使用することができ、カスパーゼ 3/7 活性を安定して検出可能で、フローサイトメトリーやマイクロプレートを使用するハイスループットアッセイにも簡単に使用できます。

ラボトレーニングコースおよびプログラム

当社の経験豊富な研究者から直接学ぶことができます

経験が乏しい実験を行う上では様々な困難が待っています。プロトコルが時間のかかる複雑なものであることも多く、不慣れなために実験者がミスをしたり、実験誤差が生じたりすることもあります。実験開始前に当社のトレーニングプログラムを受講することで、不安なく実験を行え、実験の成功率が増すでしょう。



オンデマンドトレーニング

自分のペースで進められる無料のオンライントレーニングコースを利用できます

実験技術やプロトコルを学習すれば、研究がさらに発展するでしょう。ビデオ講義、手順を1つずつ説明する動画、選りすぐりのリソースライブラリーがあり、ワークフロー全体のガイドとしてご利用いただけます。hPSCの維持培養および細胞品質、神経誘導、hPSCの3D浮遊培養による拡大培養などの内容について学習することができます。継代から凍結保存までの基本的な実験スキルを習得してください。



ライブバーチャルトレーニング

インストラクター主導のトレーニングをご自宅からラボでも受講できます

リアルタイム映像によるデモンストレーションの視聴やオンラインワークショップへの参加は、世界中のどこからでも可能です。当社の双方向のバーチャルトレーニングコースでは、科学分野の専門チームによる講義を受講できます。体細胞から高品質なヒトiPS細胞を誘導し、維持培養して、特定の細胞タイプへ正常に分化させる手法およびプロトコルを、双方向のバーチャル環境で学ぶことができます。

hPSCの培養とhPSCから脳臓器オルガノイド、腸臓器オルガノイド、心筋細胞、または造血前駆細胞への分化をサポートする対面でのトレーニングも可能です。

詳細は、以下のページをご参照ください。

www.stemcell.com/psc-training

参考文献

1. D'Amour KA et al. (2005) *Nature Biotechnology* 23(12):1534-41.
2. Kattman SJ et al. (2011) *Cell Stem Cell* 8(2): 228-240.
3. Bardy C et al. (2015) *Proc Natl Acad Sci* 112(20): E2725-34.
4. Brewer GJ et al. (1993) *J Neurosci Res* 35(5): 567-76.
5. Bottenstein JE (1985) *Cell Culture in the Neurosciences: Current Topics in Neurobiology*. New York: Plenum Press: 3-43.
7. Er JC et al. (2015) *Angew Chem Int Ed Engl* 54(8): 2442-6.
8. Abud EM et al. (2017) *Neuron* 94(2): 278-93.e9.
9. Lancaster MA et al. (2013) *Nature* 501(7467): 373-9.
10. Birey F et al. (2017) *Nature* 545 (7652): 54-9.
11. Pellegrini L et al. (2020) *Science* 369(6500): eaaz5626.
12. Leung A et al. (2016) *Methods Mol Biol* 1353: 261-70.
13. Rezania A et al. (2012) *Diabetes* 61(8): 2016-29.
14. Riedel M et al. (2012) *Diabetologia* 55(2): 372-81.
15. Rezania A et al. (2014) *Nat Biotechnol* 32(11): 1121-33.
16. Freedman B (2015) *Biomark Insights* 10(Suppl 1): 153-69.
17. Freedman B et al. (2015) *Nat Commun* 6(8715): 1-13.
18. Cruz NM et al. (2017) *Nat Mater* 16(11): 1112-9.
19. van den Berg et al. (2018) *Stem Cell Reports* 10(3): 751-65.
20. Ng ES et al. (2008) *Nat Protoc* 3(5): 768-76.
21. Tan JY et al. (2013) *Stem Cells Dev* 22(13): 1893-906.
22. Chadwick K et al. (2003) *Blood* 102(3): 906-15.
23. Kurosawa H (2007) *J Biosci Bioeng* 103(5): 389-98.
24. Bauwens CL et al. (2008) *Stem Cells* 26(9): 2300-10.
25. Ungrin MD et al. (2008) *PLoS One* 3(2): e1565.

Copyright © 2023 by STEMCELL Technologies Inc. All rights reserved including graphics and images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, AggreWell, APEL, GloCell, MesenCult, MethoCult, MyoCult, NeuroCult, NeuroFluor, and STEMdiff are trademarks of STEMCELL Technologies Canada Inc. Corning and Matrigel are registered trademarks of Corning Inc. TeSR, E7, E8, and mTeSR are trademarks of WARF. BrainPhys is a registered trademark of the Salk Institute for Biological Studies, used under exclusive license. All other trademarks are the property of their respective holders. While STEMCELL has made all reasonable efforts to ensure that the information provided by STEMCELL and its suppliers is correct, it makes no warranties or representations as to the accuracy or completeness of such information.

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.

hPSC DIFFERENTIATION

多能性幹細胞由来細胞の
研究用ツール



TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322

PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM

TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT WWW.STEMCELL.COM

DOC#27242 VERSION 1.0.0 OCT 2023