

どうやって培養するの？

MSC
編



① 増殖培地の準備

基本培地

添加因子セット
(Single Quote)

MSC GM Bullet Kit (PT-3001) の構成
品を混和して完全培地を調整する。
使用期限：冷蔵保存 / 1ヶ月以内

② 凍結バイアル溶解

完全培地

凍結バイアル

1-2分以内
37°Cウォーターバス

5 ml 完全培地

予めプレインキュベーションしておいた 5 ml
完全培地に対し、ウォーターバスで 1 分程度
溶解した細胞溶液を加える。

③ 遠心/凍結培地除去

プレインキュベーター済み
完全培地

500 x g で 5 分間遠心して凍結保存培地を除去し、
回収された細胞を予めプレインキュベーションし
ていた培地へ播種密度 5,000-6,000 cells /cm²
となるよう播種する。播種 3-4 日後に培地交換を
実施する。

④ 継代

D-PBS

トリプシン/EDTA
[Cat# CC-3232]

同量の完全培地
を加え中和

遠心回収し播種継代

播種密度：
5,000-6,000 viable cells/cm²

MSC が ~ 90% コンフル
エンシーになる前に
継代する。培地を除き
D-PBS[Ca+Mg フリー]
で培地成分を洗浄す
る。トリプシン処理後、
完全培地で中和し、遠
心回 [600 x g 5 分]
して複数枚のディッシュ
に播種複数枚のディッ
シュに播種する。

応用例 分化誘導

骨芽細胞への分化誘導

hMSC – BulletKit™ 【骨芽細胞分化用】[Cat# PT-3002] を調整



コラーゲンコート培養皿に播種密度：hMSC 3.1 x 10³
cell / cm² となるよう増殖培地 (MSCGM) を添加し、24
時間培養したら、分化誘導培地へ培地交換し、3 ~ 4 日
に一度、培地交換しながら 2 ~ 3 週間分化誘導する。コント
ロールとして、未分化の hMSC を、増殖培地 (MSCGM)
で培養し比較する。

軟骨細胞への分化誘導

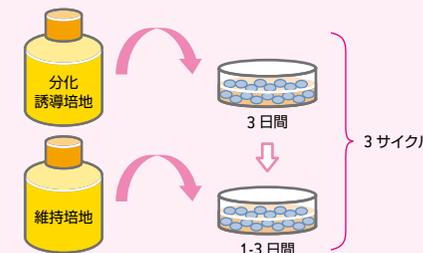
hMSC – BulletKit™ 【軟骨細胞分化用】[Cat# PT-3003] を調整した不完
全培地及び TGF-β3 (別売) を添加した完全培地をそれぞれ調整



15 ml 容量のポリプロピレンチューブで 2.5 x 10⁵ 個の hMSC を不完全培
地で 2 回洗浄し、その後 0.5 ml 完全培地 (TGF-β3 添加) を加え遠心し、
培地は取り除かずそのまま細胞ペレットを 24 時間インキュベーターで
静置培養する。2-3 日に 1 回の頻度で培地交換する。

脂肪細胞への分化誘導

hMSC – BulletKit™ 【脂肪細胞分化用】[Cat# PT-3004] に含まれる下記 2 種
の培地を調整



100% コンフルエンシーの状態、誘導培地で 3 日、次いで維持培地で
1-3 日培養する。この培養サイクルを 3 回繰り返す、脂肪細胞へ分化誘導
する。コントロールとして、未分化の hMSC を、維持培地で培養し比較する。
アッセイ試薬：AdipoRed™ assay reagent 5 x 4.0 ml (PT-7009)

ロンザ ヒト間葉系幹細胞 (hMSC) の特徴

ロンザの hMSC は 継代数の低い第 2 継代段階で凍結保存された製品で、再生医療の応用に向けて国際細胞治療学会 (ISCT) の標準とされているマーカー項目や分化能に順守しています。

国際細胞治療学会 (ISCT) の
品質試験標準項目

陽性: CD73, CD90, CD29, CD105, CD166, CD44 確認済
陰性: CD14, CD19, CD34, CD45, HLA-DR 確認済

分化能: 骨細胞、軟骨細胞、脂肪細胞 確認済み

hMSC 分化能の確認

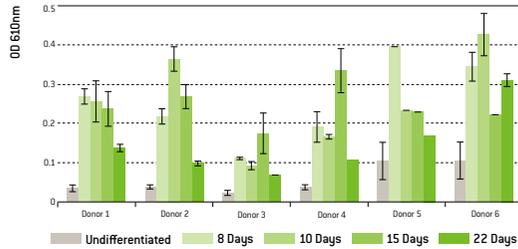


Figure 2. Chondrogenic Differentiation hMSC were differentiated with the hMSC Differentiation BulletKit™ – chondrogenic (Lonza, PT-3003) in the presence or absence (undifferentiated control) of 10ng/ml TGF-β3 (Lonza, PT-4124). Chondrogenic differentiation was monitored on the indicated days using Alcian blue 8GX staining [Sigma, A3157]. Absorption was measured with the FLUOstar Omega (BMG Labtech) at 610 nm [data is expressed as mean ± SD for 3 replicates]. All lots underwent chondrogenic differentiation as measured by glycosaminoglycan production compared to undifferentiated controls. Lot-to-lot dependent variability was observed.

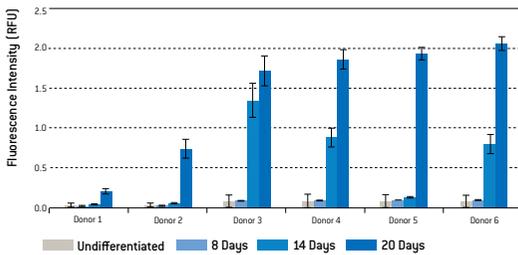


Figure 3. Osteogenic Differentiation hMSC were differentiated with the hMSC differentiation BulletKit™ – osteogenic (Lonza, PT-3002) according to manufacturer's instructions with exception of the seeding density [1,85E+03 cells/cm²]. Osteogenic differentiation was monitored on the indicated days with the Osteolmage™ Mineralization Assay (Lonza, PA-1503). Fluorescence intensity was measured with the Fluoroskan Ascent [Labsystems; excitation 485 nm/emission: 520 nm; 293 data points/well; data is expressed as mean ± SD for 1 – 3 replicates]. All donors underwent osteogenic differentiation as measured by hydroxyapatite deposition of cells. Lot-to-lot dependent variability was observed with respect to total amounts of deposited hydroxyapatite per well as well as the time required for detectable hydroxyapatite deposition.

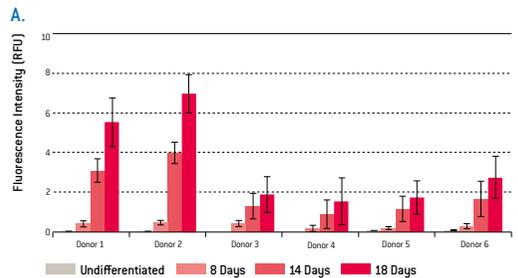
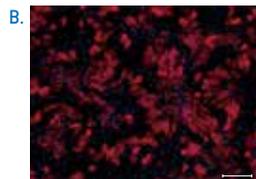


Figure 4. Adipogenic Differentiation hMSC were differentiated with the hMSC Differentiation BulletKit™ – adipogenic (Lonza, PT-3004) according to manufacturer's instructions. All donors underwent adipogenic differentiation as measured by the accumulation of intracellular lipid droplets within the cells. The percentage of differentiated cells and/or the total lipid content per cell varied between different lots.



細胞

カタログ番号	製品名	製品情報	サイズ	定価
PT-2501	hMSC 間葉系幹細胞 hMSC – Human Mesenchymal Stem Cells	正常成人 (単一)	≥7.5 x 10 ⁵	98,000円

培地

PT-3001	MSCGM BulletKit™ MSCGM™ Mesenchymal Stem Cell Growth Medium BulletKit™		基本培地および 添加因子	26,000円
PT-3238	MSCBM™ 基本培地 MSCGM™ Mesenchymal Stem Cell Basal Medium		440 ml	18,000円
PT-4105	MSCGM™ SingleQuots™ 添加因子セット MSCGM™ Mesenchymal Stem Cell Growth Medium SingleQuots™ Supplements and Growth Factors		1セット	19,000円

既知組成培地

00190632	MSCGM-CD™ 間葉系幹細胞 BulletKit™ MSCGM-CD™ Mesenchymal Stem Cell Growth Medium BulletKit™	既知組成	基本培地および 添加因子	39,000円
00190620	MSCBM-CD™ 間葉系幹細胞基本培地 MSCGM-CD™ Mesenchymal Stem Cell Basal Medium – Chemically-Defined		500 ml	21,000円
00192125	MSCGM-CD™ 間葉系幹細胞 SingleQuots™ 添加因子セット MSCGM-CD™ Mesenchymal Stem Cell Growth Medium SingleQuots™ Supplements and Growth Factors		1セット	25,000円

分化キット

PT-3002	hMSC BulletKit™ 【骨芽分化用】 hMSC – Human Mesenchymal Stem Cell Osteogenic Differentiation Medium BulletKit™	培地: PT-3924 添加因子: PT-4120	基本培地および 添加因子	36,000円
PT-3003	hMSC BulletKit™ 【軟骨分化用】 hMSC – Human Mesenchymal Stem Cell Chondrogenic Differentiation Medium BulletKit™	培地: PT-3925 添加因子: PT-4121	基本培地および 添加因子	59,000円
PT-4124	hMSC 用 rhTGF-β3 添加因子【軟骨分化用】 rhTGF-β3 for hMSC Chondrogenic Differentiation Medium Supplement		2 μg	58,000円
PT-3004	hMSC – BulletKit™ 【脂肪細胞分化用】 hMSC – Human Mesenchymal Stem Cell Adipogenic Differentiation Medium BulletKit™	培地: PT-3102A、 PT-3102B 添加因子: PT-4122、 PT-4135	基本培地および 添加因子	41,000円

ロンザジャパン株式会社

バイオサイエンス事業部

〒104-6591 東京都中央区明石町8-1 聖路加タワー 39階

セールス TEL: 03-6264-0660
E-mail: bioscience.sales.jp@lonza.com

技術サポート TEL: 03-6264-0663
E-mail: bioscience.technicalsupport.jp@lonza.com

受注・在庫照会 TEL: 03-6264-0620

<http://www.lonzabio.jp>

RES-LF1523C