

MERCK

細胞培養 Mania

2018年4月号

気になる最新の研究トレンドから
気をつけたい基礎知識まで
研究に役立つ情報をお届けします

最新研究トレンド 2 ページ

3D バイオプリンティング
アルツハイマーの三次元培養モデル

注目の試薬・キット紹介 4 ページ

細胞トラッキング色素 LuminiCell Tracker™
「新規の蛍光ナノ粒子による生細胞標識とがん細胞のトラッキング」
細胞増殖アッセイキット

イチオシの製品 6 ページ

人気の細胞株をピックアップ
細胞株のライセンス一覧

基本から学ぶ 細胞培養プロトコール 8 ページ

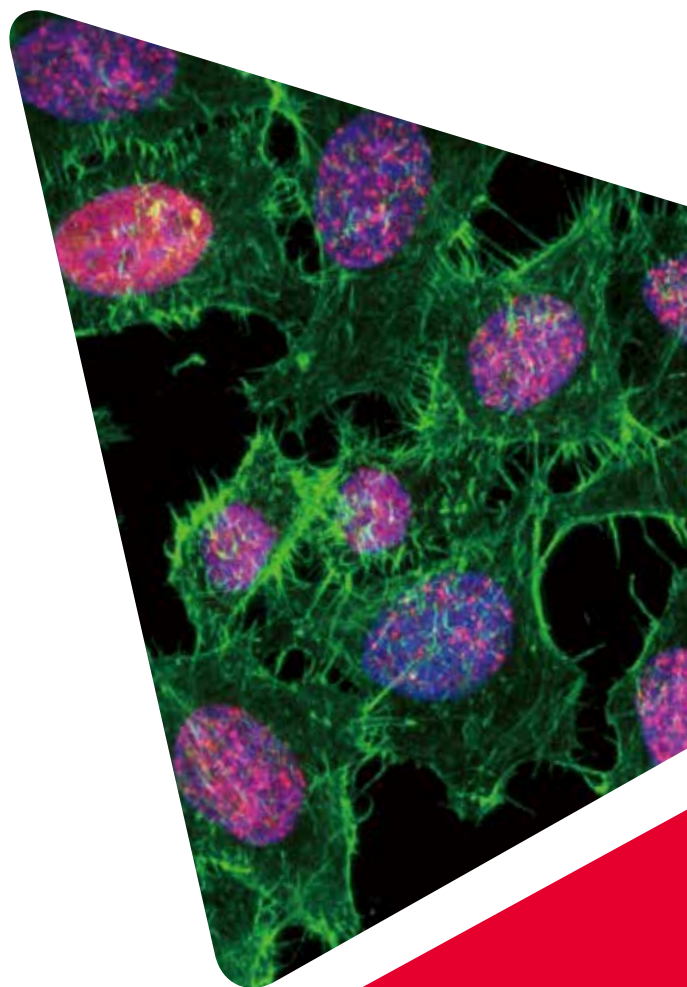
基本操作 Do & Don't
細胞の継代

定番の細胞培養製品 12 ページ

液体培地 よく使われている液体培地を紹介
抗生物質 コンタミが気になる方におススメ
未分化維持のゴールドスタンダード添加剤

NEWS 15 ページ

CRISPR によるヒト iPS 細胞のゲノム編集 CRISPR
「メルクが世界初の特許取得」



Sigma-Aldrich®
CHEMICON®
Calbiochem®
Roche®

The life science
business of Merck
operates as
MilliporeSigma in
the U.S. and Canada.

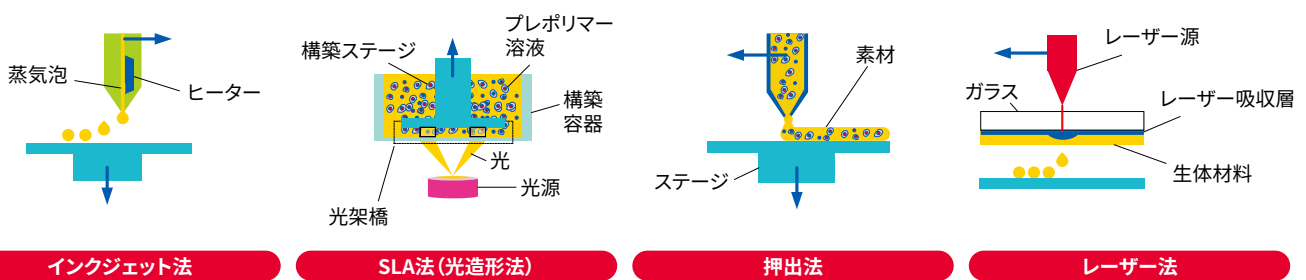
Sigma-Aldrich®
Lab & Production Materials

3D バイオプリンティング

3D プリンティング (三次元プリンティング) 技術としても知られる付加製造技術は、多様な応用の中で急速に成長を続けています。3D 製造技術では、デジタルデータに基づいて厳密に定義、制御された重層プロセスが対象物の製造に使用されます。

3D バイオプリンティングとは、生体適合性材料、細胞、成長因子やその他の材料によって、機能を持った生体組織を生産する生体適合物質のプリント技術です。3D バイオプリンティングによって皮膚、骨、血管移植片や軟骨構造など幾つかの異なるタイプの組織が作られてきました。硬組織および軟組織の両方を形成するために、目的の特性に応じて異なる材料や組成が用いられます。3D バイオプリンティングには幾つかの方法がありますが、使用される材料がセンシティブなため、バイオインクを用いた押出による方法が最も一般的に採用されています。生産方法が制限されるため、現在のアプリケーションは毒物学、創薬および研究用組織モデルに集中しています。

3D バイオプリンティング技術



3D プリンティングの特長

3D プリンティングの重要な特長としては正確な造形、希望する組織タイプに応じたモジュールの形成と拡大、患者特異的なアプリケーションへの対応が挙げられます。アプリケーションや組織タイプに応じて、バイオインクは組成をカスタマイズして目的の構造を作り出すことができます。3D バイオプリンティングに制限があるため、現在は組織モデルにフォーカスされていますが、科学者は器官のプリント形成技術を熱心に追及し続けています。

他の手法より優れた 3D バイオプリンティングの利点

3D バイオプリンティングには類似のテクノロジーを凌駕する多数の利点があります。付加製造法によって複数の特性を持った単一の構造物を異なる材料と組み合わせることで製造することが可能です。異なる材料を用いることに加え、複雑な機能性構造を造るために細胞共培養の空間的な制御をともなう細胞のプリントも可能になるでしょう。デジタルデータに基づいて構造体をプリントするため、医療イメージング技術と組み合わせれば、たとえば患者固有のインプラントを作製でき、正確なオーダーメイド治療につながります。また、3D バイオプリンティングは生産時間の短縮と小規模生産によって、低コストで生産性を向上させます。

製品名	カタログ番号
Polycaprolactone (PLC) , average Mn 45,000*	704105
Poly (L-lactide) (PLLA) , average Mn 50,000*	94829
Sodium Alginate**	W201502
Collagen flexor tendon from bovine**	5162
Gelatin from porcine skin, gel strength 300, Type A**	G2500
Pluronic® F-127 powder, BioReagent, suitable for cell culture***	P2443
Poly (ethylene glycol) diacrylate average Mn 2,000****	701971

* 生分解性のある合成ポリマーが一般的に 3D バイオプリンティングに使用されます。PCL および PLLA は分解可能であることに加えて、骨などのより硬い組織を模倣するためのプリントに使用されます。

** 3D バイオプリンティング用の材料は細胞接着性および増殖を促進するだけでなく、細胞と適合性を有することが必須です。ほとんどの合成材料はこのような特性を有していませんが、天然のポリマーを利用すれば生体の細胞外マトリックス (ECM) に近い成分を模倣し、3D プリントされた構造体中で細胞が成長することも可能になります。

***Pluronic® F-127 は熱可逆性ゲル化特性を持つ独特の材料です。構造の特性から、体温ではゲル状、常温より低い温度で液体になります。この特性によって Pluronic F-127 は、脈管構造を作製するためのバイオインクとして用いられています。プリントされた構造全体を冷却することによって Pluronic F-127 を容易に除去できます。

**** ポリエチレングリコールジアクリレート (PEG ジアクリレート) は、反応性末端基を有する合成ポリマーで、3次元ネットワークを形成するために使用することができます。PEG は毒性および免疫原性がなく、親水性と柔軟性が高いことから、3D バイオプリンティングアプリケーションに最適です。

特設ウェブサイト [SigmaAldrich.com/3Dprinting](https://www.sigmaaldrich.com/3Dprinting)

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

アルツハイマー細胞モデルの培養

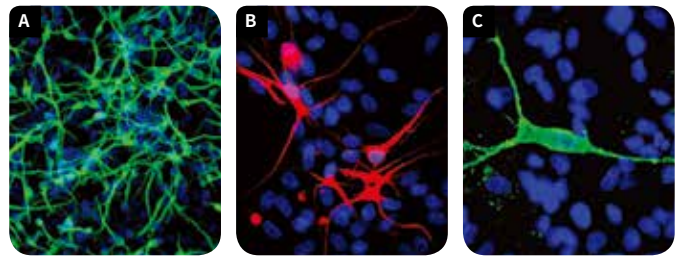
サマリー

細胞培養技術は、研究、創薬または再生医療アプリケーションに寄与する細胞モデルを作り出すことを目指しています。

歴史的に、*in vitro*でのアルツハイマー病 (AD) の細胞モデルは、毒性がある高レベルの可溶性および不溶性アミロイドβ (Aβ) によって真のAD症状を再現できず、課題が多く残されていました。近年、Choi 博士、Kim 博士らはβ-アミロイド前駆体タンパク質およびpresenilin-1を過剰発現させたReNcell® VM ヒト神経幹細胞株を用いてアルツハイマー病のヒト神経幹細胞モデルを作製しました。^{1,2} この細胞モデルでは、神経突起および体細胞でアミロイド-βプラークを含むアミロイド-βの強固な細胞外沈着、高レベルのリン酸化タウを誘導することができ、タウ繊維も検出されました。本モデルを適用することで、より生体の疾患条件に近いAD研究が*in vitro*で実施できると期待されています。

参考文献

1. Choi SH, et al. (2014) A three-dimensional human neural cell culture model of Alzheimer's disease. *Nature* **515**(7526):274-8. PMID: 25307057
2. Kim YH, et al. (2015) A 3D human neural cell culture system for modeling Alzheimer's disease. *Nature Protoc* **10**(7):985-1006. PMID: 26068894



ReNcell NSC 細胞株は多能性があり、神経およびグリア細胞に分化させることができます。

(A) ニューロン (B) アストロサイト (C) オリゴデンドロサイト

製品名	カタログ番号
ReNcell CX Human Neural Progenitor Cell Line	SCC007
ReNcell VM Human Neural Progenitor Cell Line	SCC008
ReNcell NSC Maintenance Media	SCM005
ReNcell Neural Stem Cell Freezing Medium	SCM007
APPSL-GFP Alzheimer's Lentivirus	SCR526
PSEN1-RFP Alzheimer's Lentivirus	SCR527

関連製品

マウス ES 細胞に最適のバリデーション済み試薬

トランスジェニックおよび遺伝子ノックアウト技術は、遺伝子機能を研究するための強力なツールです。トランスジェニックおよびノックアウトマウスを作製するための一般的な方法として、胚盤胞注入または細胞凝集法によって遺伝子改変胚性幹細胞を初期段階のマウス胚に導入する方法が行われます。

弊社は ESGRO/mLIF サプリメント、ESGRO complete、ESGRO-2i 無血清 / フィーダーフリー培地を含む、マウス胚性幹細胞を培養するための幅広いツールと技術を提供しています。また、マウス胚の保存、輸送および培養用のマウス胚培地および MEF フィーダー細胞も取扱っています。マウスモデルを作製するために使用される試薬には EmbryoMAX™ の名称が付けられています。



マウス胚性幹細胞培養に用いられる試薬

製品名	カタログ番号
ESGRO® Leukemia Inhibitory Factor (LIF) , 10 million units/1 mL	ESG1107
Leukemia Inhibitory Factor Protein, Recombinant Human	LIF1010
ESGRO Complete PLUS Clonal Grade Medium, 500 mL	SF001-500P
ESGRO-2i Medium, 200 mL	SF016-200
EmbryoMax® Primary Mouse Embryo Fibroblasts, Strain CF1, Mytomycin C Treated	PMEF-CF
EmbryoMax® Primary Mouse Embryo Fibroblasts, Neo Resistant, Strain FVB	PMEF-N
EmbryoMax® PMEF, Strain DR4, Irradiated	PMEF-DR4X
EmbryoMax® Primary Mouse Embryo Fibroblasts, Hygro Resistant, Not Mytomycin C Treated	PMEF-HL
M2 Mouse Embryo Medium	M7167
M16 Mouse Embryo Medium	M7292
EmbryoMax® FHM HEPES Buffered Mouse Embryo Medium (1X)	MR-122
EmbryoMax® Human Tubal Fluid (HTF) (1X)	MR-070
Mineral Oil, Light Oil (neat) , BioReagent, Suitable for Mouse Embryo Cell Culture	M8410
Mouse Embryo Tested Bovine Serum Albumin	A3311
Hyaluronidase from Bovine Testes	H4272
EmbryoMax® ES Cell Qualified Fetal Bovine Serum, 100 mL	ES-009
EmbryoMax® 0.1% Gelatin Solution	ES-006-B
PluriStem 129/S6 Murine ES Cells	SCR012

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】

<メルク製品> TEL : 03-4531-1140

FAX : 03-5434-4859

Email : bioinfo@merckgroup.com

<シグマ製品> TEL : 03-6756-8245

FAX : 03-6756-8302

Email : sialjpts@sial.com

細胞トラッキング色素 LuminiCell Tracker™

新規の蛍光ナノ粒子による生細胞標識とがん細胞のトラッキング

イントロダクション

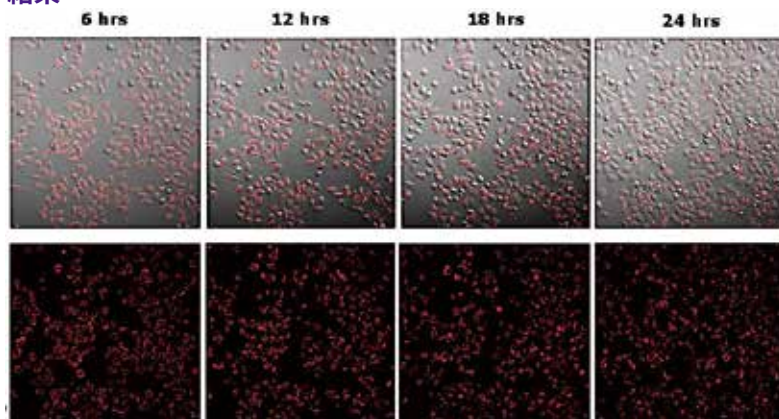
転移はがんによる死亡の主要因です。転移には、局所での腫瘍細胞浸潤、脈管形成、循環器系からの細胞の排出および遠位組織部位でのコロニー形成など多段階のプロセスが関与しています。蛍光プローブによる長期的かつ非侵襲的細胞トラッキングは、ライフサイエンスおよび生物医学工学にとって非常に重要な手法です。現在用いられているがん細胞蛍光標識トラッキング法は、短いシグナル持続時間、高い自家蛍光バックグラウンドや GFP 発現細胞株の作製に時間を要するといった制約があります。我々は Aggregation Induced Emission (AIE) 技術をベースに蛍光シグナル消失に高い耐性のある生体適合性の蛍光ナノ粒子を開発しました。これらの粒子は *in vitro* で最大 10 日間および *in vivo* で最大 21 日間蛍光シグナルを保持し、生細胞の蛍光標識を効率よく行うことができます。AIE は発がんなどの生物学的プロセスを追跡するための蛍光プローブの開発に新しい道を開く技術として期待されています。

AIE 分子は、他の一般的なフルオロフォア (Quantum Dots、GFP など) とは逆の原理で蛍光を發します。プロペラ型の AIE 蛍光原は溶液中では非蛍光性ですが、凝集体形成時には分子内回転制限 (RIR) によって高度な蛍光性を示します。これらの異なる性質によって AIE 分子はシグナル消光を最小限に抑えて高い蛍光強度を有しています。これらの特性は、長時間の生細胞バイオイメージング実験を行うための最適なツールになる可能性があります。

実験方法

- 1) 10% FBS を含む培地で HeLa 細胞を 8 ウェルプレートで 80% コンフルエントになるまで培養します (CO₂ インキュベーター、37°C)。
- 2) LuminiCell Tracker 標識試薬を新しい培地で 2-10 nM の使用濃度に希釈します。
- 3) 希釈した 0.2-0.4 mL の標識用試薬を培養した細胞の各ウェルに添加し、37°C で約 1 ~ 4 時間インキュベートします。
- 4) 新しい培地で 2 回細胞を洗浄します。
- 5) 蛍光顕微鏡またはフローサイトメーターで標識した細胞を観察します。

結果



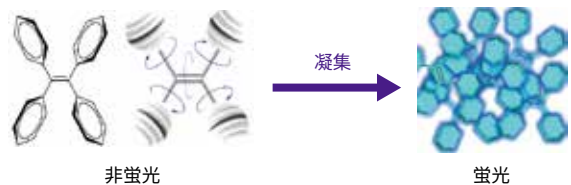
LuminiCellTracker 670 色素は 24 時間以上蛍光が維持され HeLa 細胞に毒性を示しません。

サマリー

胚発生、癌転移、幹細胞治療、およびリンパ球免疫学などの研究分野にとって、単一細胞の移動をリアルタイムでイメージングすることは重要な手法です。無機の Quantum Dot ベースの直接細胞標識試薬の欠点を克服するために、LuminiCell Tracker は高い量子収率、明るい FR/NIR 発光、低細胞傷害性を有する光安定性有機蛍光ドットとして開発されました。これは長期間の細胞トラッキングを可能にする新規のプローブです。

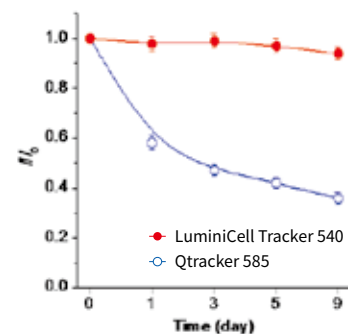
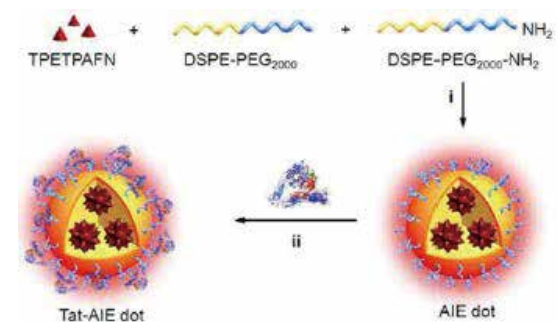
製品名	カタログ番号
LuminiCell Tracker™ 540- Cell Labeling Kit	SCT010
LuminiCell Tracker™ 670- Cell Labeling Kit	SCT011
LuminiCell Tracker™ 540- Vascular Labeling Kit	SCT012
LuminiCell Tracker™ 670- Vascular Labeling Kit	SCT013

AIE 蛍光原理



LuminiCell Tracker 色素の構造

- i) TPETPAFN と DSPE-PEG₂₀₀₀、DSPE-PEG₂₀₀₀-NH₂ によって AIE 粒子が形成
- ii) AIE 粒子に細胞透過性のある TAT 配列が結合し、Tat-AIE 粒子 (LuminiCell Tracker 色素) が形成



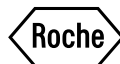
LuminiCell Tracker 色素で標識した HeLa 細胞は 9 日間以上にわたり退色が見られません。赤は LuminiCell Tracker、青は Quantum Dot を示しています。

メルク LuminiCell Tracker

検索

細胞増殖アッセイ

BrdU を用いたロシュ社の細胞増殖測定キット

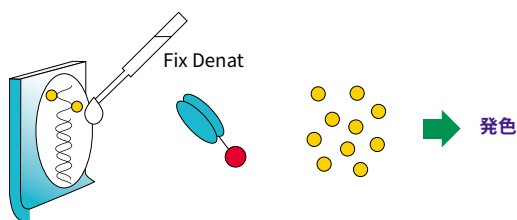


BrdU 法は細胞内で DNA 複製時に取り込まれる BrdU の量を測定することによって、細胞増殖の検出および定量に利用されています。細胞に取り込まれた BrdU は抗 BrdU 抗体を用いて、ELISA による定量や、免疫染色により検出することができます。ロシュ社の細胞増殖測定キットは、長年にわたり多くの研究者に選ばれている細胞アッセイのゴールドスタンダード製品です。

ELISA による BrdU 検出キット

96 ウェルプレート中で培養した接着細胞または浮遊細胞を BrdU で処理し、POD 標識抗 BrdU 抗体を反応後、基質によって発色または発光させて ELISA プレートリーダーで測定します。

原理 (ELISA, BrdU 発色キット 11 647 229 001)



BrdU を取り込ま
せた細胞を固定
POD 標識抗 BrdU
抗体を反応
POD 検出基質
(TMB)を反応
プレートリーダー
で測定

ロングセラーのアッセイキット

ELISA による BrdU 検出キットによる実験のフロー

Step	細胞増殖 ELISA BrdU 発色キット	細胞増殖 ELISA BrdU 化学発光キット	BrdU ラベリング & ディテクション キット III
細胞の培養	●	●	●
BrdU による細胞の標識	●	●	●
細胞の固定	●	●	●
ヌクレアーゼ処理 ※	—	—	●
POD 標識抗 BrdU 抗体反応	●	●	●
基質反応	●	●	●
	TMB	化学発光基質	ABTS
測定 (ELISA リーダー)	●	●	●
	ELISA リーダー	ルミノメーター	ELISA リーダー

※ ヌクレアーゼ処理により部分的に DNA が変性され、抗体が BrdU と接触しやすくなります。

製品名	カタログ番号	内容量
細胞増殖 ELISA, BrdU 発色キット	11 647 229 001	1000 回
細胞増殖 ELISA, BrdU 化学発光キット	11 669 915 001	1000 回
BrdU ラベリング and ディテクションキット III	11 444 611 001	1000 回

免疫染色による BrdU 検出キット

培養細胞や組織片を BrdU で処理し、抗 BrdU 抗体を用いた免疫染色 (免疫化学または蛍光染色) によって検出します。二次抗体を用いる間接検出法と蛍光標識した抗 BrdU 抗体による直接検出法のキットをご用意しています。

In Situ 細胞増殖キット 蛍光

蛍光標識抗 BrdU 抗体を利用し免疫蛍光染色による観察または、フローサイトメトリーで分析することができるキットです。二次抗体が不要なため、内在性 IgG との交差がなく低バックグラウンドが期待できます。

BrdU ラベリング and ディテクションキット I

二次抗体として蛍光標識抗マウス Ig 抗体を使用し、免疫蛍光法により検出するキットです。

BrdU ラベリング and ディテクションキット II

二次抗体として AP 標識抗マウス Ig 抗体を使用し、免疫細胞 / 組織化学的方法により検出するキットです。

製品名	カタログ番号	内容量
In Situ 細胞増殖キット, 蛍光	11 810 740 001	100 回
BrdU ラベリング and ディテクションキット I	11 296 736 001	100 回
BrdU ラベリング and ディテクションキット II	11 299 964 001	100 回

抗 BrdU 抗体

BrdU の検出用に標識した抗 BrdU 抗体を単品でもお取り扱いしています。

製品名	カタログ番号	内容量
抗プロモデオキシウリジン (BrdU) 抗体 未標識	11 170 376 001	50 µg
フルオレセイン標識抗プロモデオキシウリジン (BrdU) 抗体	11 202 693 001	50 µg
フルオレセイン標識抗プロモデオキシウリジン (BrdU) 抗体, Fab フラグメント	11 585 860 001	15 unit

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】

<メルク製品> TEL: 03-4531-1140
<シグマ製品> TEL: 03-6756-8245

FAX: 03-5434-4859
FAX: 03-6756-8302

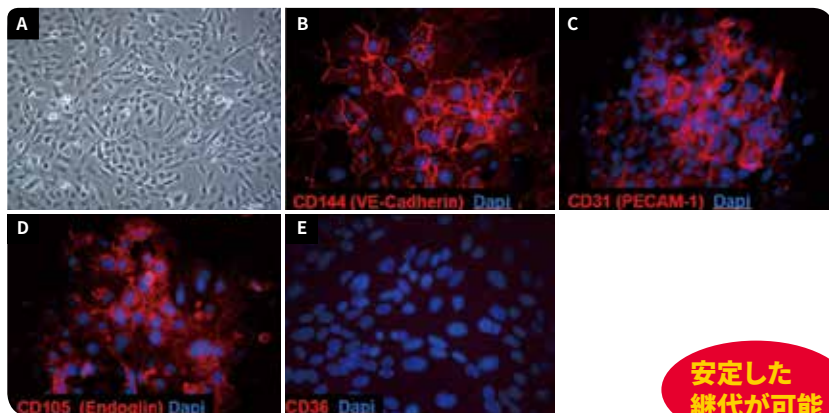
Email: bioinfo@merckgroup.com
Email: sialjpts@sial.com

シグマ 細胞アプリケーション

検索

人気の細胞株をピックアップ

ヒト血液脳関門細胞株 (BBB 細胞株)



■ 特長

- hTERT および SV40 Large T 抗原で不死化された血液脳関門細胞株。
- 生体内の血液脳関門細胞に近い表現型を保持し、多くの論文実績を保有。
- 中枢神経系の薬剤輸送や病理研究に利用可能。

仕様

由来(種)	ヒト側頭葉毛細血管
細胞タイプ	BBB (血液脳関門)
分化能	—
安定継代回数	10 回

安定した
継代が可能

- (A) 播種後 48 時間経過後の hCMEC/D3 の明視野像。
 (B) - (D) hCMEC/D3 に発現する代表的なマーカーの免疫染色像 (赤)。核は DAPI により対比染色 (青)。
 (E) CD36 は hCMEC/D3 が発現しないマーカーである (赤)。核は DAPI により対比染色 (青)。

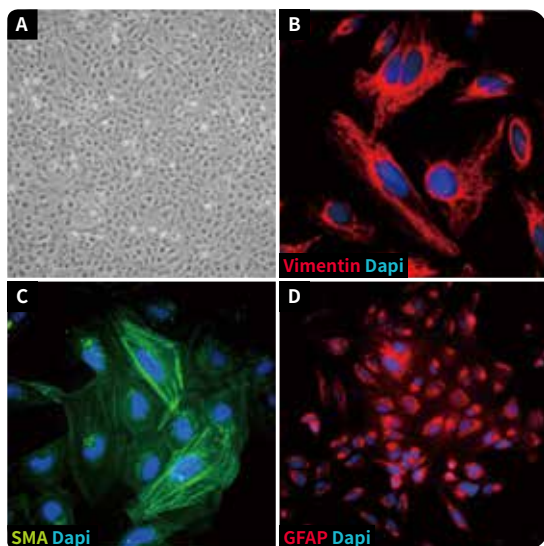
1. Duperray A, *et al.* (2015) Inflammatory response of endothelial cells to a human endogenous retrovirus associated with multiple sclerosis is mediated by TLR4. *Int Immunol* **27** (11):545–553. PMID: 25957268
2. Ilina P, *et al.* (2015) Effect of differentiation on endocytic profiles of endothelial and epithelial cell culture models. *Exp Cell Res* **332** (1):89–101. PMID: 25597427
3. Weksler B, *et al.* (2013) The hCMEC/D3 cell line as a model of the human blood brain barrier. *Fluids Barriers CNS* **10** (1):16. PMID: 23531482

ライセンスフリー

論文実績多数

製品名	カタログ番号	包装単位
ヒト血液脳関門細胞株 (BBB 細胞) Blood-Brain Barrier hCMEC/D3 Cell Line	SCC066	≥ 1X10 ⁶ cells/vial

かんほしさいぼうかぶ ヒト肝星細胞株



■ 特長

- 初代細胞を SV40 抗原により不死化したヒト肝星細胞株。
- 均一なヒト肝星細胞が実験の再現性と安定性を向上。
- サイトカインへの応答性、神経性遺伝子の発現、レチノイン酸代謝等ヒト肝星細胞に特徴的な表現型の保持を確認済み。

仕様

由来(種)	ヒト肝臓
細胞タイプ	肝星細胞
分化能	—
安定継代回数	10 回

安定した
継代が可能

成分	カタログ番号	最終濃度
DMEM 高グルコース (4500 mg/L glucose, L-glutamine, sodium bicarbonate 含有)	D5796	
FBS ^{※1}	F7524	2%
ペニシリン・ストレプトマイシン×100 溶液 ^{※2}	P4333	1%

- ※1 細胞を融解する場合は FBS を 10%
 ※2 オプション

- (A) 播種 72 時間後の LX-2 細胞の明視野像。
 (B) - (D) LX2 細胞に発現する各種マーカーの免疫染色像。
 B : Vimentin (赤)、C: SMA (緑)、D: GFAP (赤)。核は DAPI により共染色。

製品名	カタログ番号	包装単位
ヒト肝星細胞株 LX-2 Human Hepatic Stellate Cell Line	SCC064	≥ 1X10 ⁶ cells/vial

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】

<メルク製品> TEL : 03-4531-1140 FAX : 03-5434-4859 Email : bioinfo@merckgroup.com
 <シグマ製品> TEL : 03-6756-8245 FAX : 03-6756-8302 Email : sialjpts@sial.com

細胞株のライセンス一覧

シグマ アルドリッチは表現型が安定している株化幹細胞や株化分化細胞を多数扱っています。ライセンス契約が不要な細胞株もございますので、お気軽にご購入いただけます。

ライセンスフリーの細胞株

下表の細胞株は企業を含めすべてのお客様について試験研究用途の場合、ライセンス契約は不要です。ただし、営利目的の場合はライセンス契約が必要になります。(注記)

製品名	カタログ番号	製品名	カタログ番号
hCMEC/D3 ヒト血液脳関門細胞株 (BBB 細胞株)	SCC066	N27 ラットドーパミン産生神経細胞株	SCC048
ヒト間葉系幹細胞 (ヒト ES 細胞由来)	SCC036	GT1-7 マウス視床下部 GnRH 神経細胞株	SCC116
ヒト間葉系幹細胞 (骨髄由来)	SCC034	ImKC マウス不死化クッパー細胞株	SCC119
ヒト間葉系幹細胞 (脂肪組織由来)	SCC038	C3H/HeN マウス ES 細胞	SCC055
ヒト神経前駆細胞株 (iPS 細胞由来)	SCC035	C57BL/6N マウス ES 細胞	SCC050
ENStem-A ヒト神経前駆細胞株	SCC003	DBA/2N マウス ES 細胞	SCC054
ヒストン H2B-GFP 発現 HeLa 細胞	SCC117	R-Spondin1 発現 293T 細胞株	SCC111
ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)	SCCE001	IMG マウスミクログリア細胞株 (小膠細胞株)	SCC134
ヒト角膜上皮細胞	SCCE016	HT-22 マウス海馬ニューロン細胞株	SCC129
ヒト繊維芽細胞 (マイトマイシン C 処理済み)	SCC057		
ヒト繊維芽細胞	SCC058		

ライセンス契約	使用目的	
	基礎研究	営利目的
大学など非営利研究機関	不要	必要
企業など	不要	必要

大学など非営利研究機関のお客様はライセンスフリーの細胞株

大学など非営利の研究機関のお客様は試験研究用途の場合、ライセンス契約が不要です。ただし、営利目的の場合はライセンス契約が必要になります。企業など営利団体にご所属のお客様は、ご購入前のライセンス契約が必須です。(注記)

製品名	カタログ番号	製品名	カタログ番号
LX-2 ヒト肝星細胞株	SCC064	HAPI ラット ミクログリア細胞株	SCC103
AC16 ヒト心筋細胞株	SCC109	HL-1 マウス心筋細胞株	SCC065
C20A4 ヒト軟骨細胞株	SCC041	HSC-T6 ラット肝星状細胞株	SCC069
C28/I2 ヒト軟骨細胞株	SCC043	O9-1 マウス頭部神経堤 (冠) 細胞株	SCC049
CWR-R1ca ヒト前立腺がん細胞株	SCC118	DC2.4 マウス樹状細胞株	SCC142
E006AA ヒト前立腺がん細胞株	SCC102		
FLAG-SNAP-hTERT 発現 HeLa 細胞株	SCC112		
HMC-1.1 ヒト脂肪細胞株	SCC067		
HMC-1.2 ヒト脂肪細胞株	SCC062		
MCF-7/S0.5 ヒト乳がん細胞株	SCC100		
MCF-7/TAMR-1 ヒト乳がん細胞株	SCC101		
PPT2 ヒト前立腺がん細胞株	SCC104		
TC28a2 ヒト軟骨細胞株	SCC042		
CCMCL1 ヒトマントル細胞リンパ腫細胞株	SCC132		
PMC42-LA ヒト乳がん細胞株	SCC139		
SF7761 ヒト DIPG H3.3-K27M 細胞株	SCC126		
SF8628 ヒト DIPG H3.3-K27M 細胞株	SCC127		
ヒト骨肉腫 3AB-OS 癌幹細胞株	SCC141		

ライセンス契約	使用目的	
	基礎研究	営利目的
大学など非営利研究機関	不要	必要
企業など	必要	必要

営利団体のお客様は試用期間後ライセンスが必要になる細胞株

大学など非営利研究機関のお客様は試験研究用途の場合ライセンス契約は必要ありません。ただし営利目的の場合はライセンス契約が必要になります。企業のお客様は試用期間 6 ヶ月で試用期間以降はライセンス契約が必要になります。(注記)

製品名	カタログ番号	ライセンス契約	使用目的	
			基礎研究	営利目的
ReNcell CX 不死化ヒト神経前駆細胞株	SCC007			
ReNcell CX 不死化細胞キット	SCC009			
ReNcell VM 不死化ヒト神経前駆細胞株	SCC008			
ReNcell VM 不死化細胞キット	SCC010			

ライセンス契約	使用目的	
	基礎研究	営利目的
大学など非営利研究機関	不要	試用期間 6 ヶ月 (終了後に必要)
企業など	不要	試用期間 6 ヶ月 (終了後に必要)

(注記) 本カタログに記載されているすべての細胞株は試験・研究用です。治療や診断、製造を目的とした用途にはご使用いただけません。

基本から学ぶ細胞培養プロトコール

基本操作

細胞培養には基本的にやるべきこととやってはいけないことがあります。

個人用保護具 (PPE) の使用など、義務付けられているものもあります。ほとんどは常識ともいえるもので、すべての研究領域に適用されますが、一部は細胞培養に特有のものです。

幾つかの必須事項を覚えてこれからの細胞培養に役立ててください。

Do's ~ やること ~

1.	実験室では必ず自分を保護するための安全基準を守りましょう。PPE (白衣、ラボ手袋、保護めがね) は必須です。特に液体窒素を扱うときなどは専用の断熱手袋、フルフェイスバイザー、防沫エプロン、手袋等を使用するなど、各研究室のルールを守りましょう。
2.	長い髪の毛等は結んだり、キャップ等をかぶり髪の毛に抛るコンタミネーション (コンタミ) に気をつけましょう。
3.	空気中の雑菌等を避けるためにも通常の実験と組織培養用の白衣、履物は別にし、培養室の環境にコンタミさせないようにしましょう。色違いの上着や白衣を使用すると区別が容易になります。
4.	クリーンベンチの周りや作業台など細胞を取り扱う場所の周りは常に清潔にしましょう。
5.	試薬、フラスコ、培地など、使用中身が全て明確になるようにラベルやシグマラボマーカ (カタログ番号 S5894) などで日付、中身を記載しましょう。
6.	一度に 1 種類の細胞株だけを扱きましょう。これは常識的な注意点で、クロスコンタミネーションや誤ったラベリングの可能性を低くすることができます。さらに、もしクリーンベンチ内でエアロゾルによる細菌やマイコプラズマの拡散が起きた場合に、影響を受けるボトルやフラスコが少なくなります。
7.	操作の間には作業面を適切な消毒剤 (70% エタノールなど) で消毒し、異なる細胞株を取り扱う際には 15 分以上の間隔を置きましょう。
8.	培養中は、各細胞株の培地ボトル同士を可能な限り離して置きましょう。
9.	細菌やカビによるコンタミの兆候がないか、培養培地を毎日点検しましょう。市販の培地を購入した場合もこの点検は必ず行いましょう。
10.	使用する培地や試薬は使用する前に必ず品質をチェックしましょう。
11.	細胞培養を行っている区域に、段ボールなどの包装をなるべく置かないようにしましょう。
12.	インキュベーター、クリーンベンチ、遠心分離機や顕微鏡などは定期的にチェック、洗浄し清潔に保ちましょう。
13.	細胞のマイコプラズマ感染の検査は定期的 to 実施しましょう。

滅菌と消毒について

細胞に接する培養器や培養器具、培地などは微生物のコンタミを防ぐためにすべて無菌的である必要があります。よって使用する全ての物は滅菌、もしくは消毒しなければなりません。一般的に消毒に使用されるアルコールの有効濃度はエタノールは 70%、イソプロパノールは 60 ~ 70% 程度、脱水と固化により消毒を行います。エタノールはほとんどのウイルスに有効 (被膜がないウイルスには不適) ですが、イソプロパノールはウイルスには有効ではありません。滅菌は主に三種類あり、オートクレーブ滅菌、乾熱滅菌、ろ過滅菌が代表的な方法です。

Don't ~ やってはいけないこと ~

1.	培地中に抗生物質を連続して添加するのは出来るだけ避けましょう。抗生物質耐性菌が発生しやすくなり、コンタミが見分けにくくなります。
2.	インキュベーター ¹ やクリーンベンチ ² 内に廃棄物を残さないようにしましょう。廃棄物は毎回処理しましょう。
3.	空気中の雑菌を避けるためにも一度に多くの人数が実験室に入らないようにしましょう。
4.	出所が定かでない細胞は、メインの細胞培養室内では取り扱わないでください。これらの細胞は、品質管理チェックが終了するまで隔離して取り扱いましょう。
5.	凍結保存をせずに細胞株を長期に連続培養することは避けましょう。
6.	細胞培養を 100% コンフルエント ³ にすることは避けましょう。常に 70 ~ 80% コンフルエントにするか、または ECACC のデータベースや細胞の購入元情報にのっとり細胞密度で培養しましょう。
7.	使用期限の切れた培地を使用することはやめましょう。培地の使用期間は通常 4 ~ 6 ヶ月 (4℃保存、グルタミン、血清含有の場合) 程度です。
8.	ウォーターバス ⁴ を SigmaClean™ (カタログ番号 S5525) などで定期的に洗浄しましょう。
9.	培養に必要な機器の定期的なチェックを欠かさないようにしましょう。クリーンベンチは必ず定期的に点検しましょう。

用語の解説

- ¹ インキュベーター : 培養している細胞を適切な温度条件にするための恒温装置。多くの培地は炭酸バッファーを使用しているため CO₂ インキュベーターが一般的。
- ² クリーンベンチ : 細胞を扱うために、微生物を捕えるフィルターを通した空気を循環させる無菌作業台のこと。
- ³ コンフルエント : 細胞が培養器面を覆っている状態。
- ⁴ ウォーターバス : 培地を温める、もしくは凍結した細胞を溶かすのに使用する温度調節器。

細胞の継代

接着性細胞の継代

接着性の細胞は *in vitro* で培養容器の表面が細胞で覆われるまで、もしくは培地の栄養分が足りなくなるまで成長します。この時点よりも前までに細胞は継代したほうが良いでしょう。細胞を継代するためにはまず細胞懸濁液に調製します。細胞の接着度はそれぞれの細胞株によって異なりますが、大体の場合フラスコから細胞を剥がす際にはトリプシンなどのプロテアーゼが使用されます。細胞株によってはプロテアーゼが影響したり、酵素が興味のある膜マーカ―やレセプタータンパクなどを消化してしまう場合があるので、全ての細胞株に適切とはいえません。このような場合はセルスクレイパーなどで物理的に細胞を剥がし、少量の培地に加え懸濁液を作製するという方法もあります。

細胞の状態を確認する

ディッシュまたはフラスコ内の培地を吸引する

PBS (-) で洗う (必要に応じて数回)

トリプシン -EDTA 溶液を添加する

2 ~ 10 分間インキュベート

細胞の状態を確認する

新しい培地を加えて細胞を懸濁する

培地を入れたディッシュまたはフラスコに撒く

インキュベーターに入れる

培地は 37°C に温めておきます



培地を吸い取る時は少し傾けて液の一番深い所から吸い取りましょう。なるべくディッシュ・フラスコの側面に近い所から吸い取る方が良いでしょう

よく使われている試薬と器具	カタログ番号	製品情報
エタノール	09-0770	蒸留水で 70% に希釈して使用します
PBS (Ca ²⁺ および Mg ²⁺ 不含)	D8537	そのまま使用できる便利な 1x 溶液です
トリプシン -EDTA 溶液	T4049	そのまま使用できる便利な 1x 溶液です (トリプシン 0.25%、EDTA 0.02%)
血球計算盤	Z359629	カバーガラスが 2 枚付属しています

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】

<メルク製品> TEL : 03-4531-1140 FAX : 03-5434-4859 Email : bioinfo@merckgroup.com
<シグマ製品> TEL : 03-6756-8245 FAX : 03-6756-8302 Email : sialjpts@sial.com

接着性細胞の継代手順

- 1 顕微鏡で細胞の状態（バクテリアやカビなどのコンタミがないか）とコンフルエントの状態（何%くらいコンフルエントの状態になっているか）を観察します。
- 2 アスピレータのスイッチを入れ、駒込ピペットで培養容器内の培地を吸い取って捨てます。
- 3 培養に使用する量の約半量の PBS (-) (Ca²⁺/Mg²⁺ 不含 PBS) で細胞を洗います。強固に接着している細胞は何回か繰り返します。
- 4 25 cm² の細胞表面に対し 1 mL のトリプシン -EDTA 溶液で洗います。細胞表面を満遍なくトリプシンがいきわたるようにフラスコをゆっくり回転してください。余分なトリプシンを捨てます。
- 5 培養容器をインキュベーターに戻し、2～10 分ほどおきます。
- 6 顕微鏡で細胞を観察し、細胞が浮き上がってきているのを確認します。必要があれば、培養容器の側面をそっと指でたたき張り付いている細胞を浮き上がらせます。
- 7 少量の血清の入った培地で細胞を再懸濁させトリプシンを不活性化します。懸濁液から 100 - 200 μL 程を取り、細胞をカウントします。
注意：無血清培地を使用している場合はトリプシンが不活性化されないため、トリプシンインヒビターを用いてトリプシンを不活性化してください。
- 8 温めた培地を入れた、新しくラベルした培養容器に必要な量の細胞を移します (ECACC のデータベースや細胞の購入元情報に従ってください)。
- 9 データシートに記載された適切な条件で細胞をインキュベートしてください。
- 10 細胞の成長状況に応じて上記の手順を繰り返し継代してください。

ポイント

- 1 幾つかの細胞株は成長度合いによって、表面にうっすらと接着する場合があります。培養容器内の状態を常に確認し、細胞が成長初期の段階で剥離してしまわないように注意しましょう。
- 2 トリプシン単体で細胞がはがれない場合は EDTA を加えてください。
- 3 トリプシンは血清の存在下では活性を示しません。そのため、培地に含まれているトリプシンを除去するために細胞表面を PBS (-)¹ で洗い流すのはとても重要です。
- 4 細胞にトリプシン -EDTA² を使用する際、細胞を剥離させる最小限の時間でとどめてください。長時間の暴露は細胞表面レセプターを傷つける恐れがあります。
- 5 細胞を新しくフラスコに播く前にトリプシンを必ず血清で中和させてください。残存トリプシンは細胞接着を阻害します。
- 6 トリプシンは血清で中和させる以外に（大豆由来などの）トリプシンインヒビターで中和させる方法もあります。その場合は、中和させる懸濁液と等量のトリプシンインヒビター（濃度 1 mg/mL）を加えてください。加えた液を遠心させて上清を捨て、新しい培地で再懸濁してください。この手順は無血清培地で培養する方法に効果的です。
- 7 もし CO₂ インキュベーターが使用できない場合は、新しい培地の pH 調製のために 0.2 μm フィルターでろ過した 5% CO₂ 含有のエアで 1～2 分間ガス交換してください。
- 8 もし採れた細胞が新しく播く予定のフラスコの細胞密度に足りない場合、150 × g で 5 分間ほど遠心させ、少量の培地で再懸濁させましょう。

用語の解説

¹ PBS (-) : カルシウム、マグネシウムの二価イオンを含まないリン酸緩衝生理食塩水。DPBS (ダルベッコ PBS) とも呼ばれる。

² トリプシン -EDTA : タンパク質による細胞間接着をトリプシンで切断し、カルシウムを介した結合を EDTA で壊すことによって細胞をバラバラにする。

液体培地

定番の
細胞培養製品

細胞培養において35年以上の歴史があるシグマ アルドリッチ製品は世界中で多くの研究者の方々にご利用いただいています。多様なニーズに応えるため多数の液体培地をご用意しており、今回は特によく使用されている液体培地をピックアップして紹介いたします。適切な培地を選択する際にご活用ください。

DMEM (ダルベッコ改変イーグル培地 Dulbecco's Modified Eagle's Medium)

DMEM 高グルコース (4.5 g/L)

カタログ番号	容量	炭酸水素ナトリウム	L-グルタミン	フェノールレッド	ピルビン酸ナトリウム	HEPES	製品情報
D5796-500ML	500mL	●	●	●	—	—	基本的な成分がすべて含まれた高グルコース DMEM 液体培地。
D6429-500ML	500mL	●	●	●	●	—	基本的な組成に栄養素としてピルビン酸が添加されています。
D0819-500ML	500mL	●	Ala-Glu	●	—	—	L-グルタミンより安定性の高いL-アラニル-L-グルタミンジペプチド (Ala-Glu) が使用されています。
D6546-500ML	500mL	●	—	●	●	—	使用時に 0.584 g/L の L-グルタミンを添加してください。
D6171-500ML	500mL	●	—	●	—	●	HEPES 改変型。使用時に 0.584 g/L の L-グルタミンを添加してください。
D5671-500ML	500mL	●	—	●	—	—	使用時に 0.584 g/L の L-グルタミンを添加してください。
D1145-500ML	500mL	●	—	—	—	—	使用時に 0.584 g/L の L-グルタミンを添加してください。

DMEM 低グルコース (1.0 g/L)

カタログ番号	容量	炭酸水素ナトリウム	L-グルタミン	フェノールレッド	ピルビン酸ナトリウム	HEPES	製品情報
D6046-500ML	500mL	●	●	●	●	—	基本的な成分がすべて含まれた低グルコース DMEM 液体培地。
D5546-500ML	500mL	●	—	●	●	—	使用時に 0.584 g/L の L-グルタミンを添加してください。
D5921-500ML	500mL	●	—	—	—	—	使用時に 0.584 g/L の L-グルタミンを添加してください。

RPMI-1640 (RPMI-1640 Medium)

カタログ番号	容量	炭酸水素ナトリウム	L-グルタミン	フェノールレッド	ピルビン酸ナトリウム	HEPES	製品情報
R8758-500ML	500mL	●	●	●	—	—	基本的な成分がすべて含まれた RPMI-1640 液体培地。
R0883-500ML	500mL	●	—	●	—	—	使用時に 0.3 g/L の L-グルタミンを添加してください。
R7509-500ML	500mL	●	—	—	—	—	使用時に 0.3 g/L の L-グルタミンを添加してください。
R5886-500ML	500mL	●	—	●	—	●	HEPES 改変型。使用時に 0.3 g/L の L-グルタミンを添加してください。
R7388-500ML	500mL	—	●	●	—	●	HEPES 改変型。使用時に 2 g/L の炭酸水素ナトリウムを添加してください。

よく使われています

液体培地	カタログ番号
DMEM 高グルコース	D5796-500ML
DMEM 低グルコース	D6046-500ML
RPMI-1640	R8758-500ML

シグマ 培地

検索

液体培地の一般的な使い方

一般的な細胞培養には液体培地に対して 1/10 量の FBS (ウシ胎児血清) を添加して使用されます。また、細胞のエネルギー源として必須のアミノ酸のひとつ L-グルタミンは 37°C の溶液中で安定性が低い性質があります。そのため、もともと L-グルタミンが入っていない液体培地を用意し、使用時に L-グルタミン溶液を添加するという方法も行われます。基本的な成分がすべて含まれた液体培地は、FBS を添加するだけで一般的な細胞培養を行うことができます。L-グルタミンや炭酸水素ナトリウムなどが含まれていない液体培地を用いる場合は、それらの成分を添加して細胞培養を行います。各培地の製品情報をご参照いただくか、目的の細胞に適した条件をお調べいただき、適切な量を添加して下さい。



L-グルタミン不含の液体培地には、一般的に下表に示した量の L-グルタミンを添加して使われています。

L-グルタミン添加量の目安

基礎培地	L-グルタミン 200 mM 溶液 (カタログ番号 G7513) の添加量
DMEM	20.0 mL/L
MEM	10.0 mL/L
RPMI 1640	10.25 mL/L

販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

抗生物質

すべて細胞培養テスト済みです。安心して培地に添加してお使いいただけます。

定番の
細胞培養製品

複数の成分を混合した便利な溶液タイプの抗生物質

ペニシリン - ストレプトマイシン溶液 (PS 溶液)

ペニシリン 10,000 units/mL とストレプトマイシン 10 mg/mL が含まれ、グラム陽性菌およびグラム陰性菌に有効です。一般的に培地に対して 1/100 量使用します。

コンタミが
気になる方
に最適

製品名	カタログ番号	製品情報	推奨使用濃度
Penicillin-Streptomycin Solution	P0781	0.9% 塩化ナトリウム溶液、フィルター滅菌済み	10 mL/L
Penicillin-Streptomycin, Solution stabilized	P4333	安定性の高い溶液 (クエン酸バッファー)、フィルター滅菌済み	10 mL/L

L- グルタミン - ペニシリン - ストレプトマイシン溶液 (L- グルタミン入り PS 溶液)

L- グルタミン 200 mM、ペニシリン 10,000 units/mL とストレプトマイシン 10 mg/mL が含まれ、グラム陽性菌およびグラム陰性菌に有効です。一般的に培地に対して 1/100 量使用します。

製品名	カタログ番号	製品情報	推奨使用濃度
L-Glutamine-penicillin-streptomycin solution	G1146	0.9% 塩化ナトリウム溶液、フィルター滅菌済み	10 mL/L

抗生物質 - 抗真菌剤 グラム陽性菌・陰性菌、酵母・カビに有効

ペニシリン 10,000 units/mL、ストレプトマイシン 10 mg/mL、アンホテリシン B 25 µg/mL が含まれ、グラム陽性菌やグラム陰性菌、酵母、カビに有効です。一般的に培地に対して 1/100 量使用します。

製品名	カタログ番号	製品情報	推奨使用濃度
Antibiotic Antimycotic Solution (100 ×)	A5955	100x 濃度溶液、フィルター滅菌済み	10 mL/L

細胞培養によく用いられる抗生物質

名称	作用機序	有効菌種	製品名	カタログ番号	製品情報	推奨使用濃度
アンホテリシン B	細胞膜透過性の阻害	酵母、カビ	Amphotericin B solution	A2942	250 µg/mL 水溶液。フィルター滅菌済み	10 mL/L
カナマイシン	細菌の 30S サブユニットと強く結合して、タンパク質合成を阻害	グラム陽性菌・陰性菌	Kanamycin solution	K0254	50 mg/mL 溶液 (0.9% 塩化ナトリウム溶液)。フィルター滅菌済み	2 mL/L
ゲンタマイシン	リボソームの 30S サブユニットに結合して細菌のタンパク質合成を阻害	グラム陽性菌・陰性菌	Gentamicin sulfate salt	G1264	粉末	50 mg/L
			Gentamicin solution	G1272	10 mg/mL 水溶液。フィルター滅菌済み	5 mL/L
ペニシリン	細菌の細胞膜合成を阻害	グラム陽性菌	Penicillin G potassium salt	P7794	粉末	100,000 U/L
			Penicillin G sodium salt	P3032	粉末	100,000 U/L
ストレプトマイシン	30S リボソームサブユニットの S12 タンパク質に結合してタンパク質合成を阻害	グラム陽性菌・陰性菌	Streptomycin sulfate salt	S9137	粉末	100 mg/L

遺伝子導入した細胞のセクション用抗生物質

名称	作用機序	用途	製品名	カタログ番号	製品情報	推奨使用濃度
ピューロマイシン	タンパク質合成の阻害	ピューロマイシン耐性遺伝子 (pac) を導入した細胞のセクション	Puromycin dihydrochloride	P8833	粉末	1-10 µg/mL
			Puromycin dihydrochloride	P9620	水溶液 (10 mg/mL)	
G418 (ジェネティシン [®])	アミノグリコシド系抗生物質	ネオマイシン (neo) 耐性遺伝子を導入した細胞のセクション	G418 disulfate salt	A1720	粉末	100-800 µg/mL
			G418 disulfate salt solution	G8168	水溶液 (50 mg/mL)	

【製品の技術的なお問い合わせ (テクニカルサービス)】

<メルク製品> TEL : 03-4531-1140

FAX : 03-5434-4859

Email : bioinfo@merckgroup.com

<シグマ製品> TEL : 03-6756-8245

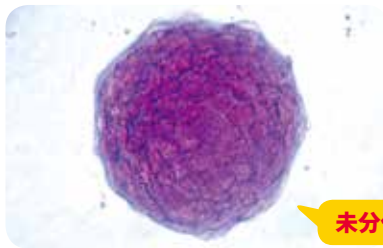
FAX : 03-6756-8302

Email : sialjpts@sial.com

マウス ES/iPS 細胞 未分化維持のゴールドスタンダード添加剤

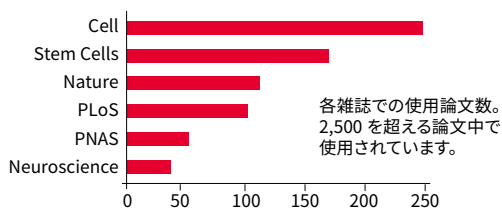
定番の
細胞培養製品

ESGRO® バリデーション済み LIF



未分化維持

1,000 Units/mL の ESGRO LIF を含む培地で 5 日間培養したマウス ES 細胞のアルカリフォスファターゼ染色像。ムラのない染色像からコロニーが均一の未分化細胞により構成されていることが分かる。



■ 特長

全ロットが同じ生理活性を持つようにバリデーション済み。2,500 報以上の実績を持つ、マウス ES/iPS 細胞の培養用の標準添加剤。トランスジェニックマウス作製への応用も実績多数。

※ M1 アッセイならびにマウス ES 細胞培養アッセイにより、生物学的活性を検定しています。

■ 代表参考文献

- Ettinger AW, *et al.* (2011) Proliferating versus differentiating stem and cancer cells exhibit distinct midbody-release behaviour. *Nat Commun* 2:503. PMID: 22009035
- Skarnes WC, *et al.* (2011) A conditional knockout resource for the genome-wide study of mouse gene function. *Nature* 474 (7351):337-342. PMID: 21677750
- Ficz G, *et al.* (2011) Dynamic regulation of 5-hydroxymethylcytosine in mouse ES cells and during differentiation. *Nature* 473 (7347):398-402. PMID: 21460836
- Desponts C & Ding S (2010) Using small molecules to improve generation of induced pluripotent stem cells from somatic cells. *Methods Mol Biol* 636:207-218. PMID: 20336525
- Bryja V, *et al.* (2006) Derivation of mouse embryonic stem cells. *Nat Protoc* 1 (4):2082-2087. PMID: 17487198

ロット間差を
なくしたい方
に最適

CHEMICON®

製品名	製品形状	包装単位	カタログ番号
ESGRO LIF, Recombinant Mouse	溶液 (10 ⁶ Units/mL、約 10 µg/mL)	1 mL	ESG1106
	溶液 (10 ⁷ Units/mL、約 100 µg/mL)	1 mL	ESG1107

メルク ESGRO

検索

高品質組換え LIF



メルクは 1999 年に Chemicon ブランドとして Leukemia Inhibitory Factor (LIF) および ESGRO LIF の供給を開始して以来、品質に対する絶大な信頼とともに現在でも多くの皆様に LIF 製剤をご活用いただいております。

■ 特長

様々な実験系での多くの使用実績。
ヒト、マウス、ラット組換えタンパク質から最適な製品を選択可能。
高品質ながら低価格を実現。

使用論文多数

CHEMICON®

組換えマウス LIF

製品名	製品形状	包装単位	カタログ番号
LIF, Recombinant Mouse (大腸菌発現)	溶液 (10 µg/mL)	5 µg	LIF2005
	溶液 (10 µg/mL)	10 µg	LIF2010
	溶液 (100 µg/mL)	50 µg	LIF2050

組換えヒト LIF

製品名	製品形状	包装単位	カタログ番号
LIF, Recombinant Human (大腸菌発現)	溶液 (10 µg/mL)	5 µg	LIF1005
	溶液 (10 µg/mL)	10 µg	LIF1010
	溶液 (100 µg/mL)	50 µg	LIF1050

組換えラット LIF

製品名	製品形状	包装単位	カタログ番号
LIF, Recombinant Rat (大腸菌発現)	溶液 (10 µg/mL)	10 µg	LIF3010

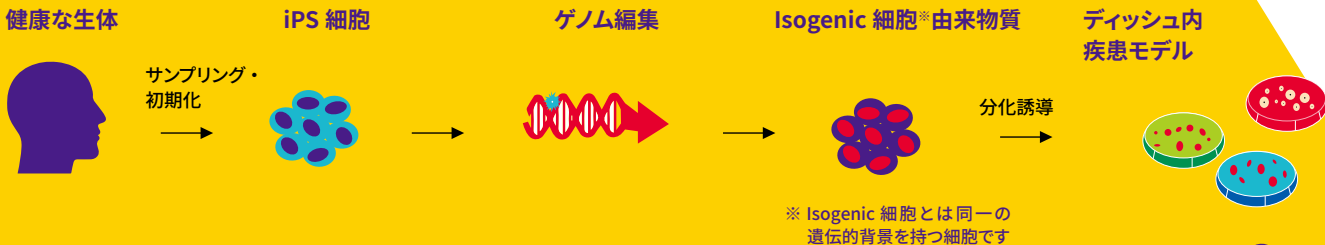
販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

【製品の技術的なお問い合わせ（テクニカルサービス）】

<メルク製品> TEL : 03-4531-1140 FAX : 03-5434-4859 Email : bioinfo@merckgroup.com
<シグマ製品> TEL : 03-6756-8245 FAX : 03-6756-8302 Email : sialjpts@sial.com

CRISPR によるヒト iPS 細胞のゲノム編集

CRISPR ゲノム編集および iPS 細胞という 2 つの有用なツールを組み合わせることによって、表現型の差異明確化や複雑な疾患の病理学的メカニズムの同定が可能になります。これらの“disease-in-a-dish”モデル（ディッシュ内疾患モデル）はヒト疾患の正確なプロトタイプとして基礎研究、創薬および移植療法において実証されてきています。疾患特異的な細胞を大量に確立された効率的手法で生産できる幹細胞は、疾患モデル細胞の作製に理想的と考えられています。



世界初の
特許取得

NEWS!

メルク オーストラリア、欧州、カナダ、シンガポール特許庁から ゲノム編集技術 CRISPR テクノロジーで特許取得

・ 取得特許範囲は CRISPR テクノロジーによる真核細胞ゲノムへの外来 DNA 配列の導入技術

2017年6月14日、サイエンスとテクノロジーの分野における世界有数の企業である Merck（以下メルク）は、オーストラリア特許庁からゲノム編集技術 CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) テクノロジーを用いた真核細胞ゲノムへの遺伝子組み込み技術に関連する特許権を取得しました。その後、2017年8月に欧州、10月にカナダ、12月にシンガポールで特許が成立しました。

オーストラリアでの特許取得は、メルクが CRISPR テクノロジーに関連して取得した世界で初めての特許となります。今回取得した特許範囲は、CRISPR テクノロジーを用いた真核細胞（哺乳類や植物などの細胞）へのゲノム切断をともなう編集と、外来のドナー DNA 配列のゲノムへの組み込みに関するものです。メルクは CRISPR テクノロジーを用いた遺伝子組み込み技術に関して、今までに特許が成立したオーストラリア、欧州、カナダ、シンガポールのほか、ブラジル、中国、インド、日本、韓国、米国で特許申請を行っております。

メルク経営執行委員会のメンバーでメルク・ライフサイエンス・ビジネス最高経営責任者（CEO）であるウディット・バトラは「メルクはがん、希少・難治性疾患、糖尿病をはじめとする慢性疾患など、治療の選択肢が限られた病気に対する新しい治療方法を科学者が発見できるようにする驚くべきツールを開発しました。今回の特許認定は、メルクが技術革新に集中して取り組んでいる CRISPR テクノロジーの専門性を認めたものです」と語っています。

CRISPR テクノロジーに基づくゲノム編集技術は、生体細胞の染色体に対する精度の高い組み換えを可能にするものです。これによって今日、直面している医学上の課題に対して新たな治療の選択肢がもたらされます。CRISPR テクノロジーの適用は、がんや希少・難治性疾患にかかわる遺伝子の判別から、失明の原因となる突然変異の復帰など広い範囲にわたっています。

メルクは 14 年間にわたってゲノム編集領域に取り組んできました。ゲノム編集のための生体分子 (Targetron™ RNA 誘導型グループ II イントロンおよび CompoZr™ ジンクフィンガーヌクレアーゼ) を世界で初めて提供した実績を有するほか、全ヒトゲノムをカバーするアレイ型 CRISPR ライブラリーを作製した世界初の企業でもあります。メルクはこうした取り組みによって科学者が疾患の根本原因を追求することを可能にし、疾患治療を促進してきています。

メルクの CRISPR テクノロジーによって、疾患に関連する遺伝子上の変異を有用かつ機能的な配列に置き換えることが可能になり、これは疾患モデルならびに遺伝子療法の創出に役立ちます。さらに、導入遺伝子によって内因性タンパク質を標識すれば、細胞内部を視覚的に追跡できるようになります。

メルクは 2017 年 5 月、proxy-CRISPR と呼ぶ新たな CRISPR ゲノム編集技術を開発したと発表しています。Proxy-CRISPR テクノロジーによって、これまでは対象外だった細胞がゲノム編集の対象となり、CRISPR テクノロジーがより効率的でフレキシブル、特異的なものになります。研究者にとっては、より多くの実験上の選択肢が得られるというメリットがあります。メルクは proxy-CRISPR テクノロジーについても 2012 年以降の複数の申請の一つとして特許申請中です。

メルクは基本的なゲノム編集に関する研究に加え、遺伝子・細胞ベースの治療法とウイルスベクターの開発に取り組んでいます。2016 年には、この分野へのコミットメントを強化するためにゲノム編集イニシアチブの取り組みを開始し、ゲノム編集から遺伝子医薬品の製造まで一貫して取り組む選任チームを立ち上げて研究を促進しています。

Proxy-CRISPR 文献

Chen F, et al. (2017) Nat Commun 8:14958

培地滅菌の定番製品 ステリカップが使いやすく 進化しました

Stericup[®] Quick Release

取り外しやすさ進化

人間工学に基づいたデザインにより、
¼ 回転ひねるだけでファネルや蓋を
簡単に取りはずせるクイックリリース
構造に改良

ステリカップが愛用されている 2つの理由

高流量 ろ過スピードの速さ

独自の膜構造によるスピーディーな吸引
により作業のストレスを低減します

低吸着 タンパク質の低吸着性

タンパク質吸着の少ない親水性 PES の
GP/HP シリーズ、親水性 PVDF の GV/
HV シリーズはタンパク質のロスを抑制



NEW!

持ちやすさ進化

カチッと音がして蓋が閉まった
ことが分かり、濡れていても
持ちやすい形状



製品名	フィルター材質	孔径	ファネル容量	フラスコ容量	入数	カタログ番号
ステリカップ クイックリリース-GP	ミリポアエクスプレスプラス (親水性 PES)	0.22 µm	500 mL	500 mL	12/pk	S2GPU05RE
ステリトップ クイックリリース-GP			500 mL	—	12/pk	S2GPT05RE

※ その他のボトルトップフィルター製品 "クイックリリースシリーズ" につきましても順次リリース予定です。

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのでご了承ください。記載価格に消費税は含まれておりません。本文中のすべてのブランド名または製品名は特記なき場合、Merck KGaAの登録商標もしくは商標です。Pluronic is a registered trademark of BASF. TargetTron is a trademark of InGex, LLC. GENETICIN is a registered trademark of Life Technologies. LuminiCell Tracker is a trademark of LuminiCell Pte Ltd. ReNcell はリニューロン・リミテッドの登録商標です。Roche is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc. 本紙記載の内容は2018年3月時点の情報です。©2018 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved.

メルク株式会社

ライフサイエンス リサーチ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.jp/bio

E-mail: jpts@merckgroup.com

Tel: 03-4531-1140 Fax: 03-5434-4859