

ヒト胚性幹細胞培養エンバイロメントを用いての短期培養評価に関する報告

日本で hES 細胞株を 3 株(KhES-1、KhES-2、KhES-3)樹立し、国内他施設へ提供されている京都大学再生医科学研究所附属幹細胞医学研究センターのご協力を得て、mTeSR1 とヒト ES 細胞用マトリゲルを用いて、培養評価を行っていただいた。

[評価方法]

国内で樹立された hES 細胞、3 株を mTeSR1 とヒト ES 細胞用マトリゲル(ロット番号：89372)を用いて、プロトコールに従って、1 ヶ月(5~6 継代)培養を行った。評価は、顕微鏡下での形態観察、ES 細胞での発現が確認されている未分化マーカーの OCT-3/4 とアルカリ性フォスファターゼの染色を用いた。

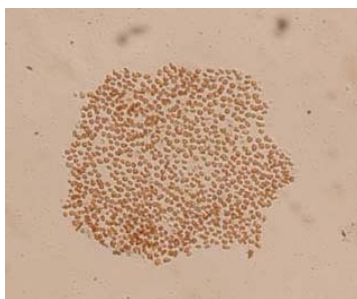
[結果]

mTeSR1 とヒト ES 細胞用マトリゲルを用いた培養において、3 株とも 1 ヶ月くらいの短期培養で使用できることが確認できた。コロニー形態は、多少の周辺部の崩れが観察されたが、培養そのものへの影響は観察されなかった。OCT-3/4 とアルカリ性フォスファターゼの染色も陽性であり、未分化性が保たれていた。

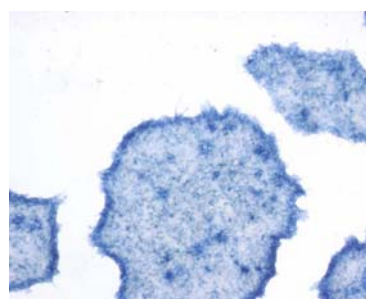
例：KhES-1 株



Phase contrast



OCT-3/4



アルカリ性フォスファターゼ

[培養における注意点]

- ・ コンディション培地(マウスフィーダー細胞の培養上清)とマトリゲルを組み合わせた培養に比較すると増殖速度がやや落ちる傾向であった。
- ・ 通常マトリゲルに比較するとヒト ES 細胞用のマトリゲルを使用した場合、接着後の細胞の広がりやや遅いが、培養には影響はない。
- ・ mTeSR1 を使用した場合、コンディション培地を使用した場合と比較すると、細胞をはがした際や培地交換の際に死細胞が目立つが、培養には問題はない。
- ・ プロトコールに従ってディスパーゼを用いて細胞回収を行ったが、通常京都大学で使用

している培養方法(フィーダー細胞上、またはコンディション培地とマトリゲル)で培養した細胞を酵素処理する場合と比較すると、細胞がはがれにくい。

- mTeSR1 とヒト ES 細胞用マトリゲルで培養を行う際には、特に馴化する必要はない。

写真・情報提供：京都大学 再生医科学研究所附属幹細胞医学研究センター