

hMSC 骨芽細胞分化キット

目次 # RP02014-C 1 Kit

製品概要

hMSC 骨芽細胞分化キットは、骨芽細胞への高効率な分化誘導能力を持ち、ヒト間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化誘導に使用できます。

製品情報

表 1 : hMSC 骨芽細胞分化キット 製品詳細

製品情報	品番	規格	保存条件
hMSC骨芽細胞分化キットの内容物：	RP02014-C	1 Kit	2-8 °C*
Osteogenic Differentiation Basal Medium	RP02014-C-1	80 mL	2-8 °C
Osteogenic Differentiation Supplement	RP02014-C-2	20 mL	-80 °Cから -20 °C

*基礎液と添加物をよく混和して完全培地を調製します。調製後は2-8 °Cで保存し、2週間以内に使用可能です。

試薬と材料

表 2 : 推奨試薬&材料

試薬&材料	ブランド (e.g.)	品番 (e.g.)
NcMission™ hMSC Medium V3.0	Shownin	RP02010
アリザリンレッド染色液2%Alizarin Red S	Sciencell	0223
1 × DPBS w/o Ca ²⁺ /Mg ²⁺	Thermo Sci.	14190250
6ウェルプレート	Thermo Sci.	140685
1 mL/5 mL/10 mL/25 mLピペット	Thermo Sci.	N/A
1.5/2 mL凍結保存管	Thermo Sci.	N/A
10 μL/200 μL/1000 μLピペットチップ	Rainin .	N/A

試薬の準備

(一) hMSC 骨芽細胞分化キットの調製

1. Osteogenic Differentiation Supplementは4 °Cで解凍します。37 °Cで解凍しないでください。
2. バイオセーフティキャビネット内で滅菌済みピペットを使用して100mLの分化完全培地を調製します。

Osteogenic Differentiation Basal Medium : 80 mL

Osteogenic Differentiation Supplement : 20 mL

3. 完全培地は4 °Cで保存し、2週間以内に使用可能です。

Tips : 実際の使用量に応じて、Supplementを分注して凍結保存することが可能です。凍結・解凍は合計で2回までとします。

(二) アリザリンレッド使用液の調製

1. アリザリンレッド保存液は含有量が2%、常温保存します。使用寸前にアリザリンレッド保存液：脱イオン水=1：20の
2. 割合で0.1%の使用液に希釈し、使用液は黄褐色で澄んだ液体です。

間葉系幹細胞の骨芽細胞分化

(一) 间充质干细胞培养

1. hMSCの培養：詳細は「NcMission™ hMSC Medium V3.0 取扱説明書」を参照してください。
2. NcMission™ hMSC Medium V3.0 を用いて間葉系幹細胞を培養します。間葉系幹細胞を 5000-10000 cells/cm² の密度で6ウェルプレートに播種し、水平方向に十字振りを3回実施後、37 °C • 5% CO₂ • 飽和湿度のインキュベーターに入れ、再度水平方向に十字振りを3回行い、培養します。

(二) 間葉系幹細胞の骨芽細胞分化

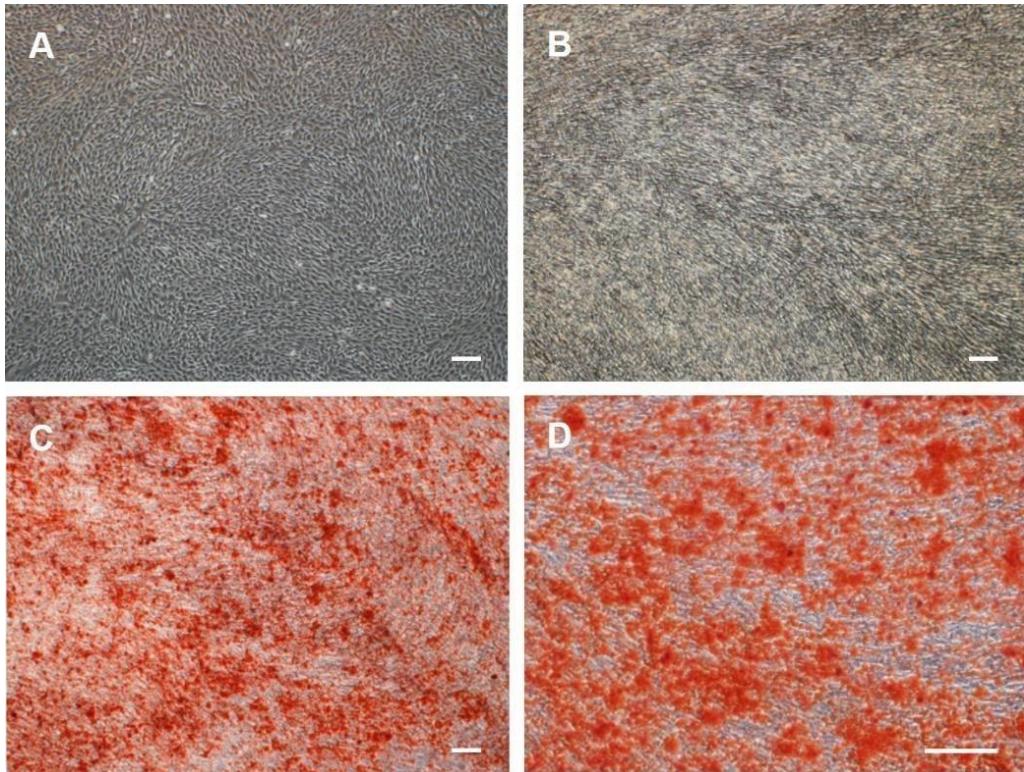
1. hMSCのコンフルエンシーが約85%に達した時点で分化を開始します。上清を除去し、実験群と対照群を設定します。実験群にhMSC骨芽細胞分化完全培地を添加し、対照群に NcMission™ hMSC Medium V3.0を添加します。

Tips : hMSCの骨芽細胞への分化過程における細胞の剥離や浮遊を防ぐために、培養プレートをMatrigelでコーティングすることを推奨します。

(Matrigelの取扱方法：<https://www.shownin.com/video.html>）。

2. 3~4日ごとに培地を交換し（1ウェルあたり2~3 mL）、21日目まで連続培養を行います。
3. 21日目に上清液を除去し、固定液（4%パラホルムアルデヒド）を添加し、30分間固定します。
4. 分化群と対照群の上清を除去し、適量のアリザリンレッド染色液を添加し、室温・遮光条件下で20~60分間インキュベートしてから染色液を除去し、生理食塩水またはDPBSで背景色がなくなるまで洗浄します。洗浄後、各ウェルに生理食塩水またはDPBSを入れ、顕微鏡下で観察

・撮影します。



hMSC 骨芽細胞分化キットを用いた分化過程における細胞形態 スケールバー：200 μm

AとB：分化1日目と21日目の細胞形態 CとD：分化21日目に顕微鏡下における染色結果