

ReproFF2 Q&A

Q1. なぜ、培地交換が1日おきで大丈夫なのですか？

A1. ReproFF2は従来の培地と異なる組成となっているため、1日おきの培地交換でヒトES/iPS細胞の培養が可能となっております。

Q2. これまで（オンフィーダー、FF）より1回の培地交換で使う培地量は増えませんか？

A2. 1回の培地交換で使用するReproFF2の培地量は弊社従来製品（霊長類ES細胞用培地およびReproFF）と同量となっております（例：φ60mm ディッシュあたり4 mL）。

Q3. ReproFFとReproFF2の違いを教えてください。

A3. ReproFF、ReproFF2ともにフィーダーレス培養用の培地ですが、ReproFF2ではReproFFと異なる組成となっており、1日おきの培地交換でヒトES/iPS細胞の培養が可能となっております。具体的な組成については非公開とさせていただいておりますので、ご了承ください。

Q4. 霊長類ES細胞用培地とReproFF2の違いを教えてください。

A4. 霊長類ES細胞用培地とReproFF2では培養方法が異なり、霊長類ES細胞用培地はオンフィーダー培養用、ReproFF2はフィーダーレス培養用の培地です。これらの培地で培養されたヒトiPS細胞はオンフィーダー培養→フィーダーレス培養、フィーダーレス培養→オンフィーダー培養への移行がスムーズにおこなえることを確認しております。

Q5. ReproFF2を使用してオンフィーダー培養で1日おきの培地交換で培養できますか？

A5. ReproFF2はフィーダーレス培地のため、オンフィーダー培養に使用することはできません。

Q6. ReproFF2で毎日培地交換すると増殖速度は速くなりますか？

A6. 1日おきで培地交換する場合と比較するとやや速くなります。1日おきで培地交換する場合は約7日でコンフルエントになりますが、毎日培地交換の場合は、5~6日でコンフルエントになります。

Q7. ReproFF2で培養したヒトiPS細胞の継代方法はオンフィーダー培養での方法と同じですか？

A7. ReproFF2と組み合わせて弊社製品のLaminin-5をコーティングに使用した場合は、オンフィーダー培養の場合と同様に、剥離液処理とピペッティングによる継代が可能です。コーティング剤にMatrigelを使用した場合はオンフィーダーの場合と異なり、剥離液処理に加えてセルスクレイパーで細胞を剥がす必要がございます。

Q8. ReproFF2で培養したヒトiPS細胞とオンフィーダー培養したヒトiPS細胞に違いはありますか？

A8. コロニーの形態に若干の違いがありますが、未分化マーカーの発現は両者ともほぼ同じであることを確認していますので、ReproFF2で培養したヒトiPS細胞とオンフィーダー培養したヒトiPS細胞の性質にほぼ同じ性質を持っていると考えています。

Q9. ReproFF2 で培養したヒト iPS 細胞は分化しますか？

A9. α -MHC、Connexin-43、cardiac Troponin T 陽性の心筋細胞および β III-tubulin 陽性の神経細胞、Tyrosine-3-hydroxylase 陽性のドーパミン作動性神経細胞への分化を確認しております。

Q10. ReproFF2 で培養したヒト iPS 細胞は奇形腫（テラトーマ）を形成しますか？

A10. テラトーマ形成能の確認はしていません。

Q11. ReproFF2 で培養したヒト iPS 細胞の増殖速度を教えてください。

A11. 霊長類 ES 細胞用培地を使用したオンフィーダー培養では通常 3~4 日でコンフルエントになりますが、ReproFF2 での培養では約 7 日でコンフルエントになります。これは ReproFF2 を使用した場合に限らずフィーダーレス培養の場合の標準的な日数であり、異常ではありません。

Q12. ReproFF2 の使用期限はどのくらいですか？

A12. 開封後の使用期限の目安は 4°C 保存で 2 週間になります。開封後はなるべく 2 週間以内に使いきることをお勧め致します。また、使いきることが難しい場合は、小分けにして保存することも可能です。(Q13)

Q13. ReproFF2 を解凍後、小分けにして再凍結して大丈夫ですか？

A13. 一度に限り再凍結は可能です。長期間（1 年以上）保存する場合は -20°C で保存してください。

Q14. ヒト以外の ES/iPS 細胞でも使用できますか？

A14. ReproFF2 で培養できることが確認されている細胞はヒト ES/iPS 細胞になります。他動物種の ES/iPS 細胞での培養確認はおこなっておりませんので、ReproFF2 で他動物種の ES/iPS 細胞の培養を開始する際は事前に検討することをお勧め致します。

Q15. ReproFF2 で培養できた細胞株を教えてください。

A15. 京都大学で樹立されたヒト ES 細胞株 KhES-1 および同じく京都大学で樹立されたヒト iPS 細胞株 201B7 において培養可能であることを確認しております。なお、弊社で樹立したヒト iPS 細胞株 2 株においても培養可能であることを確認しております。