

# DefiniGEN

## Def-PANC ヒト膵β細胞 [iPS細胞由来, 健常細胞, 疾患モデル]

DefiniGEN膵臓ベータ細胞は、ヒト多能性幹細胞 (iPSC) の分化誘導技術を用いて作製され、得られた細胞は、ヒト膵島と同じく、グルコース濃度に応じインスリン分泌量が応答 (GSIS) する特性を有することが、主要な薬剤投与試験によって確認されています。膵島細胞は、単層でも培養することが可能ですが、容易にヒト膵島と似た構造と機能を持つ「マイクロ膵島」を培養させることも可能です。この細胞は、糖尿病薬の発見や糖尿病の研究など、主要なアプリケーションに利用可能です。しばしば初代ヒトβ細胞はその供給不安が問題視されますが、iPSC技術を用いたDef-PANC WTは、工業的に継続供給することが可能であり、研究の継続性を保証することができます。

### 単層培養:

Def-PANCは、高度に機能化されたヒトiPS由来膵臓細胞です。山中伸弥教授によるiPS技術と独自の分化誘導プラットフォームの組み合わせにより、質と量ともに安定した膵臓細胞を提供することが可能になりました。およそ25日間の分化誘導プロセスに従い、重要な発生段階を経た細胞は最終的に、高い機能を有する膵臓細胞へ変化します。

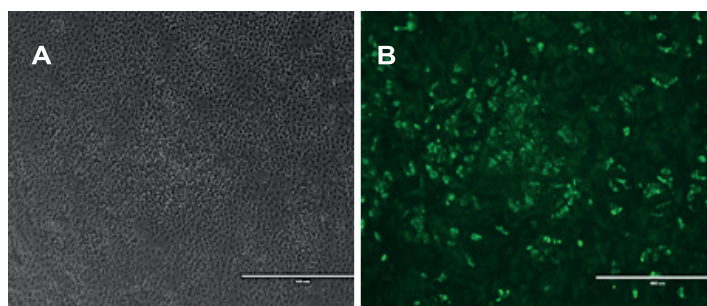


図1. 標準的な96ウェルプレートで増殖させた際のDef-PANC細胞の細胞形態。(A) 典型的な密集した膵臓細胞形態、(B) ベータ細胞産生されるC-ペプチド分泌 (緑色) の染色を示す。

### マイクロ膵島形成:

Def-PANCを低接着プレート(96ウェル・標準品)で増殖させた場合、細胞は凝集し、初代ヒト膵島と同レベルのサイズと機能を有する構造体を形成します。

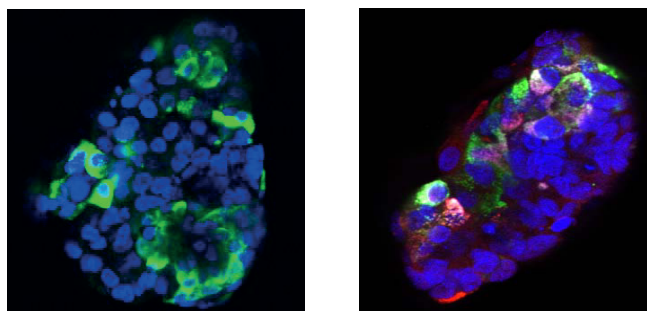


図2. Def-PANCによるマイクロ膵島形成。市販96ウェル低接着プレート上でヒト膵島に近いサイズかつ機能的に類似した凝集塊が得られる。ICC染色では、C-ペプチド (=インスリン) が発現していることが確認出来ると共に、少量のグルカゴン (ピンク) およびソマトスタチン (赤) が発現していることもわかります。

### 機能解析:

Def-PANC細胞は、初代ヒト膵島に匹敵するGSIS (グルコース応答性インスリン分泌) 応答を示し、GLP-1およびExenatideなどの周知の分泌促進物質に対する用量依存的応答も示しました。

### グルコース応答性インスリン分泌解析 (GSIS):

標準的な96ウェル低接着プレート上に形成されたマイクロ膵島におけるグルコース応答性インスリン分泌量

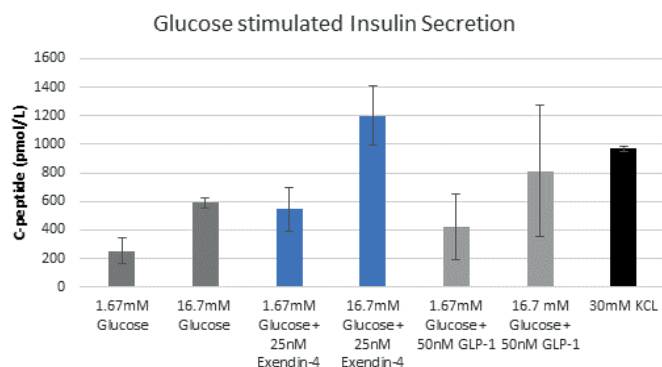


図3. 左図: 低濃度および高濃度のグルコースのみで刺激されたDef-PANC細胞のGSISアッセイ結果。右図: Def-PANC細胞のGSIS応答を、異なる濃度 (低高濃度) のグルコースおよびエクセナチドで刺激際の結果。低グルコース濃度1.6mM、高グルコース濃度16.7mM、エクセナチド濃度25nM、GLP-1濃度50nM。

### qPCRにおけるインスリン遺伝子発現の検出結果:

Def-PANCはヒト膵β細胞に近いレベルのインスリンを発現し、かつ再現性の高い細胞ツールが提供可能です。

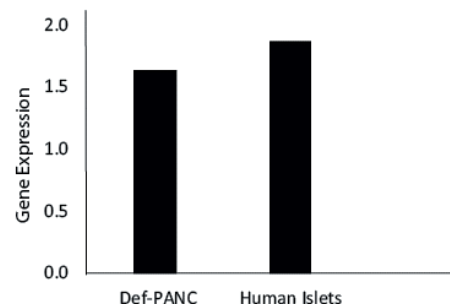


図4. 凍結保存されたDef-PANCバイアルを解凍し、標準低接着プレート(96ウェル)上にマイクロ膵島を形成させ培養させた際の遺伝子発現マーカー分析

## 疾患モデルの作製:

### 創薬スクリーニング

従来型の細胞ツールでは、細胞間のバッチ間差や、疾患細胞と健常細胞のフェノタイプが完全に一致していないなどの理由から、薬効が見落とされた化合物が多数存在すると考えられます。

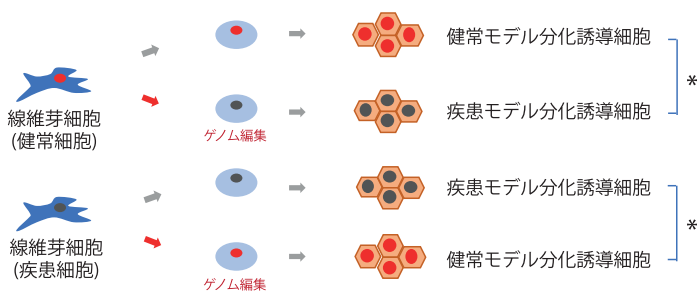
ゲノム編集\*を採用した疾患モデルにおいては、疾患の有無のみが異なる細胞をペアで提供することが出来るため、より正確なスクリーニングを行うことが可能になりました。(\*CRISPR/CAS法を採用)

### 希少疾患モデル

希少疾患に対する創薬開発は、疾患細胞が容易に入手できない点と動物モデルを用いた際のコストおよび倫理性が導入の障害になっています。

DefiniGENは世界各国の疾患細胞バンクへアクセスし、患者由来の細胞を入手後、iPS細胞への初期化を行った後、目的の細胞への分化誘導を行います。

細胞は凍結バイアルにてクライアントに納入されます。



DefiniGENにおけるゲノム編集を併用した疾患モデル作製スキーム。疾患線維芽細胞は、各国の疾患細胞バンクから供給され、希少疾患にも同じスキームが採用できます

### ● 製品情報

#### 凍結バイアル細胞

品名	製品コード	単位
DefiniGEN human pancreatic beta cell, wild type (Typical cell content: 5-10 x 10 <sup>6</sup> per vial, Cryopreserved, viability >70% post thawing)	Def-PANC WT	1 vial
DefiniGEN human pancreatic cell MODY3, HNF1a mutation (Typical cell content: 5-10 x 10 <sup>6</sup> per vial, Cryopreserved, viability >70% post thawing)	Def-PANC MODY3	1 vial
DefiniGEN human pancreatic cell, Neonatal, KCNJ11 mutation (Typical cell content: 5-10 x 10 <sup>6</sup> per vial, Cryopreserved, viability >70% post thawing)	Def-PANC Neonatal	1 vial

\*専用ドライシッパーにて輸送されます。輸送費が別途加算されます。

#### 解凍・メンテナンス専用培地

品名	製品コード	単位
Pancreatic Maintenance and Thaw media additive pack	PRMM Pack	1 set

#### カスタムプロジェクト

品名	製品コード	単位
カスタム疾患モデル作成、ゲノム編集、iPSリプログラミング等 (DefiniGENは、研究開発型の企業として、ユーザー様からのリクエストに応じたカスタム品作製・カスタムプロジェクト受入等に柔軟に対応しております。詳細は問合せ。)	CUSTOM	1 unit

## 疾患モデル検証における一般的フロー

- 細胞機能評価**  
iPS由来細胞を、初代細胞もしくは既存の細胞ツールと評価比較  
【対象】健常モデルiPS由来細胞
- 疾患機能評価**  
既存の疾患モデル細胞を利用し、フェノタイプ解析等を実施  
【対象】疾患モデルiPS由来細胞
- 小規模スクリーニング**  
代表的な化合物を採用し、小規模のスクリーニング試験を実施  
【対象】カスタム疾患モデルiPS由来細胞
- 大規模スクリーニング**  
化合物ライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングを実施  
【対象】カスタム疾患モデルiPS由来細胞

● 対応可能な疾患モデル(一例)  
MODY1~13までのモデル(ゲノム編集にて対応)  
新生児(Neonatal)一型糖尿病モデル、等