Application Note

化学合成足場材 Ceglu™を用いた再現性の高いiPS細胞の自動培養

背景

再生医療の産業化にあたり、iPS細胞に代表される幹細胞の細胞製造を再現性高く実現できる堅牢な培養プロセスが求められています。しかし、タンパク質足場材を手作業でコーティングおよび培養する一般的なプロセスは、コーティングのムラや作業者間のバラつきなど、培養再現性を損なう要素を含んでいます。化学合成足場材Ceglu™がプレコーティングされたCeglu multiwell plate*と自動培養装置を組み合わせることで、そのような要素の解消が期待されます。

今回、タンパク質足場材を手作業でコーティングした容器とCegluを塗工装置でコーティングした容器(Ceglu multiwell plate)において、細胞培養表面の均質性を評価しました。また、それぞれの手段でコーティングした容器を用いて、手作業で培養を行う系と自動培養装置を組み合わせて培養する系で、倍化時間の算出による培養再現性を比較検証しました(**図1**)。

* Ceglu multiwell plate は、Cegluがあらかじめ機械コーティングされたReady-to-use製品です。

KeyPoint

- ✓ **均質な細胞培養表面**
- ✓ **自動培養装置とCegluの組み合わせによる高い培養再現性**

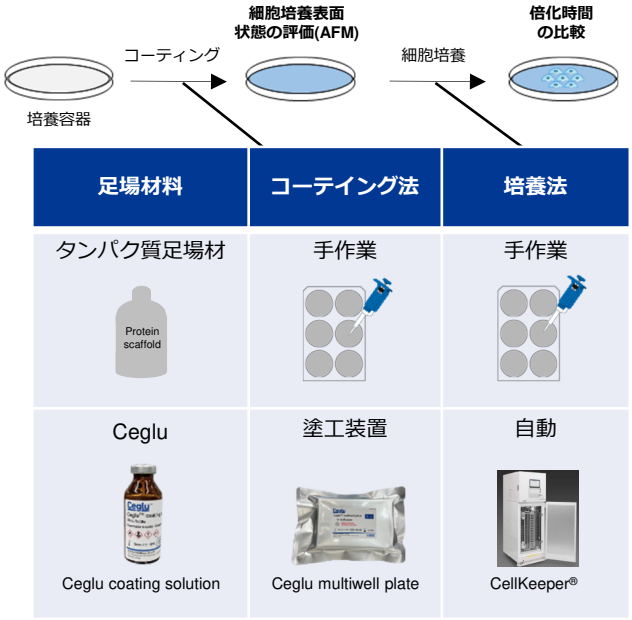


図1. タンパク質足場材とCegluの細胞培養表面状態の評価および培養再現性の検証

実施方法

<細胞培養表面状態の評価>

1. 標準的なプロトコルに従い、6ウェルプレートに対し、手作業でタンパク質足場材をコーティング[1, 2]
2. 塗工装置を用いて、 6ウェルプレートに対し、Ceglu coating solutionをコーティング
3. 1,2で調製した細胞培養表面の状態を原子間力顕微鏡(AFM)で評価

<培養再現性の検証>

・条件1 培養作業者3名が、タンパク質足場材を手作業で6ウェルプレートへコーティング、手作業で培地交換を実施。それぞれが3枚(合計9枚)の6ウェルプレートでiPS細胞を培養

・条件2 Ceglu multiwell plateを用いて、自動培養装置(RORZE Lifescience Inc.製 CellKeeper®)による培地交換を実施。9枚の6ウェルプレートでiPS細胞を培養。

条件1および条件2において、5日間培養を行った後、セルカウントを行い、各ウェルの倍化時間を算出し、培養再現性を評価

Copyright© SEKISUI CHEMICAL. CO., LTD.

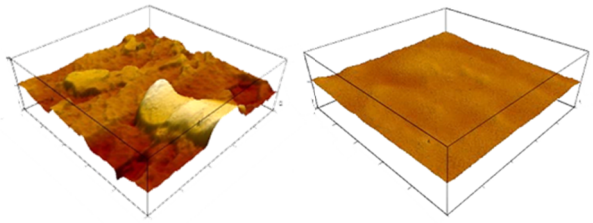
結果

● 細胞培養表面状態の均質性

実施方法に従い、タンパク質足場材とCegluをコーティングした培養表面状態を水中AFMによって評価しました(**図2**)。その結果、タンパク質足場材をコーティングした容器では、表面粗さに偏りがあり、タンパク質が自然吸着した部位とそうでない部位の差が観察されました。一方、Cegluをコーティングした表面では、表面粗さの小さい均質な表面形成が観察されました。

● 培養再現性の検証

タンパク質足場材培養系(手作業コーティングおよび培養)と、Ceglu multiwell plateを用いた培養系(装置コーティング、自動培養装置)で倍化時間を比較し、培養再現性を検証しました(**図3**)。タンパク質足場材の培養系では、手作業によるバラつきに起因し、各ウェルプレートの倍化時間に大きなバラつきが確認されました(**条件1**)。一方で、Ceglu multiwell plateを用いた培養系では、各ウェルプレートごとの倍化時間のバラつきが抑えられ、高い培養再現性が確認されました(**条件2**)。以上の結果から、Cegluがあらかじめコーティングされたmultiwell plateと自動培養装置を組み合わせることで、再現性の高い自動培養プロセス確立の可能性が示されました。今後、他のプレートフォーマットや、異なる自動培養装置との組み合わせによるデータ取得を検討することで、Cegluの更なるアプリケーション開発が期待されます。



Protein scaffold coated surface　　Ceglu coated surface

※同測定条件による比較

図2. AFMによる培養表面状態の評価

条件1 タンパク質足場材培養系

	Protein scaffold, Manual method								
	Operator A			Operator B			Operator C		
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 4	Plate 5	Plate 6	Plate 7	Plate 8	Plate 9
Well 1	24.2	22.0	22.9	25.1	24.4	25.4	69.7	21.7	23.0
Well 2	23.1	22.5	23.2	26.1	22.9	30.2	229.9	22.7	23.2
Well 3	23.2	21.1	22.9	25.5	23.7	25.4	183.9	22.1	22.1
Well 4	24.4	21.1	24.0	24.2	25.0	29.5	82.5	22.1	21.9
Well 5	24.3	23.6	23.0	24.5	22.7	29.0	235.3	23.0	22.3
Well 6	24.9	36.3	22.9	24.7	21.0	29.2	104.3	21.2	23.0

条件2 Ceglu培養系

	Ceglu, Automation method								
	Plate 1	Plate 2	Plate 3	Plate 4	Plate 5	Plate 6	Plate 7	Plate 8	Plate 9
Well 1	21.0	22.1	20.5	20.5	21.1	20.5	21.1	20.8	20.5
Well 2	22.1	21.8	20.9	21.6	21.9	21.2	21.4	21.3	20.8
Well 3	21.9	22.3	23.6	21.4	22.0	20.9	21.4	22.8	21.3
Well 4	21.4	21.6	19.8	20.9	21.2	20.3	21.0	21.6	20.4
Well 5	22.3	21.5	21.0	21.9	22.0	20.6	20.8	22.2	20.4
Well 6	24.8	24.9	23.5	23.9	23.5	21.8	22.1	22.6	21.3

Good　20 (h)　30　250　Poor

図3. タンパク質足場材培養系(**条件1**)とCeglu培養系(**条件2**)のiPS細胞倍化時間(h)のヒートマップ

関連製品

製品名	プレートタイプ	積水メディカル品目コード	包装	希望納入価格
Ceglu™ coating solution	-	-	-	お問合せください。
Ceglu™ multiwell plate	6-well	568817	1箱 (10枚入 個包装)	¥18,000
Ceglu™ multiwell plate	96-well	570995	1箱 (10枚入 個包装)	¥32,000
Ceglu™ dish	100mm dish	571008	1箱 (10枚入 個包装)	¥16,000

・希望納入価格は、2025年11月時点のもので消費税が含まれておりません。
・メーカーの定めた参考価格です。実際の販売価格は代理店にお問合せください。

参考文献

1. User Protocol for Human induced Plutipoten Stem Cells Version 4 (EBiSC®*)
2. CiRA_Ff-iPSC_protocol_JP_v140310 (CiRA-F**)

* EBiSC®: European Bank for induced pluripotent Stem Cells
** CiRA-F: Center for iPS Cell Research and Application Foundation, Kyoto University

本資料は、ISSCR 2023 (国際幹細胞学会2023年総会)およびJSRM 2022(日本再生医療学会2022年度年会)における発表データに基づきます。

積水化学工業株式会社
〒105-8566 東京都港区虎ノ門 2-10-4

販売に関するお問い合わせ：
積水メディカル株式会社 創薬支援営業所 製品担当
smd-adme@sekisui.com

技術的な質問に関するお問い合わせ：
積水化学工業株式会社 ライフサイエンス事業開発部
support_life@sekisui.com

Cegluおよびその他製品については、WEBサイトをご覧ください。

取扱店

本製品は研究用ですので、治療・診断目的には使用しないでください。
記載内容は、改良のため予告なく変更することがございます。