Application Note

化学合成足場材Ceglu™ を用いた iPS細胞から造血前駆細胞および単球への分化誘導

背景

iPS細胞から誘導される各種免疫細胞は、がん免疫療法への応用が進められており、高い治療効果が期待されています。これらの免疫細胞は、中胚葉、血管内皮細胞、造血前駆細胞といった分化段階を経て誘導されます。従来、この分化誘導にはマウス骨髄間質細胞などのフィーダー細胞を用いた2D培養法が採用されてきましたが、近年ではMatrigel®を用いたフィーダーフリーの2D培養法も確立されています[1,2]。しかし、臨床応用を見据える場合、安全性や再現性の確保が求められ、動物由来成分の使用を避ける必要があります。
今回、動物由来成分を含まない化学合成足場材Ceglu™を用いて、造血前駆細胞および単球への分化誘導の検討を検証しました(**図1**)。

KeyPoint
- ✓ **従来タンパク質足場材同等の分化効率**
- ✓ **動物由来成分フリー**
- ✓ **高純度な単球への分化誘導**

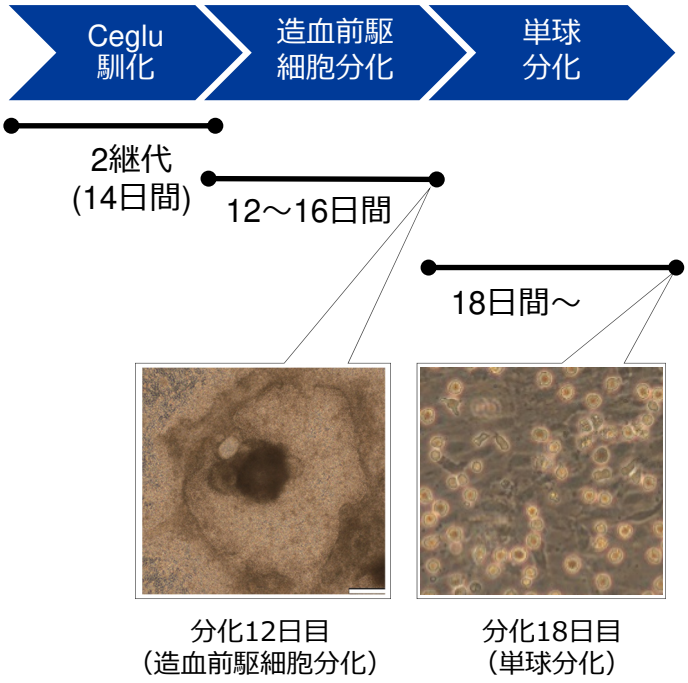


図1. 分化フローと分化細胞像

実施方法

● **造血前駆細胞への分化誘導**

1. iPS細胞(社内樹立株、またはSCTi003-A(Stemcell Technologies社))をCeglu multiwell plate で2継代(14日間)培養して馴化
2. Gentle Cell Dissociation Reagentを添加し、スクレーパーで剥離。iPS細胞のクランプを約200 μmのサイズに調整、約100個を6-well plateへ播種
3. 中胚葉、血管内皮細胞、造血前駆細胞の順に適切なタイミングで、分化誘導培地に切り替え培養
4. 適当なタイミングで浮遊細胞または接着細胞を回収
5. 造血前駆細胞マーカーを免疫染色し、FACSで評価

● **単球への分化誘導**

1. 上記3. に続き、分化7日目に単球を誘導する培地に切り換えて培養
2. 適当なタイミングで浮遊細胞または接着細胞を回収
3. 単球マーカーを免疫染色し、FACSで評価

Copyright© SEKISUI CHEMICAL. CO., LTD.

結果

※造血前駆細胞への分化誘導では、比較データとしてCegluとMatigel®同様に実験を行ったものをあわせて記載しています。

● 造血前駆細胞への分化誘導

Ceglu及びMatrigel®上で造血前駆細胞への分化誘導を行い、細胞形態及び細胞表面マーカーの発現を評価しました。播種2日後(Day0)には、50~400 μmのコロニーが複数確認されました。これらのコロニーを造血前駆細胞への分化培地に切り替えて培養を継続したところ、各コロニーが細胞塊を形成し、Day7以降にはその周囲に多数の浮遊細胞が出現しました(**図3**)。浮遊細胞を回収し、細胞表面マーカーの発現を解析した結果、造血前駆細胞マーカーの指標であるCD34及びCD43の共発現が確認され、造血前駆細胞への分化が示唆されました(**図4**)。また、Ceglu上で分化誘導した場合においても、Matrigel®を使用した際と同等レベルのマーカー発現(Ceglu: 54.0%, Matirgel®: 54.0%)が確認されました。

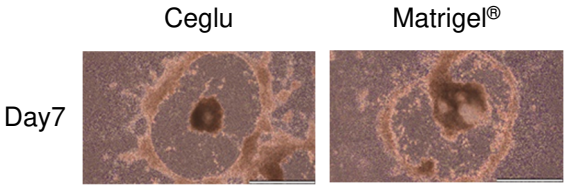


図3. 造血前駆細胞の分化過程の細胞像

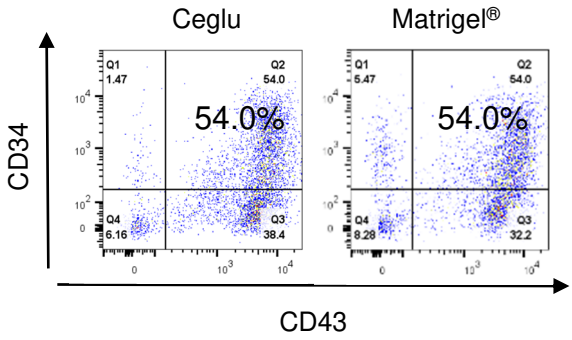


図4. 造血前駆細胞の細胞表面マーカー発現

● 単球への分化誘導

造血前駆細胞の分化誘導工程７日目に培地を切換え、単球への分化誘導を行い、細胞表面マーカーの発現を評価しました。造血前駆細胞の分化誘導時と同様、細胞塊とその周囲の浮遊細胞が確認されました。また、Day18の浮遊細胞における血液細胞のマーカーCD45と単球のマーカーCD14の発現は、ダブルポジティブの細胞集団が84.3%を占め、高純度な単球への分化が確認されました(**図5**)。

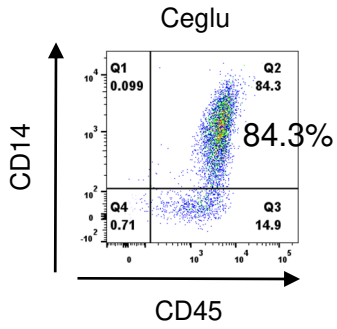


図5. 単球の細胞表面マーカーの発現

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™ 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. STEMCELL Technologies社 STEMdiff™ Hematopoietic Kit Protocol
2. *Cell Stem Cell.* 2013, 12.1:114-126

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。