Application Note

化学合成足場材Ceglu™ を用いたiPS細胞から神経前駆細胞、アストロサイトへの分化誘導

背景

アストロサイトは、神経前駆細胞から誘導されるグリア細胞の一種です。重要な神経機能を有し、アルツハイマー病やパーキンソン病をはじめとする多くの神経変性疾患への関連が知られています。iPS細胞からアストロサイトへ分化誘導する手法としては、タンパク質足場材を用いた手法が知られていますが、足場材の特性により必要となる低温保存や煩雑なコーティング作業などで、得られる分化細胞の品質に影響を与える場合があります。今回、化学合成足場材Ceglu™を用いて、iPS細胞から神経前駆細胞を経て、アストロサイトへの簡便かつ高効率な分化誘導を検証しました(**図1**)。

KeyPoint
- ✓ **一貫した足場環境での神経分化**
- ✓ **高効率なアストロサイトへの分化誘導**

実施方法

● 神経前駆細胞への分化誘導[1]

Dual SMAD阻害法に従い分化誘導

1. iPS細胞(253G1株)をCeglu™ multiwell plate上で、2週間培養し馴化
2. Gentle Cell Dissociation ReagentでiPS細胞を剥離
3. 神経分化誘導培地にシングル細胞で懸濁しCegluに播種
4. 3週間以上培養し、神経前駆細胞へ分化誘導

● アストロサイトへの分化誘導[2]

1. 神経前駆細胞の凍結ストックを融解、神経前駆細胞用の培地に懸濁し、Cegluへ高・中・低密度で播種*
2. 翌日以降、アストロサイト分化培地に交換し、3週間培養
3. 更にアストロサイト成熟化培地で3週間培養

* 中密度(1.8 x 10^5 cells/cm^2)を基準に、高・低密度条件を±30%の細胞密度で播種を実施

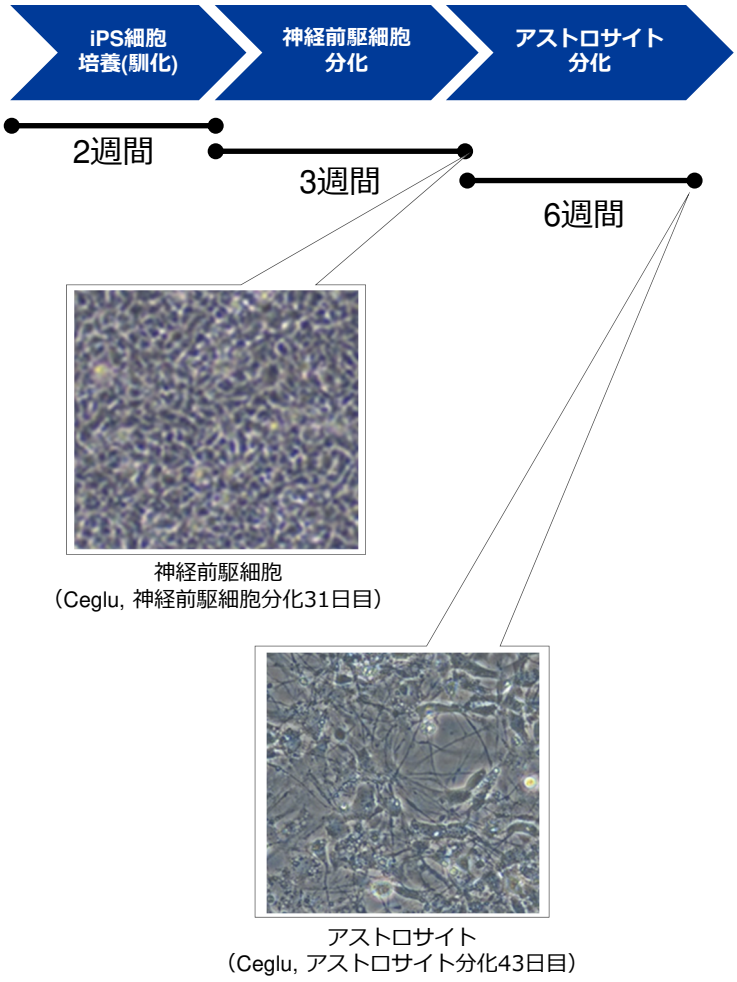


図1. 神経前駆細胞、アストロサイトへの分化フローと分化細胞像

Copyright© SEKISUI CHEMICAL. CO., LTD.

結果

※下記の結果は、比較データとしてタンパク質足場材料上でiPS細胞から分化誘導を行った場合をあわせて表記しています。

● 神経前駆細胞への分化誘導

神経前駆細胞へ分化誘導を行った後、免疫染色による評価を行いました(**図2**)。Cegluを用いた系、タンパク質足場材料を用いた系ともにNESTIN、PAX6やSOX1(データ未掲載)の発現を認め、神経前駆細胞への分化が確認されました。

● アストロサイトへの分化誘導

得られた神経前駆細胞を用いて、アストロサイトへ分化誘導を行い、アストロサイトのマーカーであるGFAPの発現を免疫染色によって評価しました。また、播種密度(高・中・低)による分化効率の影響を確認するため、フローサイトメトリーによるGFAP陽性率の測定を行いました。Ceglu上で分化させた場合においても、6週間の分化期間終了時点で、アストロサイト特有の細胞体と幹細胞が染色される細胞像が認められました(**図3**)。フローサイトメトリーによる測定では、タンパク質足場材を用いた場合と比較して、高・中・低播種密度のどの条件においても、Ceglu上での培養によって高いGFAP陽性率が確認されました(**図4**)。なお、全ての条件で神経細胞マーカーであるDCX陰性が確認されています(データ未掲載)。

以上の結果より、Ceglを神経前駆細胞やその後の分化に用いることで、簡便かつ効率的に目的の細胞が得られる可能性が示唆されました。

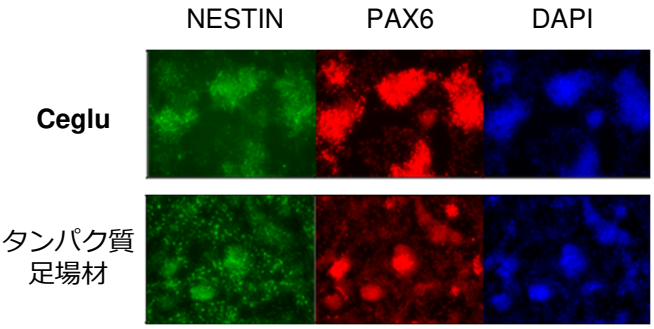


図2. 神経前駆細胞の免疫染色像

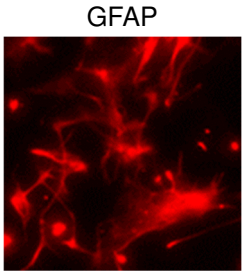


図3. アストロサイトの免疫染色像
(Ceglu上で培養)

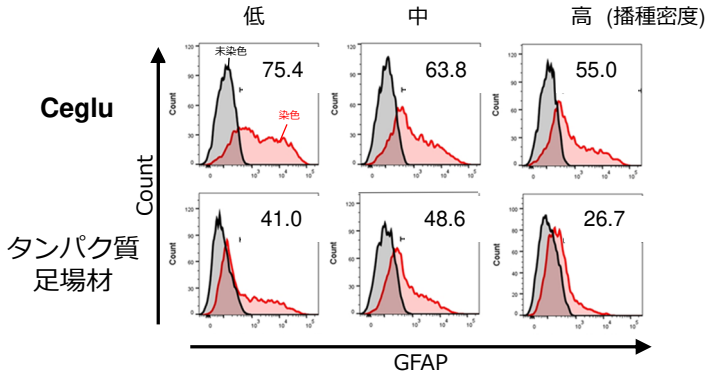


図4. アストロサイトマーカーGFAP陽性率

使用製品

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 Generation and Culture of Neural Progenitor Cells Using the STEMdiff™ Neural System, 5.2 Monolayer Culture Protocol
2. STEMCELL Technologies社 STEMdiff™ Astrocyte Differentiation Kit, STEMdiff™ Astrocyte Maturation Kit 参照

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

Cegl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。