Application Note

化学合成足場材 Ceglu™を用いたiPS細胞の三胚葉への分化誘導

背景

iPS細胞の三胚葉(外胚葉、中胚葉、内胚葉)への分化は、作製したiPS細胞の分化能の評価や、下流の分化細胞へのアプリケーションに重要な工程です。しかし、その実験操作は、目的とする三胚葉や分化細胞に応じた足場材の準備が必要であり、煩雑な操作を伴う場合があります。今回、足場材がプレコーティングされたCeglu™ multiwell plateを用いて、三胚葉および各分化細胞(神経前駆細胞、心筋細胞、肝芽細胞)への分化誘導を行いました(**図1**)。また、三胚葉や分化細胞の遺伝子発現解析や細胞形態などを観察し、Cegluを用いた本手法とタンパク質足場材を用いた既存法の比較を行いました。

KeyPoint

- ✓ **培養～分化まで一貫した足場環境**
- ✓ **タンパク質足場材と同等の分化効率**

手法	維持培養	三胚葉		分化細胞	
	代表的な足場材	胚葉	代表的な足場材	細胞種	代表的な足場材
既存法 (一例)	Vitronectin iMatrix-511 Matrigel® 等	外胚葉	iMatrix-511 +PLO*+PLL**	神経前駆細胞	iMatrix-511 +PLO*+PLL**
		中胚葉	iMatrix-511	心筋細胞	iMatrix-511
		内胚葉	Matrigel®	肝芽細胞	Matrigel®
本手法	**Ceglu**	外胚葉	**Ceglu**	神経前駆細胞	**Ceglu**
		中胚葉		心筋細胞	
		内胚葉		肝芽細胞	

*Poly-L-Ornithine **Poly-L-Lysine

図1. 三胚葉および分化細胞作成時の既存法(一例)とCegluを用いた本手法の比較

実施方法

※CegluまたはVitronectinで10継代以上維持培養したiPS細胞(253G1株)から三胚葉へ分化誘導を実施[1]。Ceglu使用時は、維持培養から分化誘導まで一貫してCegluを使用。

<外胚葉、神経前駆細胞>
文献に従い、Dual SMAD阻害法による分化誘導を実施[2]

<中胚葉、心筋細胞>
文献に従い、各種阻害剤を用いて分化誘導を実施[3]

<内胚葉、肝芽細胞>
文献に従い、低酸素環境とサプリメントを組み合わせた手法で分化誘導を実施[4]

Copyright© SEKISUI CHEMICAL. CO., LTD.

結果

● 三胚葉への分化

Ceglu上で維持培養したiPS細胞を用いて、三胚葉へ分化誘導を行いました。各種分化マーカー発現を本手法と既存法の比較によって評価しました。神経外胚葉への分化では、SOX1、PAX6やNES等の分化マーカーの発現が確認されました(**図2**)。心臓中胚葉への分化では、中胚葉の分化マーカーであるT(Brachyury)の発現が確認されました(**図3**)。また、心臓中胚葉や心筋細胞に特徴的なNKX2.5やTNNT2の発現が確認されました。肝内胚葉への分化では、SOX17、CXCR4やFOXA2等の分化マーカーの発現が確認されました(**図4**)。

Ceglu を用いた本手法では、既存法と同様の分化マーカーの発現が確認され、同一の足場材料においても三胚葉へ分化可能であることが示されました。

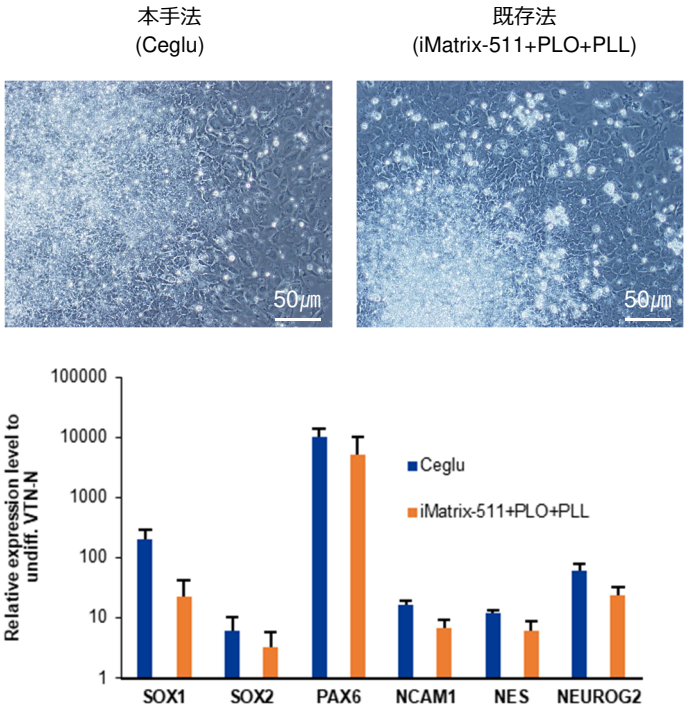


図2. 神経外胚葉の細胞形態と分化マーカー発現

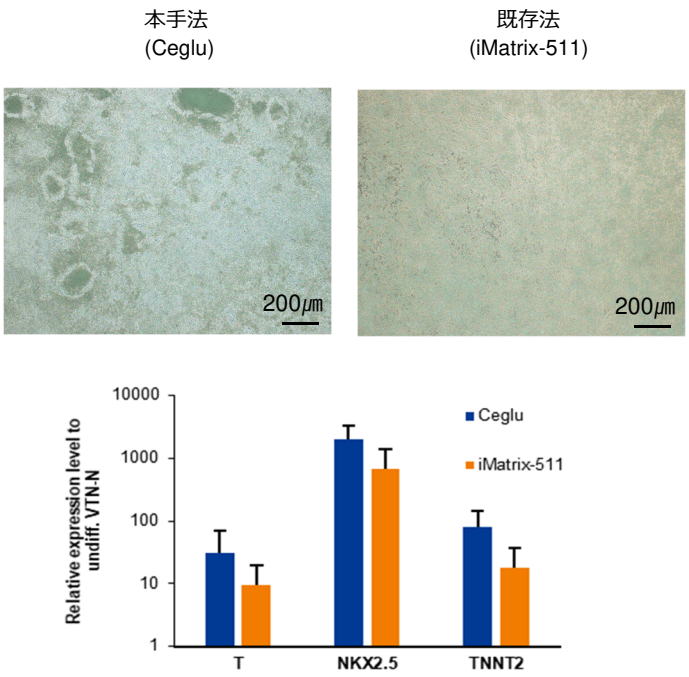


図3. 心臓中胚葉の細胞形態と分化マーカー発現

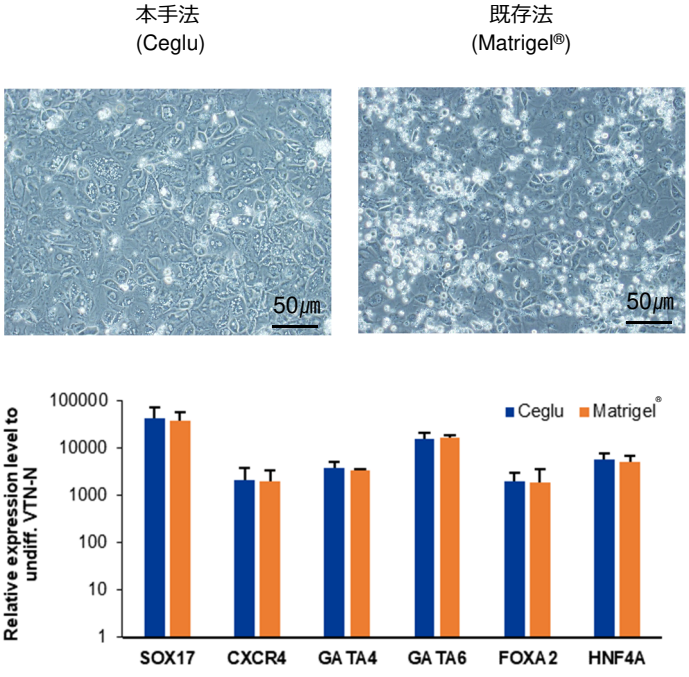


図4. 肝内胚葉の細胞形態と分化マーカー発現

結果

● 各細胞(神経前駆、心筋、肝芽細胞)への分化

Ceglu上で分化した三胚葉を用いて、各細胞へ分化誘導を行い、本手法と既存法における細胞形態と分化マーカーの発現を評価しました。神経前駆細胞への分化では、ロゼット状のコロニーを形成し、β-Ⅲチューブリンの発現が確認されました(**図5**)。心筋細胞への分化では、細胞塊の拍動が確認され、cTnTの発現を認めました(**図6**)。肝芽細胞への分化では、多角形の細胞形態やタイトな細胞間接着を認め、FOXA2の発現が確認されました(**図7**)。

これらの結果から、分化工程におけるCegluの適用性が示唆されました。Cegluを用いることで、維持培養から分化誘導まで一貫した足場環境の実現が可能になります。

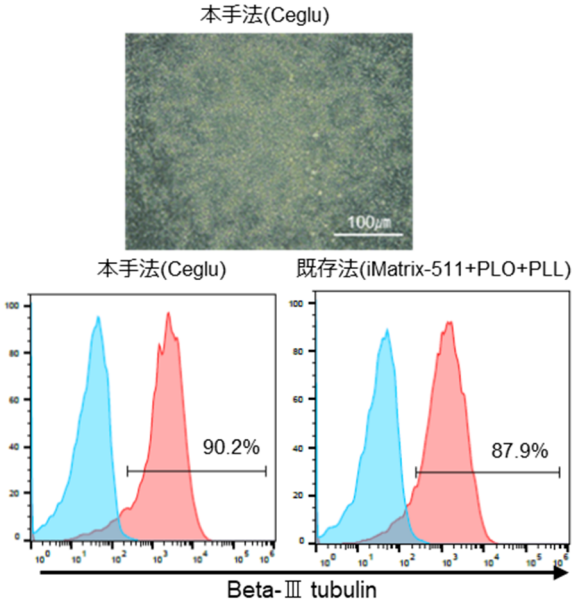


図5. 神経前駆細胞の細胞形態と分化マーカー発現

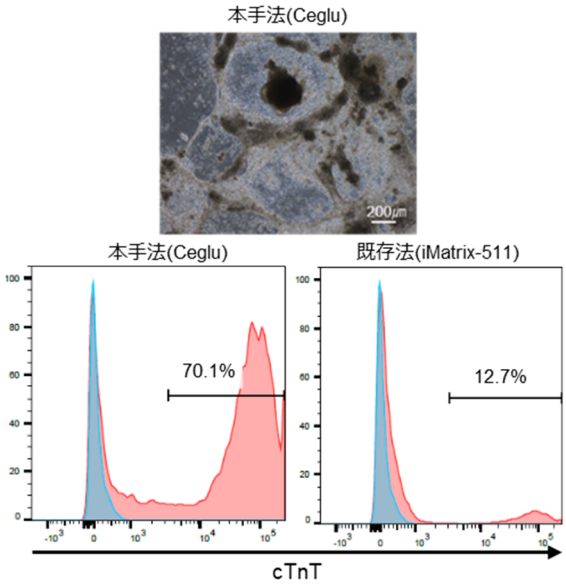


図6. 心筋細胞の細胞形態と分化マーカー発現

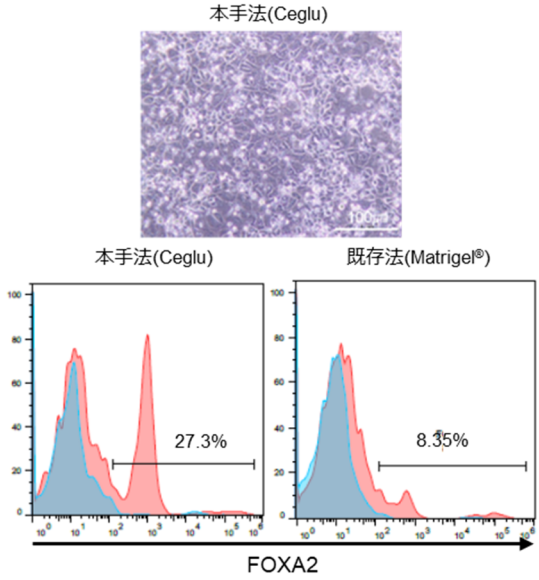


図7. 肝芽細胞の細胞形態と分化マーカー発現

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. *Scientific Rep.* 2022, 15, 12, 2516
2. *Nat. Biotechnol.* 2009, 27, 3, 275-280
3. *Nat. Protoc.* 2013, 8, 1, 162-175
4. *Hepatology* 2010, 51, 1, 297-305

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。