Application Note

# 化学合成足場材Ceglu™ を用いたiPS細胞の樹立

## 背景

iPS細胞の作製(樹立)は、その安全性や品質が後のアプリケーションに影響をもたらすため、再生医療や創薬において重要な工程の一つです。初期化因子の導入には、ゲノム障害性リスクが低く、導入効率で優れるセンダイウイルス(SeV)ベクターが用いられます。しかし、その残存は安全性や品質の観点で懸念があり、早期に消滅させる必要があります。今回、Ceglu™を用いて、細胞に残存したSeVベクターが早期に消失する、新たな樹立方法を確立しました。

**KeyPoint**
- ✓ **ウイルスベクター使用量の削減**
- ✓ **ウイルスベクター早期消失**
- ✓ **高純度iPS細胞の樹立**

## 実施方法

※本樹立方法は、Cegluを使用する接着細胞を原料とした手法です。
Cegluでは、従来の浮遊細胞を用いた樹立も可能です。

1. 研究用凍結PBMCをCeglu multiwell plate へ播種(**図1**)
2. 5日間培養後、培地交換で浮遊細胞を除去し、接着細胞を確認
3. ウェル内に、SeVベクター(ときわバイオ社、SRV™ iPSC-4 Vector)を添加

※接着細胞を使用するため細胞回収の手間を省くことができます。

4. 2時間静置し感染
5. SeVベクターを洗浄除去し、培地交換
6. iPS細胞用の培地に徐々に切換えながら培養
7. 感染約2週間後にコロニーを剥離して継代(P0)

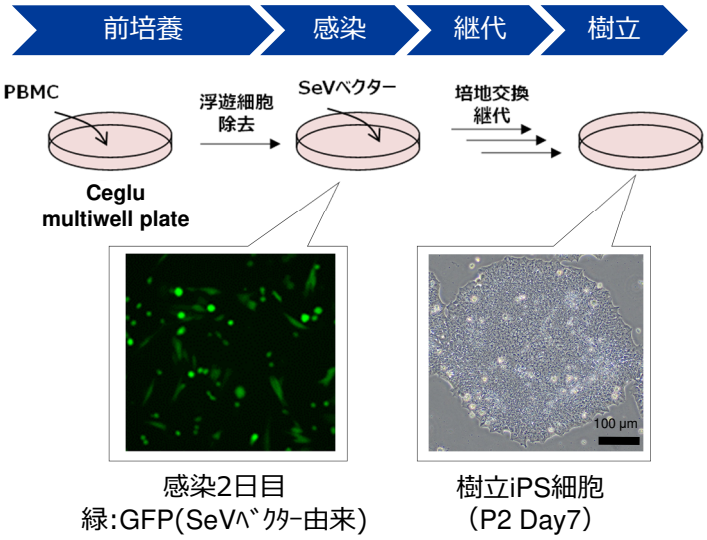



**図1.** Cegluを用いたiPS細胞樹立方法と細胞像

## 結果

### ● ベクター使用量とiPS細胞の増殖性

Cegluを用いた上記方法において、ベクター使用量と樹立iPS細胞の増殖性の関係を評価し、ベクター使用量の削減を検討しました(**図2**)。その結果、Ceglu上に接着した細胞でSeVベクターを感染させる本手法によって増殖性の高いiPS細胞を樹立できることを確認しました。また、ベクター量を削減しても、増殖性を保ったiPS細胞が得られることを確認しました。これは、Cegluが樹立に適した環境を提供することで、樹立効率が高くなることを示唆しています。そのため、96-well plateのような小スケール培養においても、品質の良いiPS細胞の樹立をサポートし、実験コスト削減にも貢献できます。

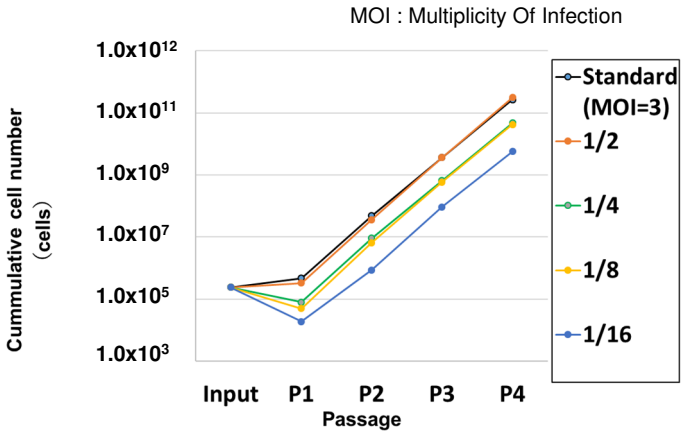



**図2.** SeVベクター使用量とiPS細胞の増殖性

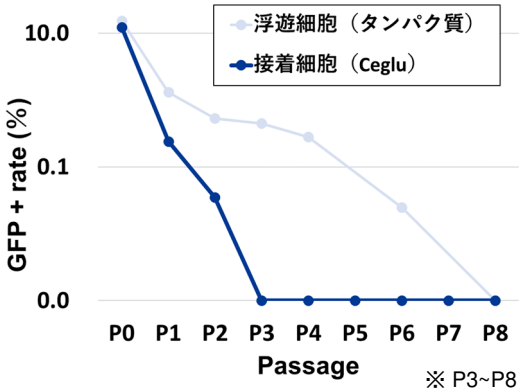
Copyright© SEKISUI CHEMICAL. CO., LTD.

## 結果

※従来の浮遊細胞からタンパク質系の足場材上でiPS細胞を樹立し、維持培養した比較データを示しています。

### ● ウイルスベクター残存率

Ceglu上で樹立したiPS細胞のベクター残存率をGFP遺伝子を搭載したSeVベクターを用いて、評価しました(**図3**)。Ceglu上で樹立したiPS細胞は、P3以降、ベクター由来GFPの蛍光が検出されないことを確認しました。この結果は、浮遊細胞を用いた従来の樹立方法よりも、ウイルスが早期に消失することを示唆しています。




※ P3~P8 : N.D.

**図3.** SeVベクター残存率

### ● 未分化マーカー陽性率

得られたiPS細胞について、未分化マーカーTRA-1-60の陽性率を経時的に評価しました(**図4**) [1] 。Cegluを用いた方法で得られたiPS細胞は、P1時点から高いTRA-1-60陽性率を示し、高純度のiPS細胞が早期に得られる傾向を確認しています。

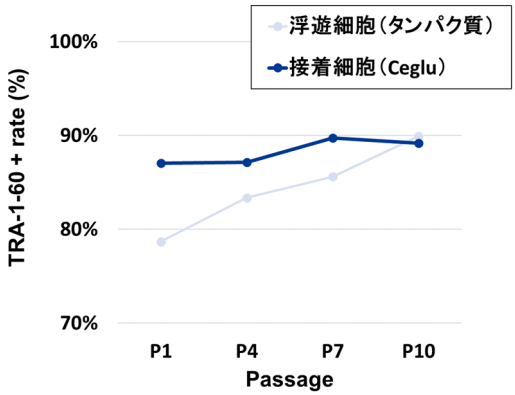



**図4.** 未分化マーカー陽性率

### ● 胚様体 (EB)形成能

それぞれのiPS細胞を超低接着性培養表面の96-well plate(Corning®社製ULAプレート)に播種し、胚様体(EB)の形成能を評価しました(**図5**) [2,3] 。Cegluで樹立したiPS細胞は球形のEBが再現良く得られました。一方で、浮遊細胞から樹立したiPS細胞ではEB形成を認めませんでした。この結果は、Cegluを用いた本方法が神経オルガノイドなど胚様体を経る分化アプリケーションの効率化に有用な可能性を示唆しています。

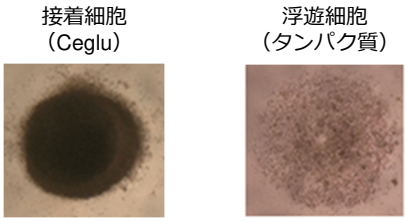



**図5.** EB形成の確認* *n=6
（超低接着容器に播種して実施）

## 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. *Regen. Med.* 2018, 13, 7, 859-866
2. *PNAS.* 2013, 110, 50, 20284-20289
3. *Sci. Rep.* 2018, 8, 241



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。