Application Note

化学合成足場材 Ceglu™を用いた間葉系間質細胞の培養

背景

MSC(間葉系間質細胞, 旧称:間葉系幹細胞) は、抗炎症作用や組織修復効果が期待されており、さまざまな疾患の治療に応用できる可能性があります。しかし、臨床応用には、より高い細胞品質を維持しながら、患者1人あたり数億個以上の細胞を大量に培養することが求められています。

本検討では、様々な基材にコーティング可能な化学合成足場材[1] Ceglu™を用いて、MSCの培養、分化を検討しました。他の足場材との培養性の比較とともに、細胞表面マーカーおよび、三方向分化能を確認しました(**図1**)。

KeyPoint
- ✓ **プレコート不要な化学合成足場材**
- ✓ **従来の表面処理やタンパク質性足場と同等のMSC培養性**

実施方法

● **凍結保存細胞からの培養**

1. 凍結保存細胞から融解したMSC(脂肪組織由来)を5,000 cells/cm²の密度でCeglu multiwell plate(6-well)に播種
2. 3日間培養後、細胞を剥離し[2]、新しいCeglu multiwell plate(6-well)に5,000 cells/cm²の密度で継代*
3. 3日間培養後、細胞形態を観察し、細胞数をカウント
4. カウントした細胞をフローサイトメトリー(FCM)を用いてCDマーカーの発現を確認

*MSCの剥離条件を検討される際の参考情報として、『ユーザーガイドプラス(MSC培養における剥離条件)』をご用意しています。詳しく知りたい方は、Ceglu製品サイトをご覧いただくか、直接お問合せください。

● **三方向分化 (脂肪・骨芽・軟骨)**

1. 脂肪細胞分化と骨芽細胞分化は、メーカーの推奨細胞数をCeglu multiwell plate(12-well, 開発品)に播種。軟骨細胞分化は96-well低接着プレートを用いてメーカー推奨細胞数を播種
2. 推奨細胞密度に達した後、3日もしくは4日ごとに誘導培地を交換して培養
3. (a) Day13にCeglu上の細胞を固定、脂肪細胞はオイルレッド、骨芽細胞はアリザリンレッドで染色
3. (b) Day21に低接着プレートの細胞を固定、軟骨細胞をアルシャンブルーで染色

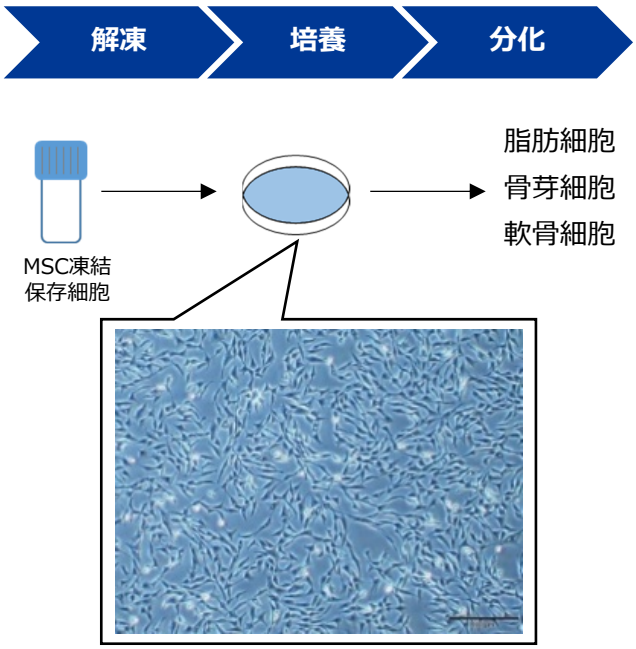


図1. 本実験フローとMSCの細胞像

Copyright© SEKISUI CHEMICAL. CO., LTD.

結果

● **凍結保存細胞からの培養性**

凍結保存したMSCを用いて、フィブロネクチン(FN)、CellBind®、Ceglu上で培養を行い、細胞形態や増殖性を確認、CDマーカーの発現を評価しました。Ceglu上で培養したMSCは、他の足場材と同様の細胞形態を示し、増殖性も同等レベルであることを確認しました(**図2**)。また、CDマーカーの発現では、ポジティブマーカーであるCD73、CD90、CD105が95%以上、ネガティブマーカーであるCD14、CD34、CD45は1%以下であり、国際細胞治療学会(ISCT)の基準[3]をクリアしていることが確認されました(**図3**)。

● **三方向分化(脂肪・骨芽・軟骨)**

Ceglu上で培養したMSCを用いて、脂肪細胞、骨芽細胞および軟骨細胞*へ分化誘導を実施しました。分化後の細胞に対して、染色キットを用いた結果、脂肪細胞、骨芽細胞および軟骨細胞に対して、特徴的な染色が確認されました。

*軟骨細胞への分化誘導は低接着プレートを用いて実施

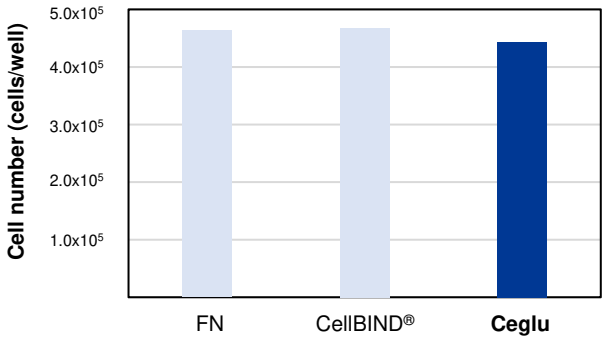


図2. 各種足場材上でのMSCの増殖性比較

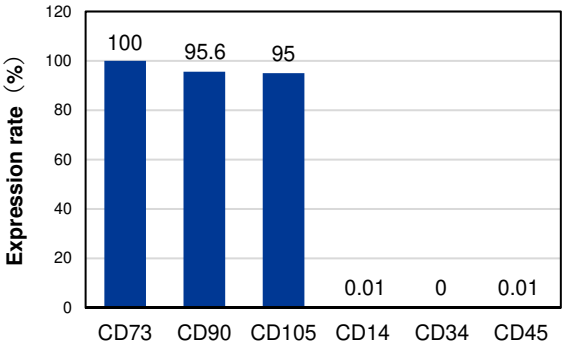


図3. Cegluで培養したMSCのCDマーカー発現

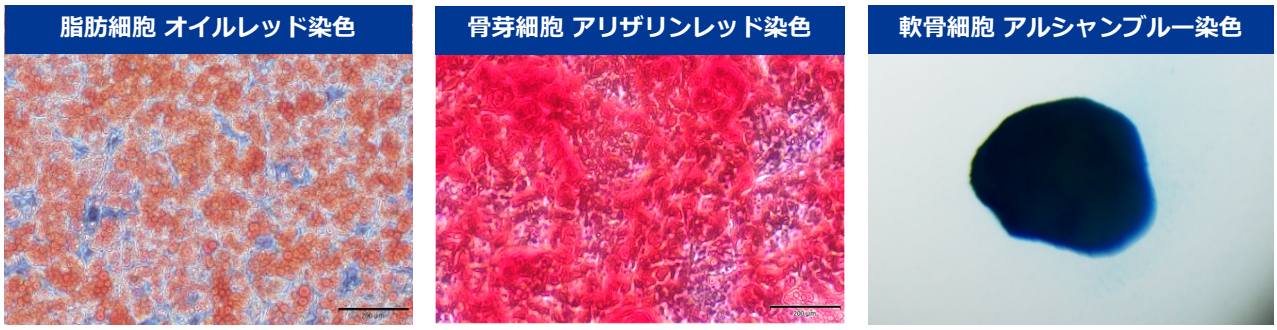


図4. Cegluで培養したMSCの三方向分化

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. ユーザーガイドプラス(MSC培養における剥離条件)
3. *Cytotherapy*, 2006, 8, 4, 315-317

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。