

大野 風実子¹, 中村 雄太², 柳澤 晃彦², 坂井 一郎¹, 北野 優子¹, 塚原 正義¹
¹(公財) 京都大学iPS細胞研究財団 研究開発センター, ²積水化学工業株式会社

1. 背景・目的

iPS細胞の培養及び分化誘導における手作業から閉鎖系自動培養装置へのプロセス移管を想定し、スケールダウンモデルの実用性を検証する。

手作業の培地交換

- ・ 作業者や実験間で差異あり
- ・ 培地の完全除去が可能
- ・ 細胞の状態に合わせた手技の調節が可能

手作業

ギャップ

・ 培地交換

- ・ 培養スケール
- ・ 容器の材質
- ・ 温度、ガス調節

自動培養装置

自動培養装置での培地交換

・ 実験間差が低減できる

バッチ交換

- ・ 手作業に似た動作を規則的な間隔でできる
- ・ 培地の完全除去は困難

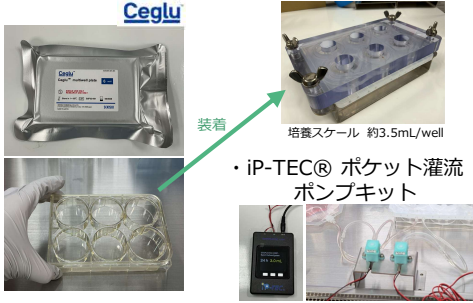
連続灌流

- ・ 手作業では不可能な低速度で常時交換

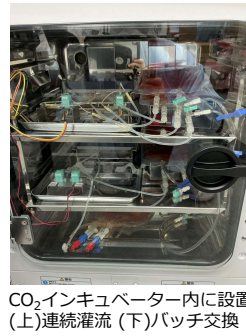
2. スケールダウンモデルの設計

◆ 資材

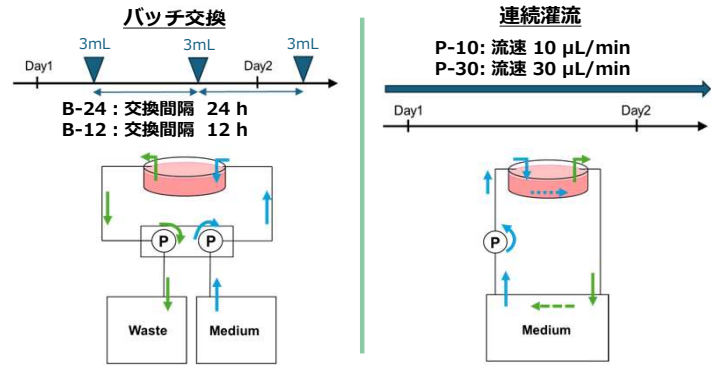
- ・ Ceglu™ multiwell plate (積水化学工業)
- ・ iP-TEC® 灌流アタッチメント (サンブラテック)



◆ 培養中のデバイス外観



◆ デバイス設定条件と流路図



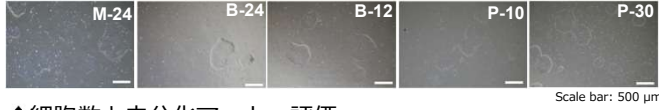
3-1. 検証 1 iPSCs培養

◆ 培養条件

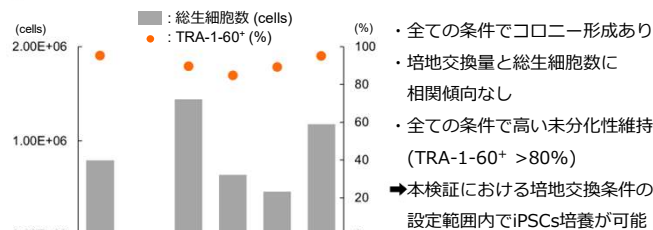
iPSCs維持培地		1日あたり交換量 (mL)
Day 0	iPSCs播種 (CFIS-S01) 1.5e4 cells/well	
Day 1		
Day 7		
手作業	M-24: 2 mL	
デバイス*	B-24: 3 mL B-12: 6 mL P-10: 14 mL P-30: 43mL	

※ポンプ設定値から算出

◆ Day7 細胞観察結果



◆ 細胞数と未分化マーカー評価



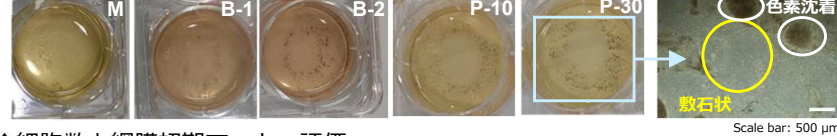
3-2. 検証 2 網膜色素上皮(RPE)分化

◆ 培養条件

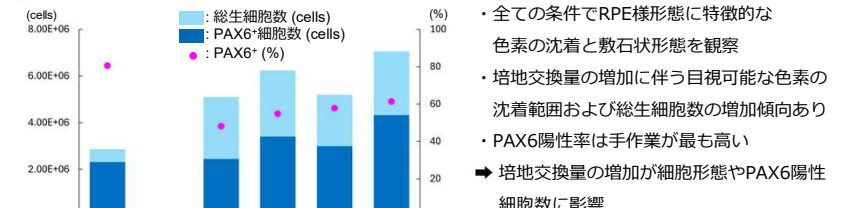
網膜色素上皮(RPE)分化		1日あたり交換量 (mL)
Day 0	iPSCs播種 (CFIS-S01) 3.0e5 cells/well	
Day 1		
Day 6		
Day 9		
Day 14		
Day 30		
手作業	M-24: 4 mL	
デバイス*	B-24: 3 mL B-12: 6 mL P-10: 14 mL P-30: 43 mL	

※ポンプ設定値から算出

◆ Day30 細胞観察結果



◆ 細胞数と網膜初期マーカー評価



4. 考察・まとめ・展望

◆ 考察

- ・ デバイスの使用は手作業では困難な高頻度での培地交換や常時交換を可能にし、RPE分化検証では、総生細胞数が増加することで、結果的にPAX6陽性細胞の回収数が増加する傾向が確認された。
- ・ RPE分化のように培養期間が長く、かつ培地の切り替えのある培養プロセスにおいては、培地交換の方法が培養結果に大きく影響する可能性が示唆された。

◆ まとめ

手作業から閉鎖系自動培養装置へのプロセス移管を行う上で、本スケールダウンモデルを用いた検証が、培地交換方法を決定するための実用的なアプローチとなりうることを示された。

◆ 展望

pHやグルコース、乳酸などの培地成分のモニタリングとフィードバック制御を導入することで、培地交換の自動化の有効性をさらに高められる可能性がある。

謝辞

本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED)、(課題番号 JP25bm1323001) の支援を受けて実施されました。また、本研究は京都大学iPS細胞研究財団への皆様からのご寄附により支えられました。ここに深く感謝申し上げます。

利益相反 (COI) 開示：本演題に関して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。