

iPS細胞の自動培養に向けた 蛍光指紋によるモニタリング検討

P-13-8

菅原 好美¹⁾²⁾, 堀込 純³⁾, 塚原 正義¹⁾

- 1) 公益財団法人京都大学iPS細胞研究財団 研究開発センター
- 2) 株式会社日立プラントサービス エンジニアリング事業部
- 3) 株式会社日立ハイテク

Introduction

めざす自動培養：フィードバック制御による自動培養

制御に向けた測定の課題

- リアルタイム
- 非侵襲 (インライン)
- 状態の定量化
- 網羅性



測定技術

項目\技術	- 本発表範囲 -				
	蛍光指紋 (EEM)	ラマン分光	培地成分分析	フローサイトメトリー	画像解析
対象	上清	細胞・上清	上清	細胞	細胞
リアルタイム性	○	○	○	×	○
侵襲性	○	○	○	×	○
定量性	○	△	○	○	△
網羅性	○	○	△	△	△
自動計測化	○	△	○	○	○

本研究では、フィードバック制御による自動培養実現に向けて、蛍光指紋によるiPS細胞の状態を把握する手法の検討を目的とする。

Material & Methods

iPS細胞培養



No.	条件名	MCパターン (●: MC実施)							
		Day1	Day2	Day3	Day4	Day5	Day6	Day7	Day8
①	毎日	●	●	●	●	●	●	●	●
②	無交換	-	-	-	-	-	-	-	-
③	後半のみ毎日	-	-	-	-	●	●	●	●
④	1回のみ交換	-	-	-	●	-	-	-	-
⑤	後半1日2回	-	-	-	-	●●	●●	●●	●●

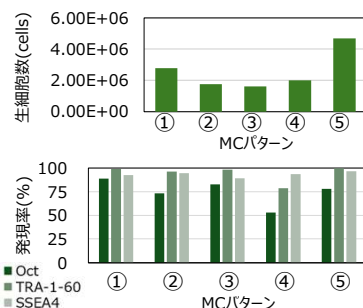
蛍光指紋 (EEM)



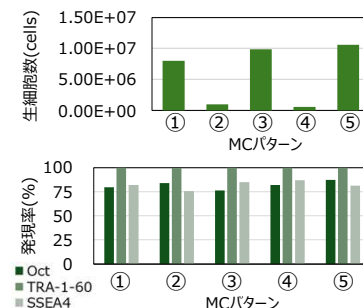
Result 1

Day8 iPS細胞の評価

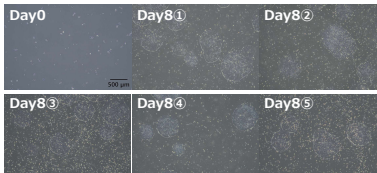
S01株



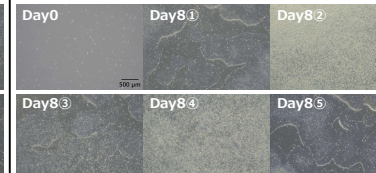
S03株



形態評価

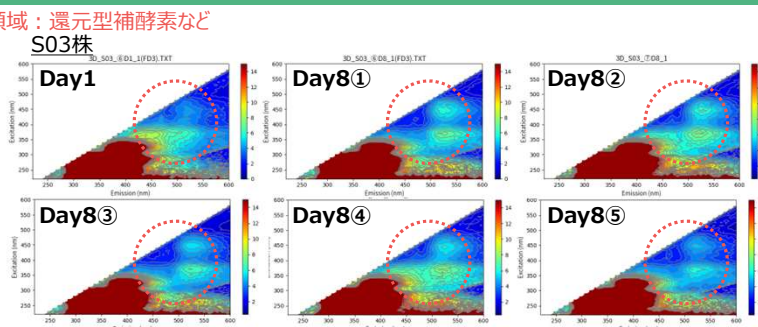
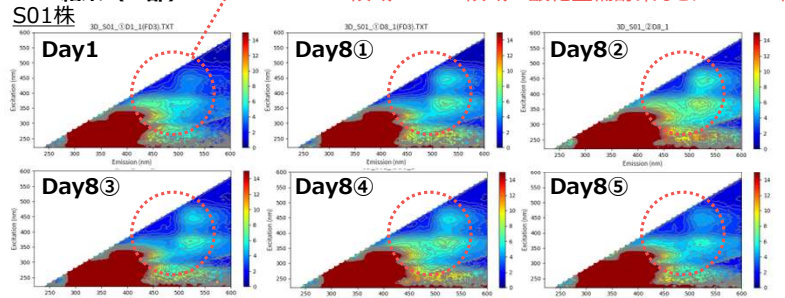


形態評価



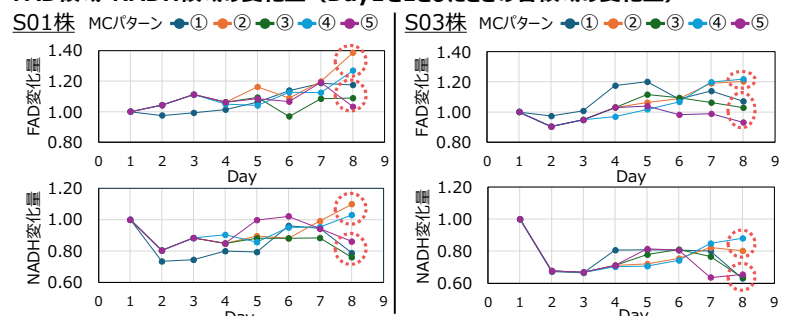
Result 2

EEM結果 (一部)



いずれの株もMCパターン②・④ (S03株では明らかに生育不良が起きている条件) では、赤枠のEEM領域FAD・NADHの蛍光強度の変化が大きい。

FAD領域・NADH領域の変化量 (Day1を1としたときの各領域の変化量)



FAD, NADHいずれもDay8ではMCパターン①・③・⑤と②・④で差が開く傾向

Conclusion

- 本研究では、複数の培地交換パターンにおけるEEMと培養状態の関係性を見出した。
- 具体的には、細胞の成育が不良と考えられるMCパターンでは、FADおよびNADH領域における蛍光強度変化が顕在化すること明らかになった。これらの結果からNADH・FAD挙動は代謝指標となる可能性がある。よって、蛍光指紋情報を用いた培養状態を定量的に推定できる可能性を見出した。
- 一方、フィードバック制御による自動培養への適用を見据えると、インラインモニタリングを実現するための技術的な接続・実装、および培養状態推定モデルの構築等に課題が残る。
- 今後はデータ蓄積とモデル化を進め、細胞状態に応じた自動培養への展開を目指す。

Acknowledgements

本研究はAMED課題番号JP 25bm1323001の支援を受けました。本研究は、多くの寄付者様の多大なご支援により実施されました。