

O-21-5

3D 条件で樹立した iPS 細胞（3D-iPSCs） の特性評価について

公益財団法人京都大学iPS細胞研究財団

北野 優子、瀧川 花穂、稲垣 梓、加藤 智朗、塚原 正義、高須 直子



公益財団法人

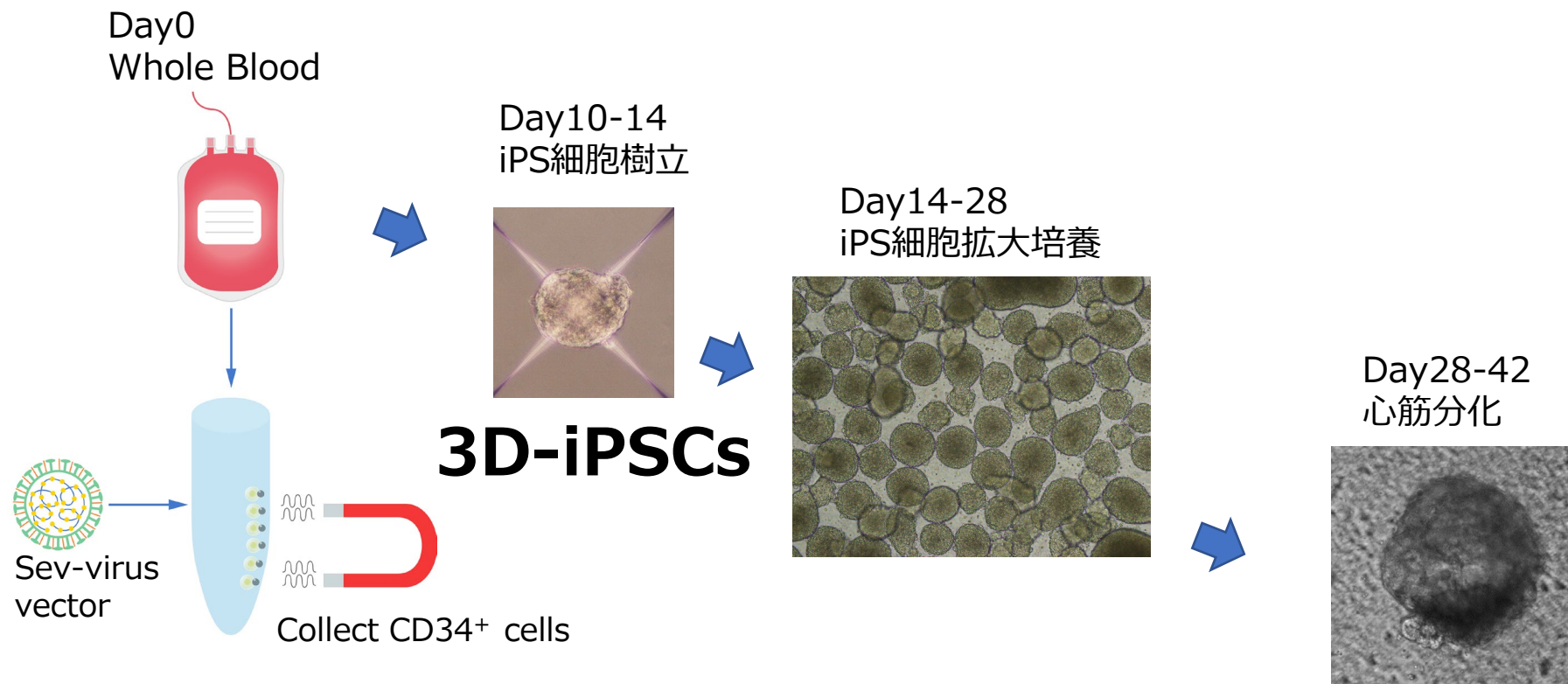
京都大学 iPS細胞研究財団

3D 条件で樹立した iPS 細胞（3D-iPSCs） の特性評価について

公益財団法人京都大学iPS細胞研究財団
北野 優子

**筆頭演者は、過去 1 年間（1月～12月）において、
本演題の発表に関して開示すべきCOIはありません。**

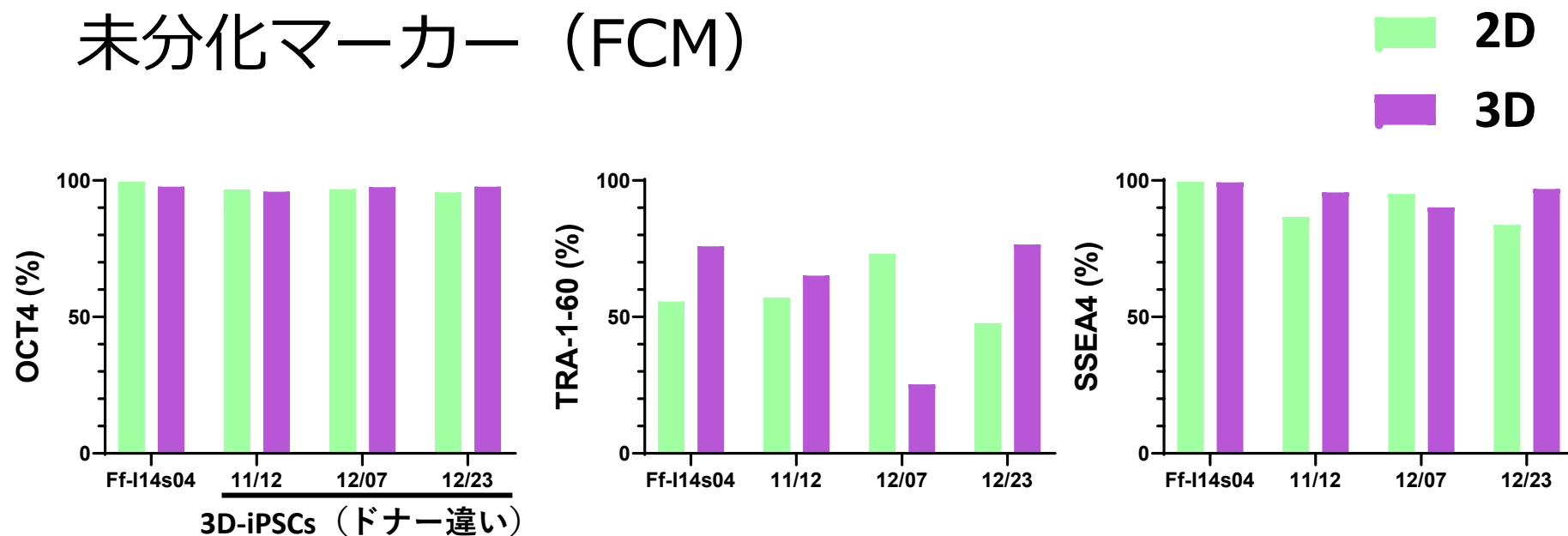
3D培養システムの開発



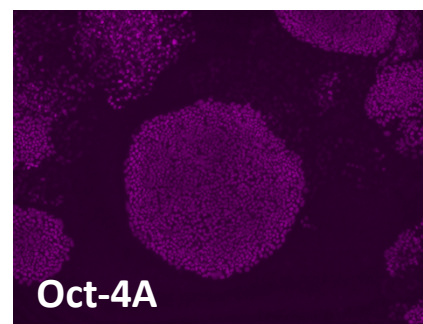
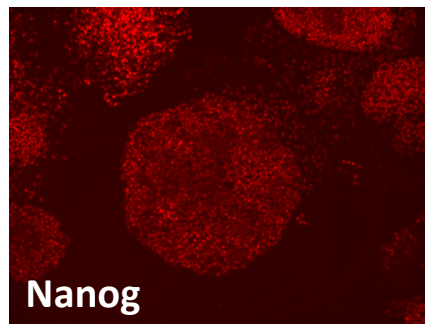
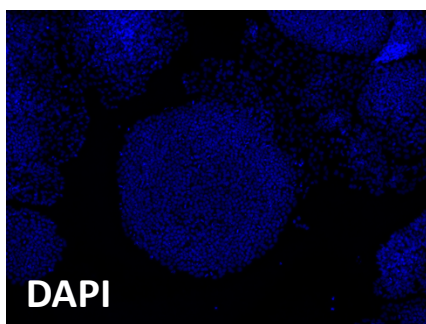
全工程を3D培養条件で実施可能

3D-iPSCsの特性

未分化マーカー (FCM)

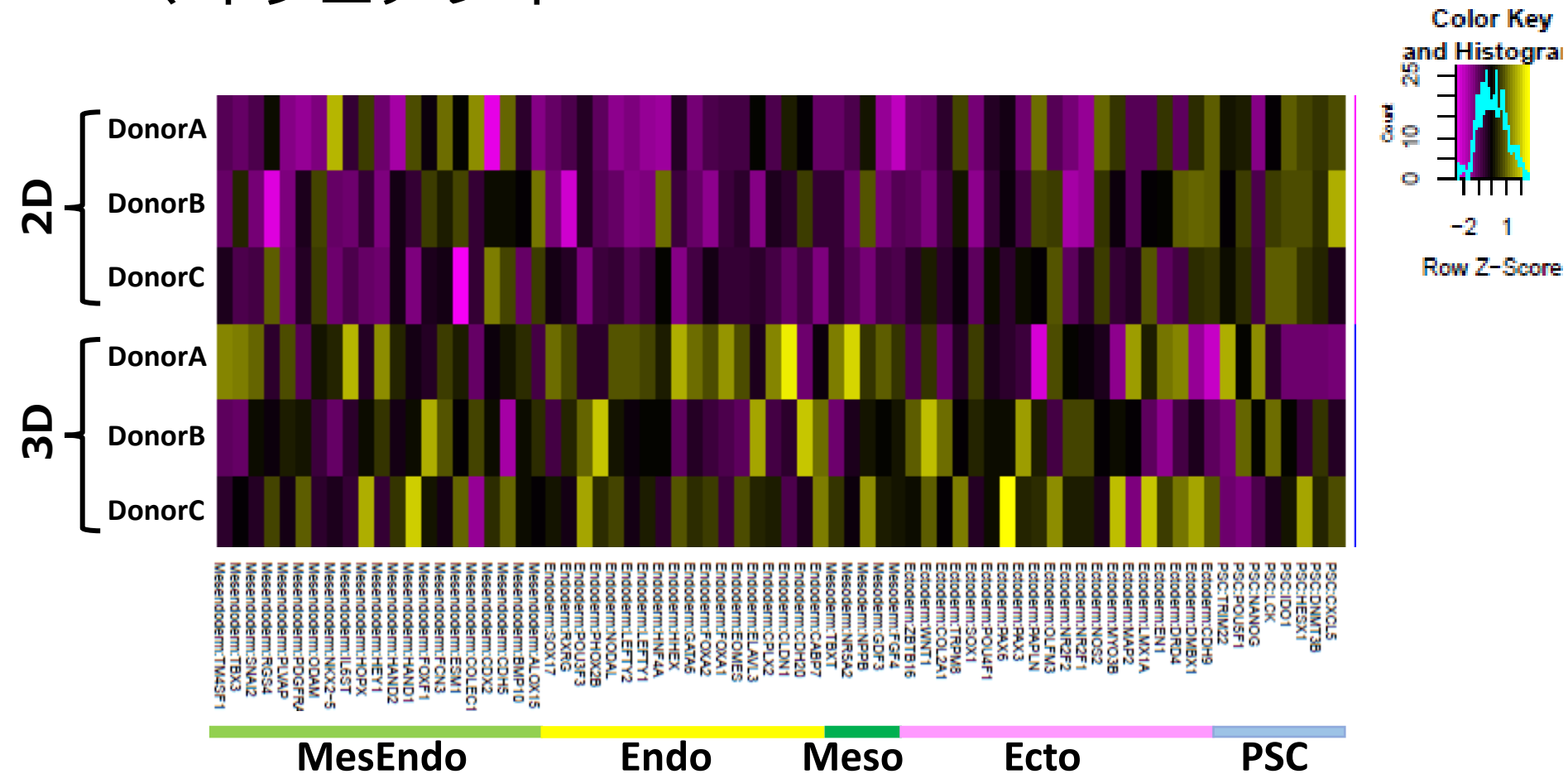


3D-iPSCs 免疫染色画像



3D-iPSCsの特性

マイクロアレイ



3D-iPSCsの特性

三胚葉分化 (STEMdiff™ Trilineage Differentiation Kit)

Ectoderm

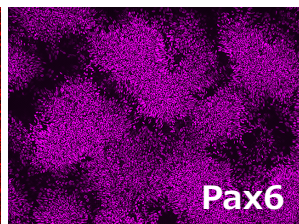
Mesoderm

Endoderm

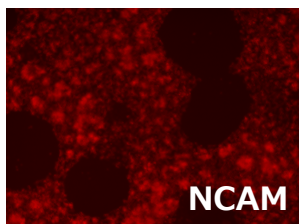
2D



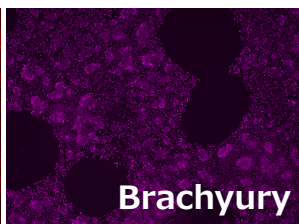
Nestin



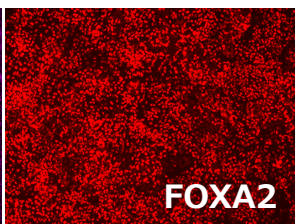
Pax6



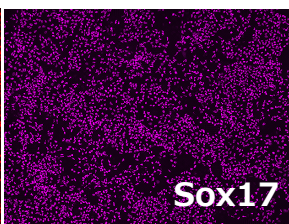
NCAM



Brachyury

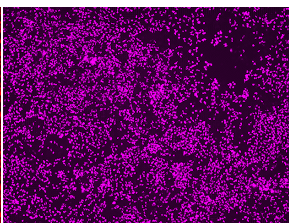
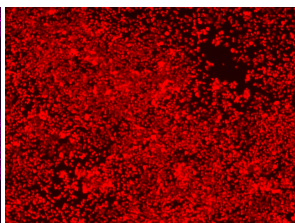
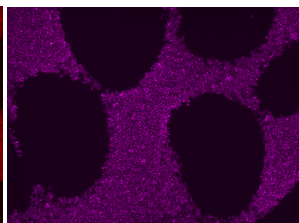
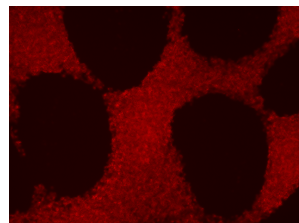
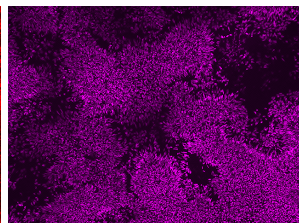
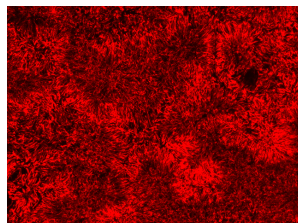


FOXA2



Sox17

3D

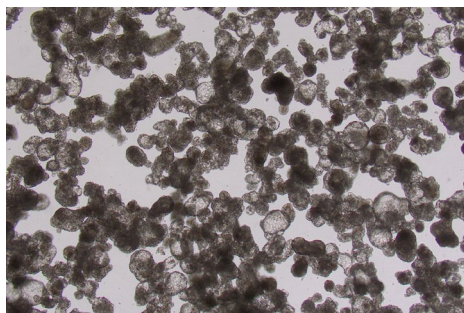


心筋分化 (Troponin-T)

2D

TnT

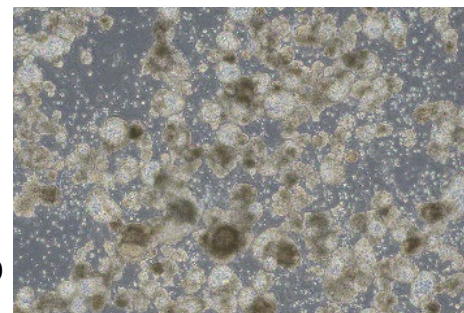
57.7 %



3D

TnT

40.2 %



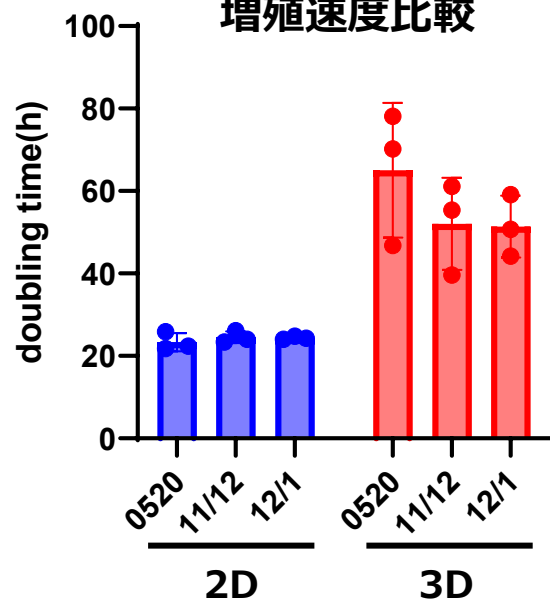
3D-iPSCsの課題

維持培養

培地検証

- ① StemFit AK03N(Ajinomoto)
- ② TeSR™-E8™3D(StemCell tech.)
- ③ StemMACS™ iPS-Brew(Miltenyi)

増殖速度比較

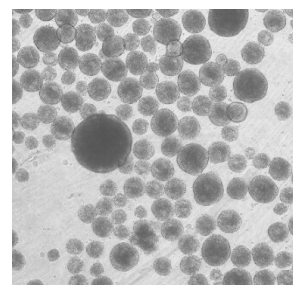
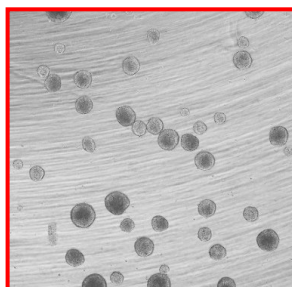


増殖スピードが遅い

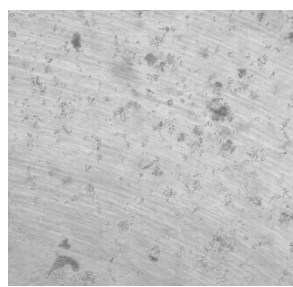
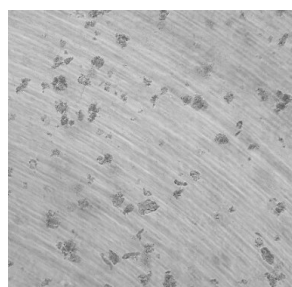
1e5 cells

1e6 cells

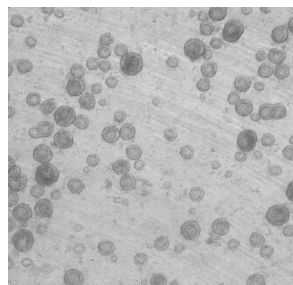
①



②



③



3D培養に特化した
培地共同開発

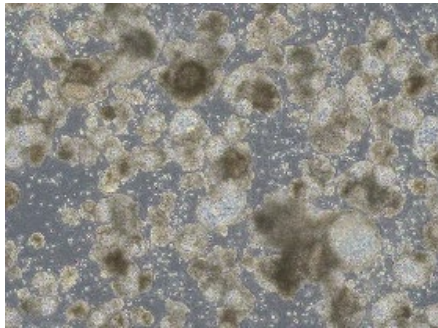
O-06-6

自動培養装置を用いた
心筋分化システムの開発
岡崎 友吾
ナカライテスク株式会社

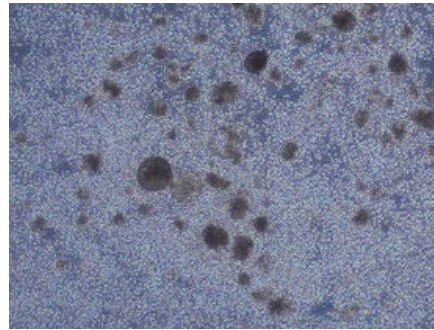
3D-iPSCsの課題

心筋分化

Good



Bad



誘導効率のバラつき

現行プロトコル：分化誘導前に高密度播種

ガス圧力細胞刺激装置 AGPシリーズ



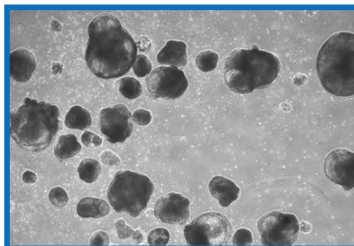
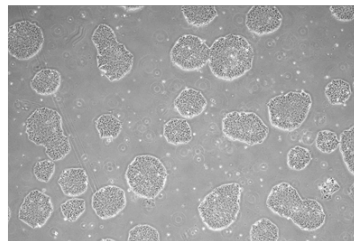
https://strex.co.jp/products/agp_series/

DAY 0

DAY 15

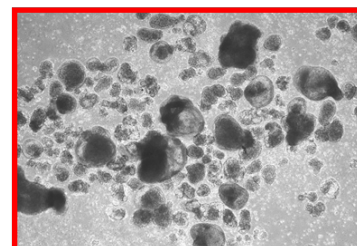
control

2.5×10^4 6days culture



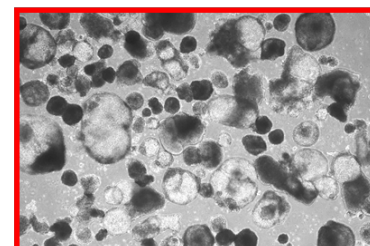
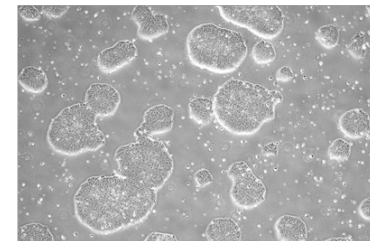
High conc.

1.0×10^5 6days culture



100mmHg 16h

2.5×10^4 6days culture



1. 末梢血から細胞接着を介さずにiPS細胞樹立(3D-iPSCs)
2. 3D-iPSCsの遺伝子発現は従来法(=2D)と異なる
3. 目的細胞(心筋)までの全工程を3Dで実施可能

今後

1. 3Dに特化した培地(樹立~維持培養~分化)
2. プロセス開発
3. 装置化