

細胞製造を指向した 多能性幹細胞用新規化学合成足場材の開発

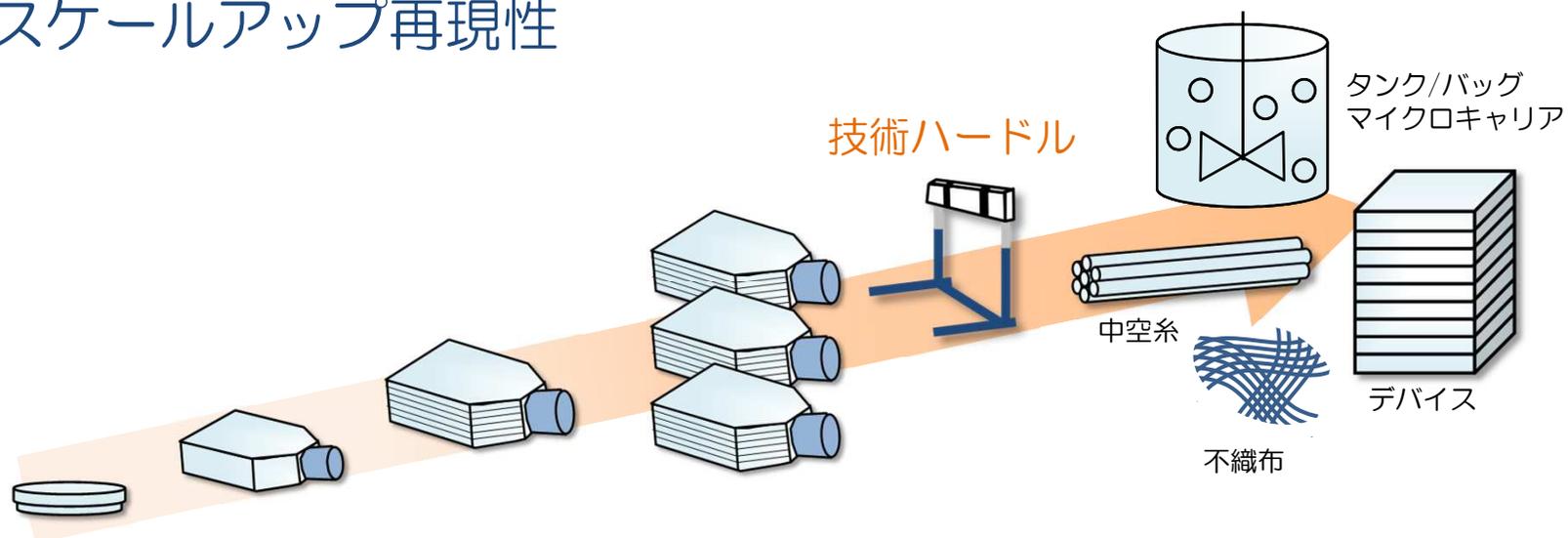
積水化学工業株式会社
○羽根田 聡、井口 博貴

京都大学 高等研究院物質－細胞統合システム拠点
長谷川 光一、清水 英子、Minh NT Le

京都大学 iPS細胞研究財団
塚原 正義、中島 義基

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。

◆スケールアップ再現性



ラボ～製造スケール間での培養再現性ハードルが存在

- ラボスケールは平面接着系
- 中規模スケールは大面積/多層容器
- 多様な大量培養系が存在も
ラボスケールと同じ培養表面の準備が困難

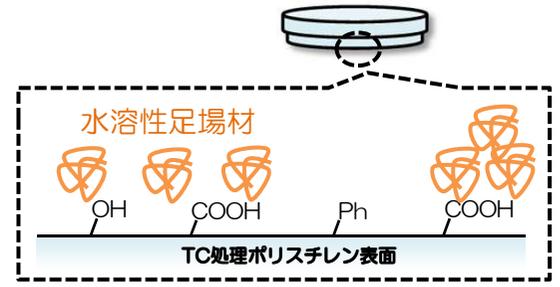
ラボ～製造まで一貫した培養表面、
すなわち、足場材の供給ニーズ有り



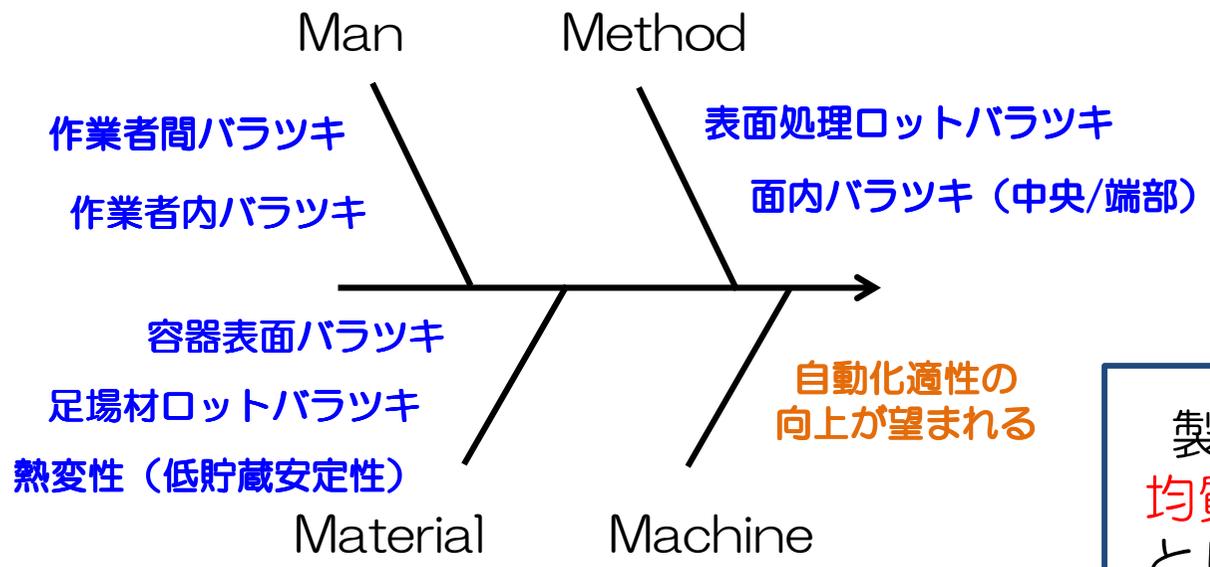
◆一般的に使用されている足場材料

- ラミネン
- ビトロネクチン
- マトリゲル
- ペプチドフラグメント

培養従事者が
水溶性物質を
培養容器表面に
自然吸着法で前処理



◆水溶性足場材課題（細胞製造時の想定不良モードの観点で）



製造細胞品質安定化には
均質な培養基材表面処理剤
としての足場材が好ましい



◆目指す姿

プラスチック足場材

- 水に不溶
- 塗工装置適用可能
- 培養容器/基材同等の取扱い性

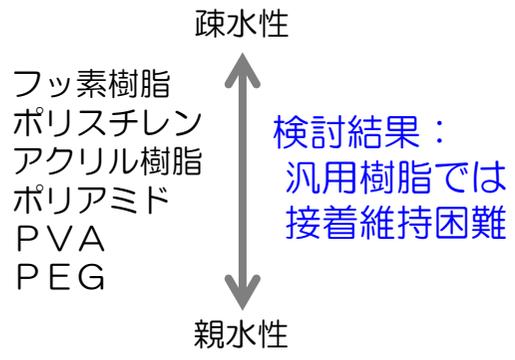
		設計方針	既報告		
		非水溶性樹脂	水溶性タンパク質	水溶性ペプチド	水溶性樹脂
培養性	ES/iPS細胞培養	○	○	○	○
安全性	水への溶出性	極小	大	大	大
	動物由来成分	不含	含	含/不含	含/不含
取扱い性	均質性	機械均質塗工	吸着ムラ	吸着ムラ	吸着ムラ
	スケールアップ性	高	低	低	低
	常温保管	○	×~△	△~○	△~○

均質なプラスチック足場材を開発し
再生医療の産業化へ貢献目指す



◆ベース樹脂設計

汎用樹脂検討



精密検討

生体親和性樹脂であるPVAをベースに精密検討

PVA：ポリビニルアルコール

CC(O)C

樹脂表面の水層に
弾かれ接着不可

疎水化

PVB：ポリビニルブチラール

CC(O)C(C)COC(C)C

適度な親疎水性で
ある程度接着/培養可

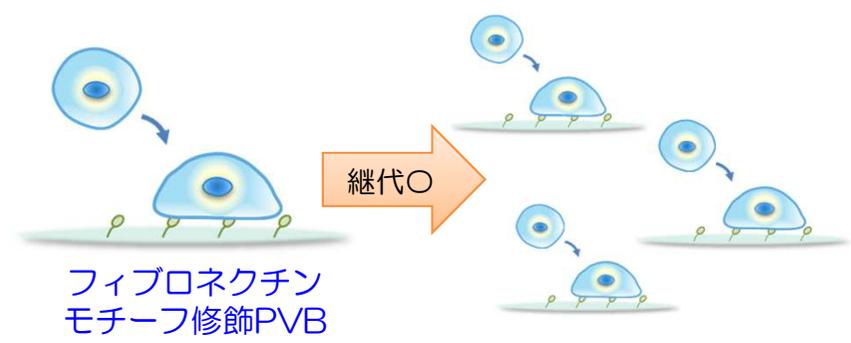
PVAの官能基制御により細胞表面との親和性高いPVB樹脂を見出した

◆継代培養/培養条件汎用化設計

長期継代や様々な培養条件（株/培地等）で汎用的に使用可能な足場材へ仕上げる必要あり

- 制御すべき接着因子
- ・インテグリン
 - ・接着斑
 - ・...etc

まずは汎用性の高い
フィブロネクチンモチーフに着目

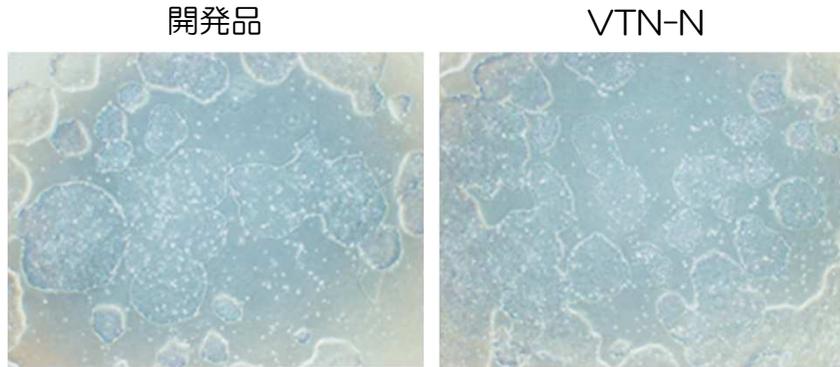
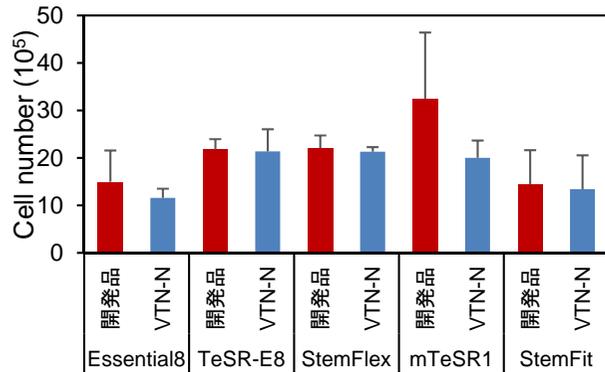


高細胞親和性疎水性樹脂ベースの
フィブロネクチンモチーフ修飾PVB



◆短期培養性

培地汎用性評価結果



無血清培地で培養可能

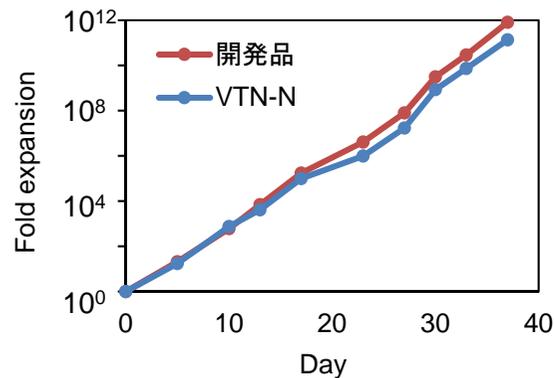
前培養

株: 201B7 (iPSC)
培地: StemFit
足場: imatrix-511:

評価条件

播種数: 5x10⁴ cells/well (12-well)
日数: day6

◆長期継代性

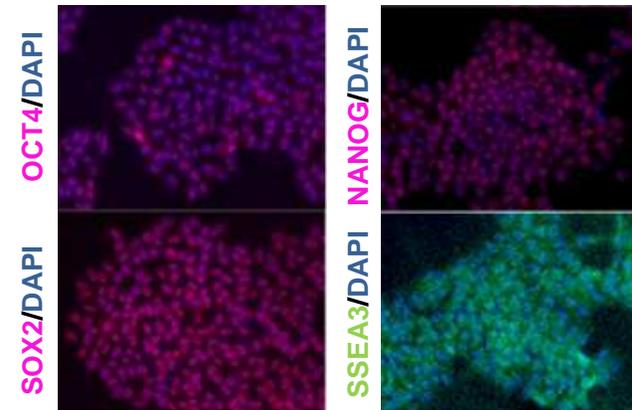


評価条件

株: 201B7(iPSC)
培地: Essential 8
播種数: 1~5x10⁴ cells/well (12-well)
日数: day3~6

長期継代性
ビトロネクチン同程度

◆免疫染色



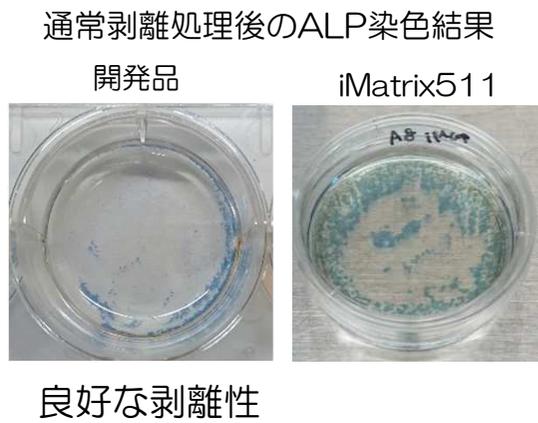
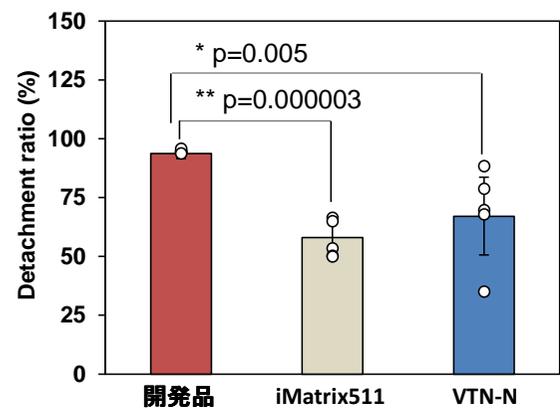
未分化
維持を確認

タンパク質足場材であるビトロネクチン同程度の培養性を確認



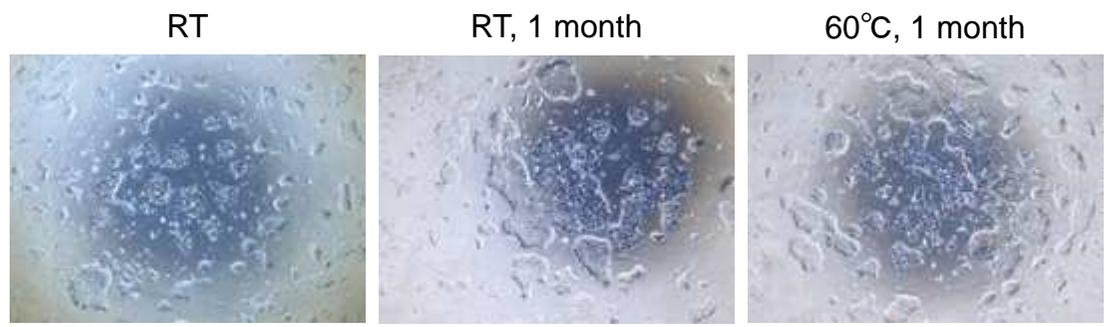
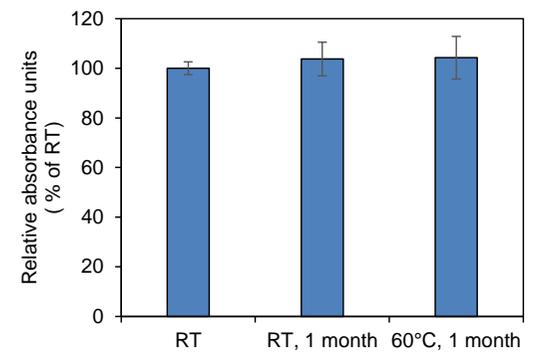
◆剥離性

Cell count 1 Cell count 2
通常剥離処理 → **完全剥離処理**
 0.5mM EDTA, r.t., 5min 0.5mM EDTA, r.t., 5min

$$\text{剥離回収率} = \frac{\text{Cell count 1}}{\text{Cell count 1} + \text{Cell count 2}} \times 100$$


◆貯蔵安定性

足場材処理済み培養プレートの室温保管ニーズに訴求



60°C加速試験で培養性変化なし
 →まだデータ蓄積必要であるが室温で数年は培養性能維持できる可能性高い

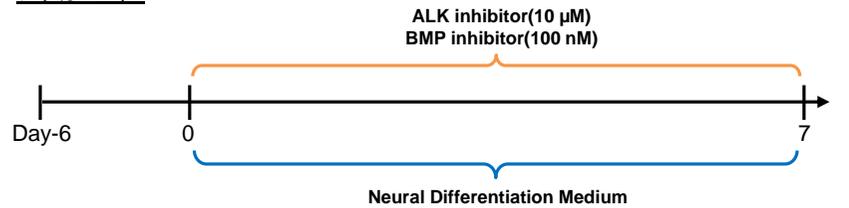
化学合成品の特徴活かした易剥離性/貯蔵安定性を確認



(前培養足場)
→(分化誘導足場)

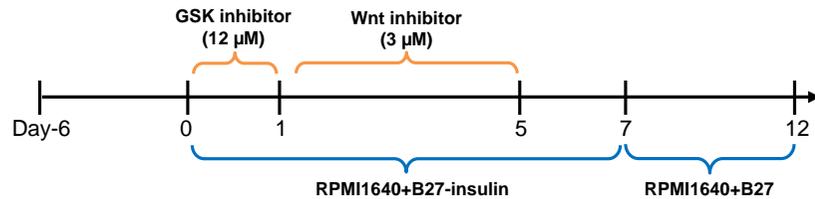
◆三胚葉分化性

外胚葉



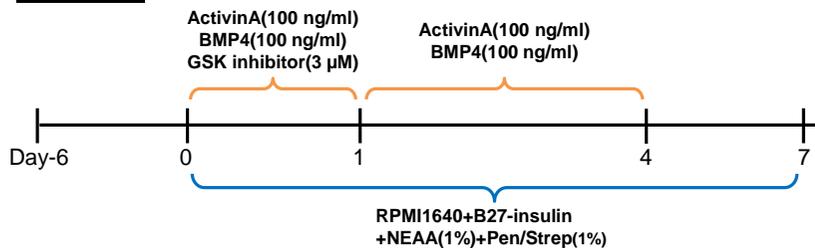
ref: S.M.Chambers et al., *Nat. Biotech.*, 2009, 27, 275

中胚葉



ref: X. Lian et al., *Nat. Protoc.*, 2013, 8, 162

内胚葉



ref: K.Si-Tayab et al., *Hepatology*, 2010, 51, 1094

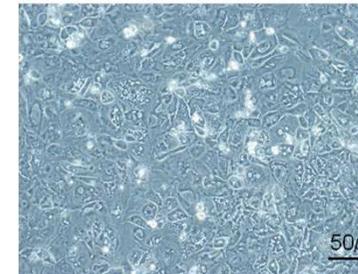
開発品
→開発品



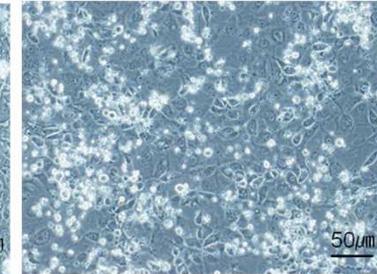
VTN-N
→iMatrix511+POL+PLL



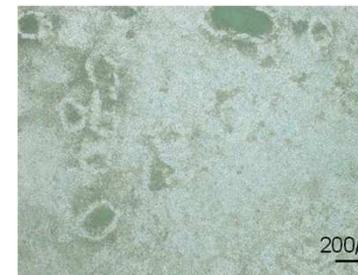
開発品
→開発品



VTN-N
→Matrigel



開発品
→開発品



VTN-N
→iMatrix511

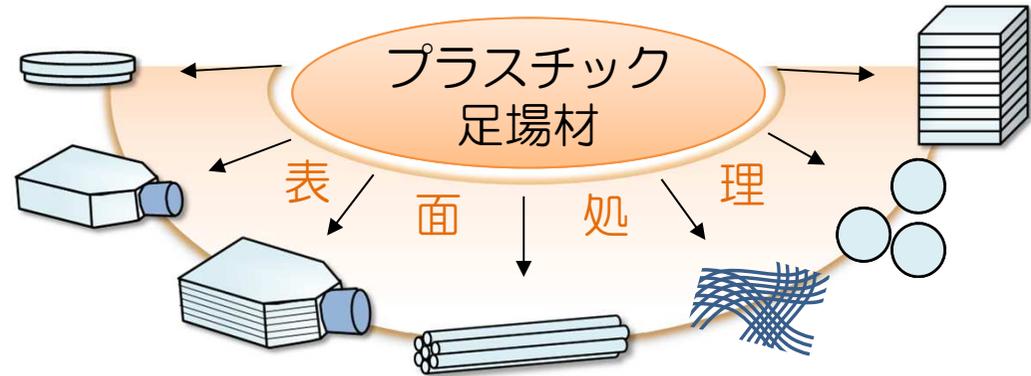


前培養～分化誘導が同一足場材上で可能、三胚葉分化確認

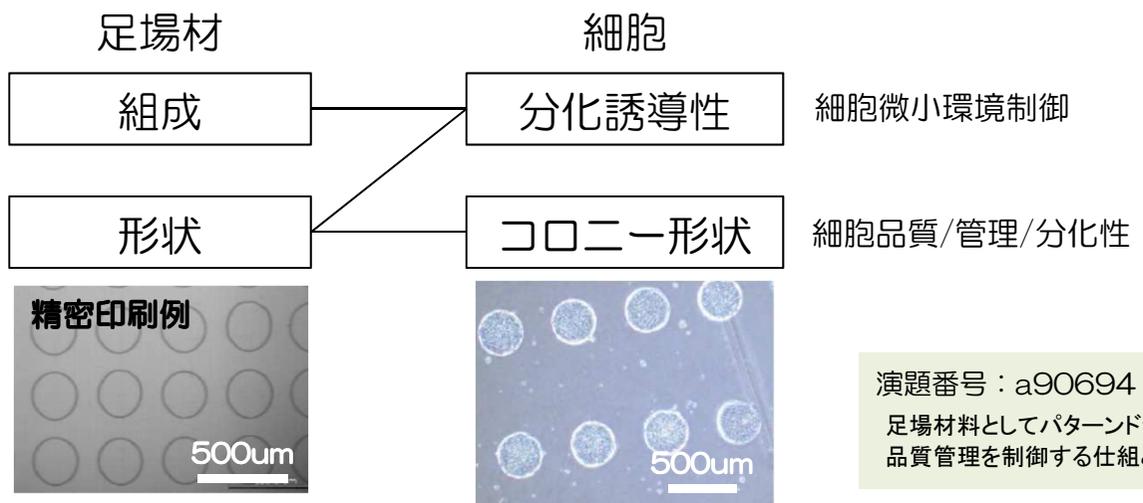


◆培養容器/基材表面処理剤として適応

ラボ～製造スケールまで対応可能な培養表面プラットフォーム化



◆細胞品質/機能制御足場材への展開



演題番号：a90694
 足場材料としてパターンドットを生かした臨床用iPS細胞製造の品質管理を制御する仕組みの理解をめざして



◆研究開発成果

- 細胞製造の足場材ニーズに対応可能な表面処理剤としてのプラスチック足場材の開発を行った
- 生体親和性材料として知られるPVAの官能基制御により、細胞親和性の高いPVB樹脂を見出した
- 培養汎用性を高めたフィブロネクチン修飾PVBは既存水溶性タンパク質同等の培養性に加え、易剥離性や高い貯蔵安定性を示した
- 三胚葉分化性を示し、前培養～分化誘導工程が同一足場材上で可能であることがわかった

◆今後の展望

- 細胞製造用途で使用可能な製品設計の検討
 - 安全性の確認
 - GMP対応
 - 各培養系への適用
- 足場材としての高機能化
 - 更なる培養性の改善
 - 足場形態によるコロニー形状制御
 - 分化誘導制御（細胞微小環境制御）

再生医療の産業化へ貢献のため
オープンイノベーションを目指す

希望連携分野

細胞製造を目指した下記ご研究の
産学官の方々
臨床～基礎研究
大量培養
装置設計
ペプチド設計

本開発品に関するお問い合わせ

積水化学工業(株) R&Dセンター 先進技術研究所
ライフサイエンス開発センター 足場材開発チーム
主担当: 羽根田

minase_cds_adv@sekisui.com, 075-962-8921



本研究を行うに際し多大なるご理解とご協力を頂きました皆様に心より御礼申し上げます。

京都大学 高等研究院物質—細胞統合システム拠点 特定教授
量子ナノ医療研究センター リーダー
カリフォルニア大学ロサンゼルス校 教授
玉野井 冬彦 先生

京都大学 高等研究院物質—細胞統合システム拠点
大阪大学 医学研究科 心臓血管外科
吉田 則子 様

積水化学工業株式会社
R&Dセンター 先進技術研究所
岡本 隆介 様、松井 慶枝 様、小林 大悟 様、中村 雄太 様、
新井 悠平 様、辨野 聖子 様、高倉 健太 様

高機能プラスチックカンパニー 開発研究所
大村 貴宏 様、山内 博史 様

世界にまた新しい世界を。

A new frontier, a new lifestyle.

SEKISUI