

ヒト多能性幹細胞の拡大培養法の簡便かつ低コスト化に成功 — 培養基質のコーティングを必要としない培養法を開発 —

ポイント

- ・ヒト多能性幹細胞(ES細胞・iPS細胞)の培養操作の簡便化と低コスト化が可能に。
- ・培養基質¹をコーティングせず培養液に添加するのみで、従来の培養法と同等以上のヒト多能性幹細胞の接着が可能に。
- ・従来のコーティング処理と比べ、より少ない培養基質の使用量で細胞接着が可能に。

概要

京都大学(総長:山極壽一)のウイルス・再生医科学研究所 末盛博文准教授、物質—細胞統合システム拠点 宮崎隆道特定拠点助教らは、培養基質のコーティング処理を必要としない、ヒト多能性幹細胞の拡大培養法を開発しました。この技術は、多能性幹細胞の日常的な培養維持に加え、創薬・細胞治療などに応用するにあたり細胞を大量生産させる工程において、培養操作の簡便化および低コスト化に寄与することが期待されます。

この成果は英国科学誌 *Scientific Reports* に掲載されました。

1. 背景

ヒト胚性幹(ES)細胞や人工多能性幹(iPS)細胞のような多能性幹細胞を創薬や細胞治療などに応用するには、非常に多くの数の細胞を生産する必要があります。これら多能性幹細胞を拡大維持するには、培養容器への多能性幹細胞の接着性を高め、生存性を向上させるのに適した培養基質を、容器内に予めコーティングしておく必要があります。多能性幹細胞の維持培養に適した培養基質としては、ラミニン 511²の組換えタンパク質断片(商品名:iMatrix-511,ニッピ)、あるいはラミニン 521 やビトロネクチンが知られていますが、これら培養基質の容器へコーティングには通常、培養細胞を移し替える(以下、継代)直前に1時間から一晩、緩衝液に溶解させた状態で恒温処理する工程が必要とされます。この工程のため、多能性幹細胞の培養操作には時間と手間を要しました。

本成果では、培養基質の培養容器へのコーティング処理を不要とし、多能性幹細胞を継代する際に培養液にラミニン 511 断片溶液を添加するのみで(図1)、これまでと同様に安定した多能性幹細胞の接着培養が可能になることを見出しました。更には、ラミニン断片を添加法で利用する方が、従来のコーティング処理よりも少ない使用量で、多能性幹細胞の最大接着効果が得られることを見出しました。また、使用した培養基質の中、ラミニン断片のみが添加法で効率的に機能することを明らかにしています。

¹ 接着性細胞が接着、生存、増殖するための足場となり得る基材。培養容器に予めコーティングすることで、細胞の継代における再接着を促す。

² 多くの細胞が足場としている、α鎖、β鎖、γ鎖から成る三量体タンパク質で、組織外側の境界にある基底膜を構成する成分。細胞の種類や状態により、結合に適するラミニンの三量体構成が異なる。未分化のヒト多能性幹細胞はラミニン 511 やラミニン 521 に強く接着することが知られている。

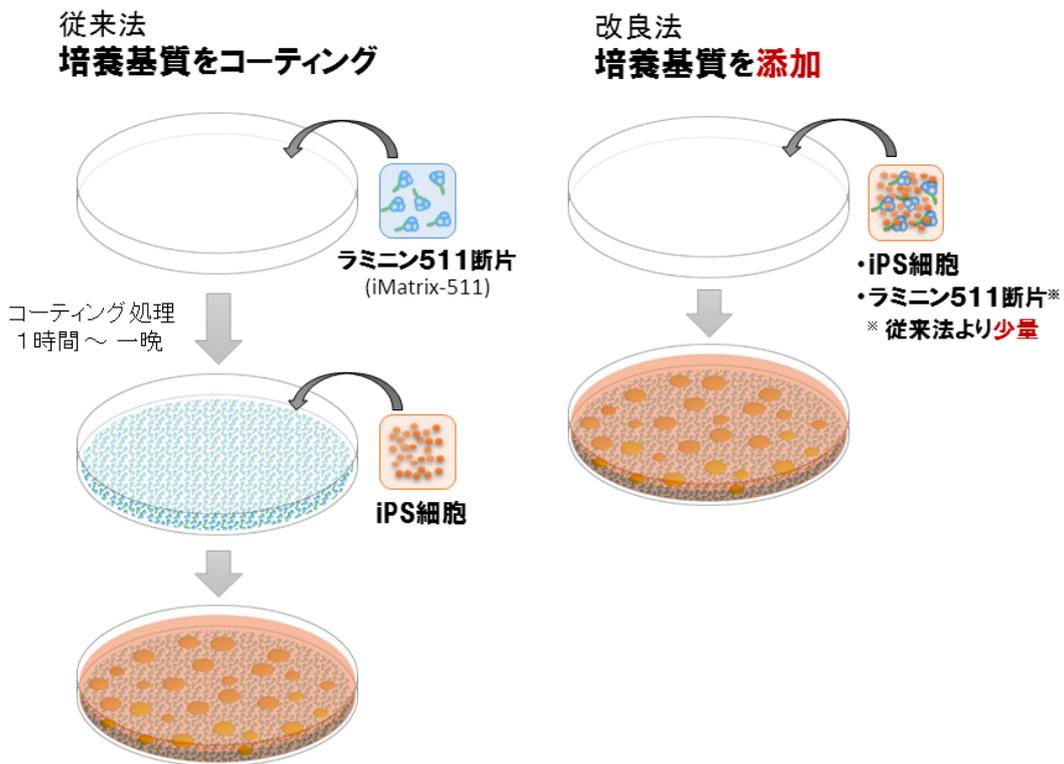


図1. 方法の概略

2. 研究手法・成果

多能性幹細胞の維持培養に効果的とされる3つの培養基質 ラミニン 511 断片(iMatrix-511)、ビトロネクチン(rhVTN-N)、ラミニン 521(laminin-521)を用い、コーティング処理した場合と添加法で使った場合の、多能性幹細胞の接着を比較しました。(図2)

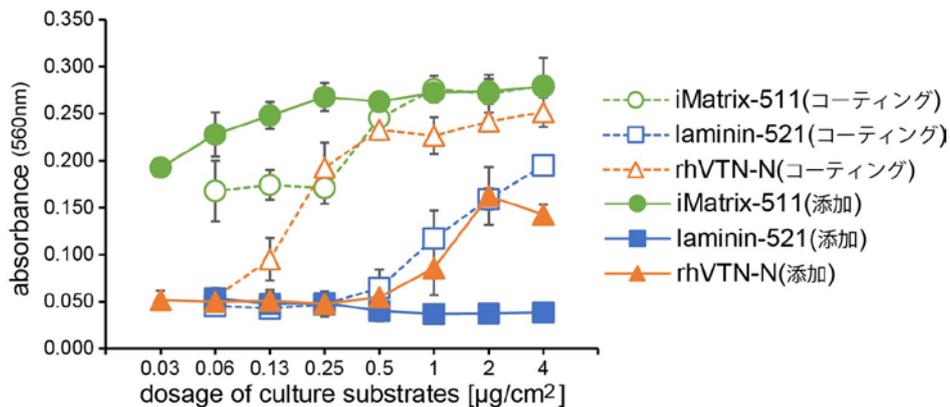


図2. 添加法とコーティング処理における細胞接着の比較

ビトロネクチンやラミニン 521 では従来のコーティング処理の方が良好な細胞接着を示し、添加法は非効率であると言えます。しかしラミニン断片においては、添加法でもコーティング処理と同等の良好な細胞接着を得ることができ、尚且つコーティング処理よりも更に少ない使用量で、最大限の細胞接着効果が得られるのが分かります。

また、この添加法を用いることで、ラミニン断片の使用量を4分の1量に減らした条件においても、コーティング処理と同等以上の細胞の増殖を確認しました（図3）。

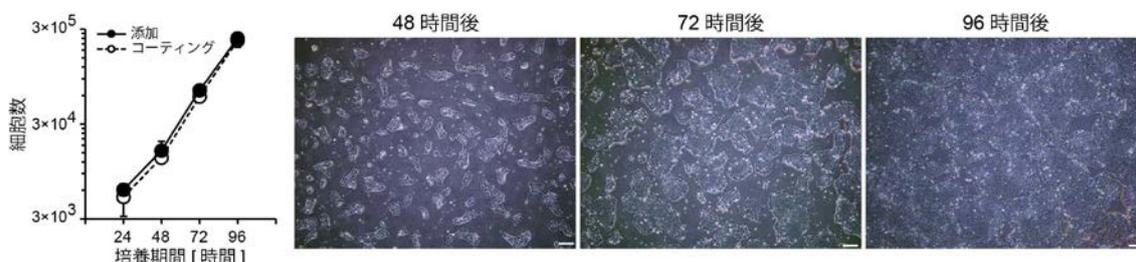


図3. 添加法での細胞増殖について
ラミニン断片(iMatrix-511)は添加法: $0.25\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、コーティング処理: $1\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の濃度条件での比較(左)
細胞播種後の細胞増殖の経時変化細胞画像(右)

3. 波及効果、今後の展望

ラミニン断片を培養基質として用いる培養法は、ヒト iPS 細胞の樹立や維持拡大など、国内の基板技術として広く普及しています。本成果はその培養法を利用している粗方の操作に適應できる可能性があり、ヒト多能性幹細胞利用の低コスト化と細胞培養操作の簡便化に繋がることが期待されます。更にはその効果で、ヒト多能性幹細胞を利用した創薬研究や細胞療法の実用化が一層加速することが期待されます。

※株式会社ニッピは本件技術に関する実施許諾を京都大学から受けました。

4. 研究プロジェクトについて

この研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 事業「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業(再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発)/ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発(心筋・神経)」(サブプロジェクト・リーダー: 京都大学・物質-細胞統合システム拠点、中辻憲夫特任教授)の一環として行われました。

<論文タイトルと著者>

タイトル: Efficient Adhesion Culture of Human Pluripotent Stem Cells Using Laminin Fragments in an Uncoated Manner

ジャーナル名: *Scientific Reports*

著者: 宮崎隆道、磯部武久、中辻憲夫、末盛博文

お問い合わせ先

<研究に関する内容>

京都大学 物質-細胞統合システム拠点 特定拠点助教

宮崎 隆道

TEL: 075-753-9762

E-mail: tmiyazaki@frontier.kyoto-u.ac.jp

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 准教授

末盛 博文

TEL: 075-751-3821

E-mail: hsuemori@frontier.kyoto-u.ac.jp

<報道に関する内容>

京都大学ウイルス・再生医科学研究所 胚性幹細胞研究分野/産学官連携推進室・特定教授
浅田 孝

TEL:075-751-4606E-mail: tasada@frontier.kyoto-u.ac.jp