

日本生物工学会大会講演要旨サンプル

2P-181 新規シート培養による iPS 細胞の分化系統制御の試み

佐竹 賢一, ○藤原 政司, 高木 睦
(北大院・工・生機高)

██████████@eng.hokudai.ac.jp

【背景と目的】人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を目的細胞系統に分化誘導した場合、種々の系統 (内胚葉、中胚葉、外胚葉) の細胞へと分化してしまうという課題がある。iPS 細胞を凝集させる一般的な分化誘導法である胚様体 (EB) 形成法では、1 つの EB 中の位置による環境の差異が、様々な系統の細胞へと分化してしまう要因であると考えた。そこで、EB における細胞間相互作用を維持したまま均一な環境を設定するために、iPS 細胞層が 3 層程度である薄いシート状にして培養することを考えた。本研究では、ヒト iPS 細胞を用いて薄い細胞シートを作製し、目的細胞系統への高効率な分化誘導が可能か検討することを目的とした。

【方法】MEF フィーダー細胞上で培養したヒト iPS 細胞 (253G1) コロニーを分散した後、約 3.5×10^5 cells/well (1.2×10^6 cells/cm²) をマトリゲルコート 96 穴プレートに入れサイトカイン無添加シート培養を行ない、EB 形成法と比較した。また、サイトカイン (Activin A および BMP4) 添加単層分化培養をコントロールとして、サイトカイン (同) 添加 96 穴シート培養も行なった。未分化細胞マーカー (Oct3/4)、内胚葉、中胚葉、外胚葉マーカー (AFP、Brachyury T、SOX1)、及び中胚葉系統の心筋細胞マーカー (Nkx2.5) 遺伝子の発現を培養前後で定量した。

【結果と考察】サイトカイン無添加の場合、96 穴シート培養では Brachyury T と Nkx2.5 だけが発現したが、EB では AFP も発現した。また、サイトカイン添加は、シート培養では Brachyury T と Nkx2.5 が単層分化培養と同等以上に高発現し、Oct3/4 発現は減少した。

Control of cell lineage of differentiation from iPS cells by a novel sheet cultivation

Ken-ichi Satake, ○Masashi Fujiwara, Mutsumi Takagi
(Div. Biotechnol. Macromol. Chem., Grad. Sch. Eng., Hokkaido Univ.)

Key words iPS cell, differentiation, cell sheet, EB