

旭硝子中央研究所は、再生医療実現拠点ネットワークプログラム(技術開発個別課題; 再生医療に用いるiPS細胞大量培養プラットフォームの開発)の委託を受け開発を実施しています。

EZSPHERE®を用いたiPS細胞の胚様体培養

EZSPHERE®のウエル内で、iPS細胞から胚様体が形成過程を観察

■細胞種: ヒト由来iPS細胞 (201B7)

■プレ培養: フィーダーレス

- ① Matrigel上に、iPS細胞を播種。(培地: mTeSR1)
- ② 4日後、Accutaseにて、iPS細胞を回収、シングルセル化。

■胚様体形成 : EZSPHERE®上で非接着培養

- ① シングルセル化したiPS細胞を、EZSPHERE®容器に播種。
(培地: APEL 培地+ 10μM ROCK inhibitor Y-27632)

- 播種細胞数: 1,000cells/EZSPHERE®ウエル
80,000cells/プレートウエル(96wellの1wellあたり)

- 培地量: 200μL / プレートウエル(96wellの1wellあたり)

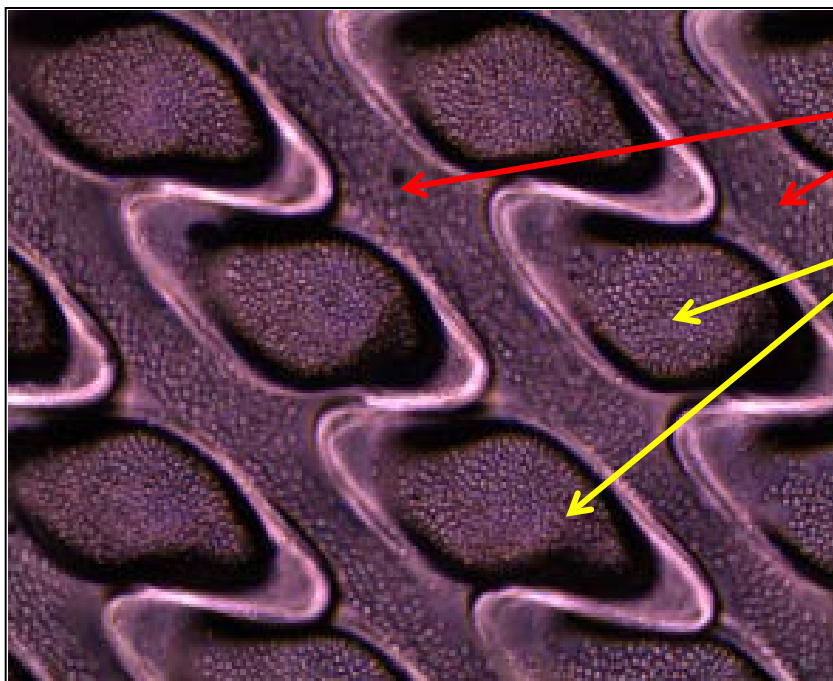
- ② オンステージ培養装置付き位相差顕微鏡下にて、
播種直後より、5時間後まで10分おきに撮影。

AGCテクノグラス(株)製品

- EZSPHERE®96wellプレート
(品種コード: 4860-900)
ウエル径: 400~500μm
深さ: 100~200μm
ウエル数: 約80well/1プレートウエル

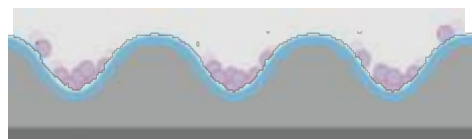
<観察>

播種直後のiPS細胞

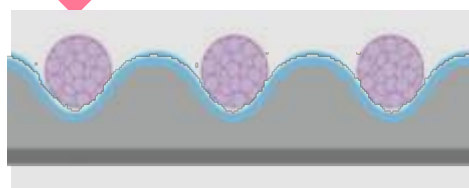


まだ、細胞がEZSPHERE®ウエル内に落ち込んでいない。

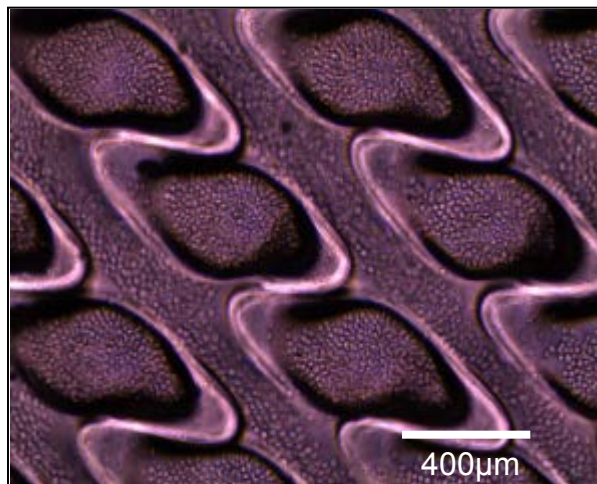
EZSPHERE®ウエル内の細胞も、まだ接着・凝集していない。



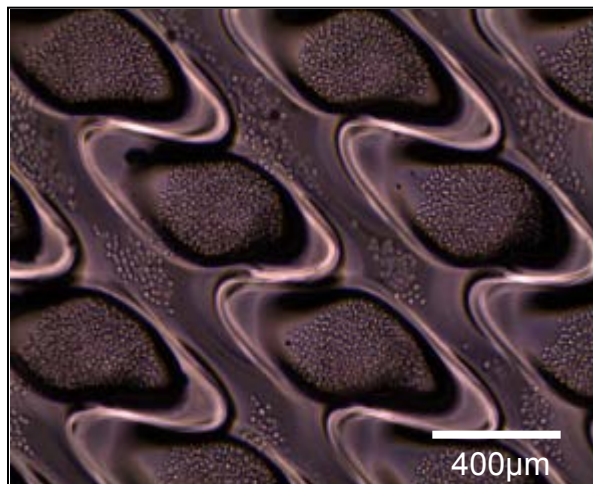
徐々に細胞が、EZSPHERE®ウエル内に落ち込み、集まりスフェロイドを形成。



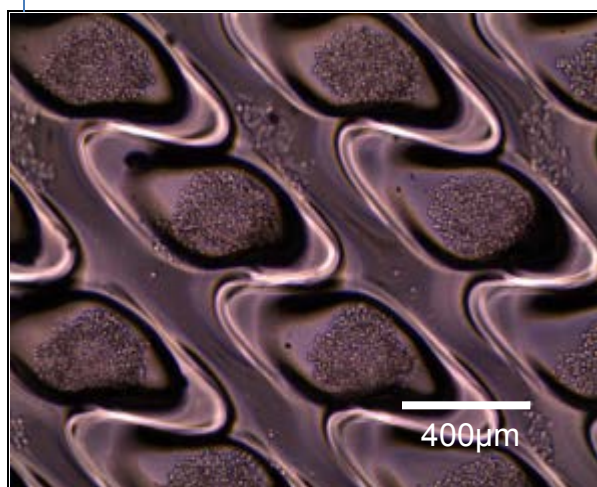
<観察>



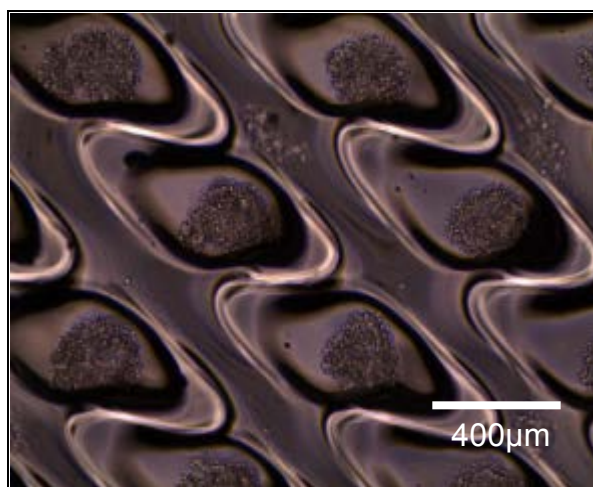
播種直後



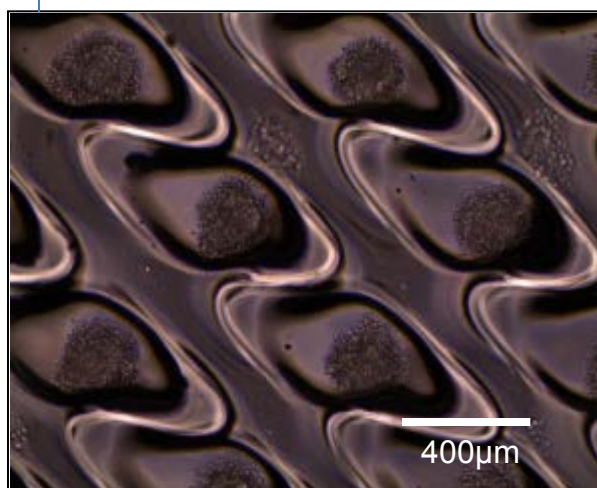
1時間後



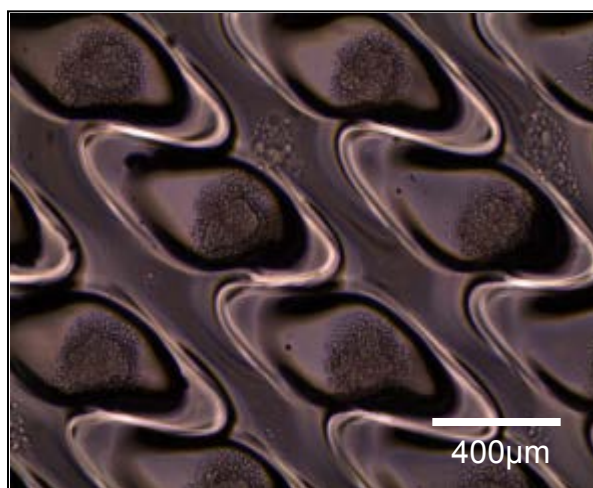
2時間後



3時間後



4時間後



5時間後

今回の実験系では、EZSPHEREに播種されたhiPS細胞は3時間後にEZSPHERE®ウエル(微細ウエル)の中心に集合し、5時間後には立体的なスフェロイド(胚様体)を形成した。