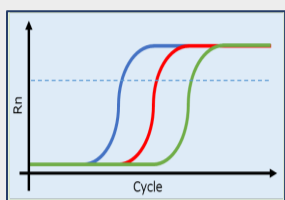


## 背景・目的

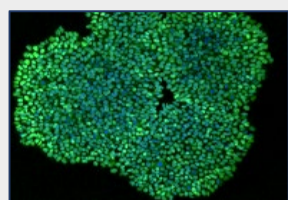
創薬研究や再生医療分野におけるiPS細胞の活用が進む中で、未分化性維持や分化誘導効率に影響すると考えられる細胞品質の評価の重要性は高まっている。BioProfile Flex2 (ノバ・バイオメディカル社)は回収した培養上清の複数の成分を短時間で分析可能であり、非侵襲で簡便な品質管理への応用が期待された。そこで今回、iPS細胞の維持培養における品質管理へのBioProfile Flex2の応用を検討した。

### 現行の評価系

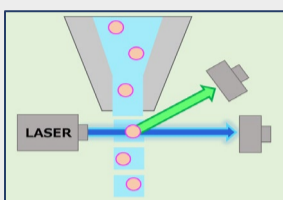
リアルタイムPCR



免疫染色



フローサイトメトリー



- 測定やその準備に手間と時間を要する
- 細胞の破壊や細胞への試薬類の添加が必要
- 基本的に評価用サンプルを別途用意することが必要、同一細胞群の品質を経時で評価することは不可能



### BioProfile Flex2による培養上清分析

- 培養液を最大で265μlサンプリングするだけの容易で非侵襲的な検査
- 短時間で複数の培地成分の計測が可能
  - 最短2分、最長4分30秒で測定完了
  - 最大16項目の同時分析が可能

Glutamine	Glutamate	Glucose
Lactate	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>
Ca <sup>++</sup>	pH	pO <sub>2</sub>
		pCO <sub>2</sub>
Total Cell Density		Viable Cell Density
Viability	Average Cell Diameter	Osmometry

- 同一細胞群対象の経時モニタリングが可能

## iPS細胞の維持培養における培養条件の比較検討

### 1. 実験概要

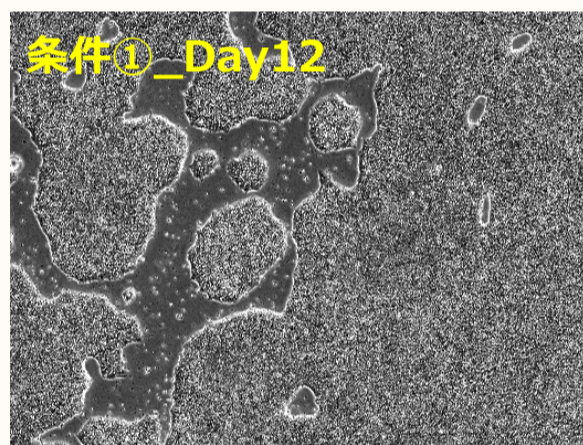
細胞品質の指標の一つである「細胞増殖性」に着目し、培養条件を変更した際の細胞増殖と培地成分分析の結果との比較を行った。iPS細胞のフィーダーフリーでの維持培養において、培地交換の頻度を3条件に設定し、3継代培養を行った。各条件の培地上清は毎日回収し、BioProfile Flex2で成分分析を行い、測定値の変動をグラフ化した。

### 2. 実験条件

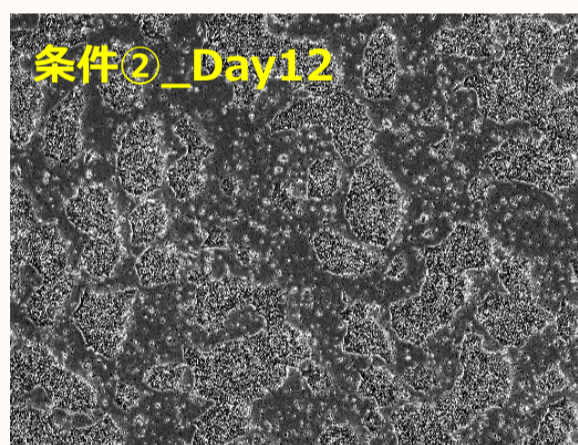
iPS細胞株：1231A3  
培養容器：6well plate  
コーティング剤：vitronectin  
培地：Essential 8  
細胞播種数：1.0×10<sup>5</sup> cells/well  
継代間隔：4日(Day 4,8)  
n数：3

培地交換条件  
条件①：毎日  
条件②：一日おき  
条件③：なし

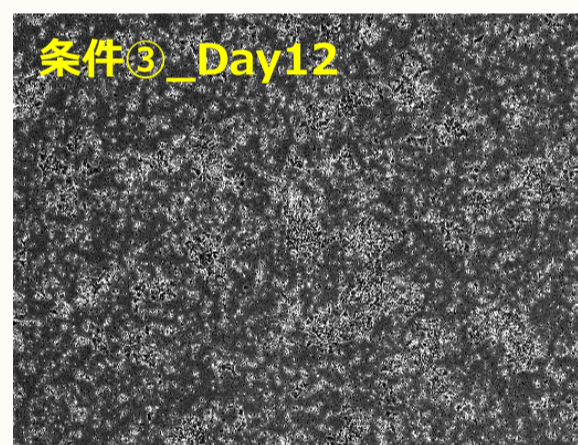
### 3. 画像観察及び細胞数カウントの結果



生細胞数：  
9.5×10<sup>5</sup> cells/well



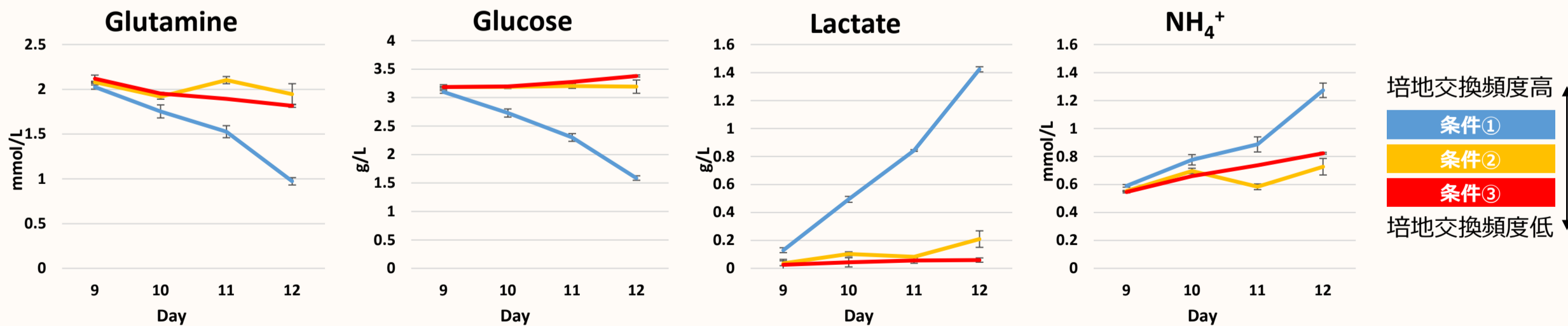
生細胞数：  
0.3×10<sup>5</sup> cells/well



生細胞数：  
0.1×10<sup>5</sup> cells/well

### 4. 培地成分分析の結果

※培地交換頻度に対する成分変化が特に大きい期間 (Day9-12) を抜粋した。



### 5. 考察

- グルタミン、グルコース濃度：  
細胞増殖に伴い消費量が増加し通常は経時で低下する傾向にあるが、条件②や③においては、細胞数の減少に伴い消費量が減少していることが示唆された。
- 乳酸、アンモニア濃度：  
細胞増殖に伴い産生量が増加し通常は経時で上昇する傾向にあるが、条件②や③においては、細胞数の減少に伴い低下していることが示唆された。
- 上記のようなパラメーター測定により、細胞の増殖性を定量的に評価及び早期予想できる可能性が示唆された。

## まとめ

- iPS細胞の維持培養において、BioProfile Flex2を用いて培地成分を測定することで、培養環境の定量的評価が可能となることが期待される。
- BioProfile Flex2をルーチンの維持培養やCPCの培養系に適用することで、培養環境の管理精度や評価システムの簡便性の向上といった効果が期待される。