

2022年9月7日
株式会社幹細胞&デバイス研究所
<http://scad-kyoto.com/>

ヒトiPS細胞由来小脳プルキンエ細胞の作製法開発に関するお知らせ

神経細胞デバイスを用いた3次元培養により、発達した樹状突起を持つヒトiPS細胞由来の小脳プルキンエ細胞の作製法を開発しました。

関西医科大学 六車恵子教授との共同研究において、当社独自の神経細胞デバイス(細胞培養の足場)を使用した3次元培養によるヒトiPS細胞由来プルキンエ細胞の作製法を開発しました。プルキンエ細胞は小脳皮質に存在する神経細胞であり、数回枝分かれする樹状突起を持つことが形態上の特徴で、小脳失調疾患との関連が知られています。ヒトiPS細胞から作製したプルキンエ細胞は、小脳失調疾患のモデル細胞となり、病態の解明や治療薬の研究開発に活用することができます。

本作製法の開発は、京都府(公益財団法人京都産業21)による研究助成を活用しており、当社と関西医科大学との共同で特許出願を完了しました。

六車教授から提供いただいたマウス小脳顆粒細胞前駆細胞と、当社にてヒトiPS細胞から分化誘導したプルキンエ前駆細胞とを、配向性を有する当社独自の3次元細胞足場上で共培養しました。その結果、細胞足場によってプルキンエ細胞に特有の複雑な樹状突起が十分に発達し、3次元的に延出しているプルキンエ細胞を得ることができました(図1)。

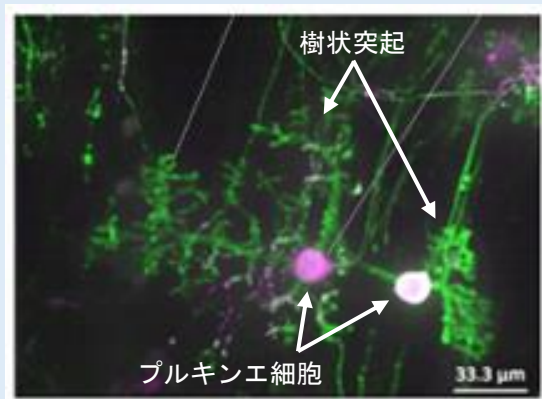
これまでに報告されているヒトiPS細胞由来のプルキンエ細胞は、いずれもプルキンエ前駆細胞と顆粒細胞または顆粒細胞前駆細胞を、カバーガラスや単層ナノファイバー上で2次元的に共培養することで作製されています^{1,2,3)}。一方、今回、関西医科大学と当社とで開発した作製法では、プルキンエ細胞が3次元的に複雑に発達した樹状突起を形成しました(図2)。また、当社内で検証したところ、当社の3次元細胞足場を使用することで、従来の2次元での培養よりも安定して生体内のプルキンエ細胞と類似した複雑な樹状突起を含む、発達したプルキンエ細胞を取得することができました。

参考資料

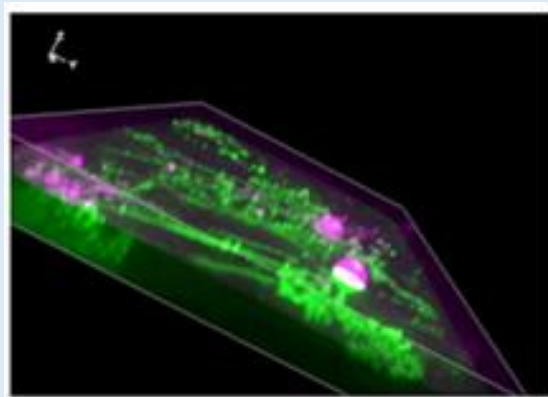
1. 国際公開第2016/039317号.
2. Fujishima, K et al. Development. 147, dev194530, 2020.
3. Ishida, Y et al. Cell Reports. 17, 1482-1490, 2016.

【本件に関するお問い合わせ先】

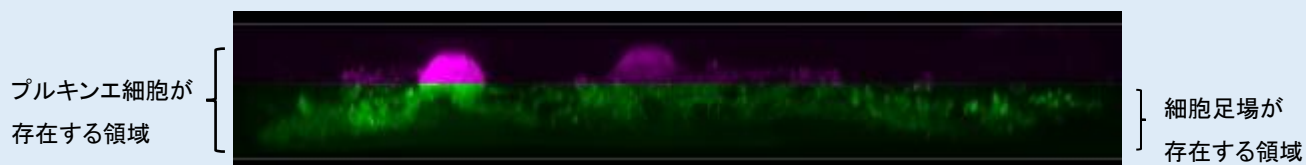
株式会社幹細胞&デバイス研究所 経営管理室 千秋
TEL: 075-744-1114; E-mail: scad.info@scad-kyoto.com



(A)底面図



(B)斜視図



(C)断面図

図 1. 3次元細胞足場上で培養したヒト iPS 細胞由来プルキンエ細胞の蛍光顕微鏡像

ヒト iPS 細胞由来プルキンエ前駆細胞とマウス小脳由来顆粒細胞前駆細胞を共培養後のプルキンエ細胞の CALBINDIN 免疫染色像(蛍光顕微鏡像)。

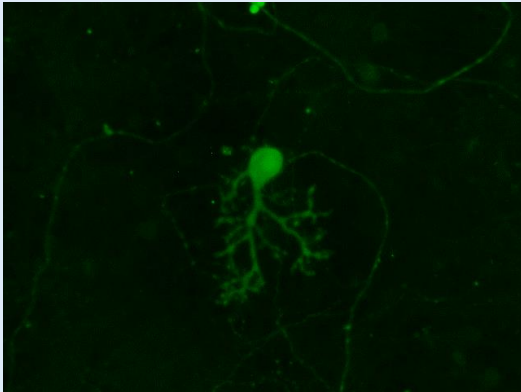
プルキンエ細胞特異的な CALBINDIN の発現を確認した。

緑は細胞足場内のプルキンエ細胞、白又は赤紫は細胞足場から突出したプルキンエ細胞を示す。

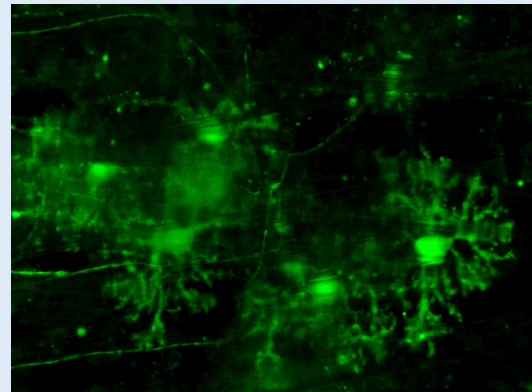
(A) 底面図 細胞足場底面から観察したプルキンエ細胞

(B) 斜視図 プルキンエ細胞は細胞足場の配向方向だけでなく、垂直方向にも成長している

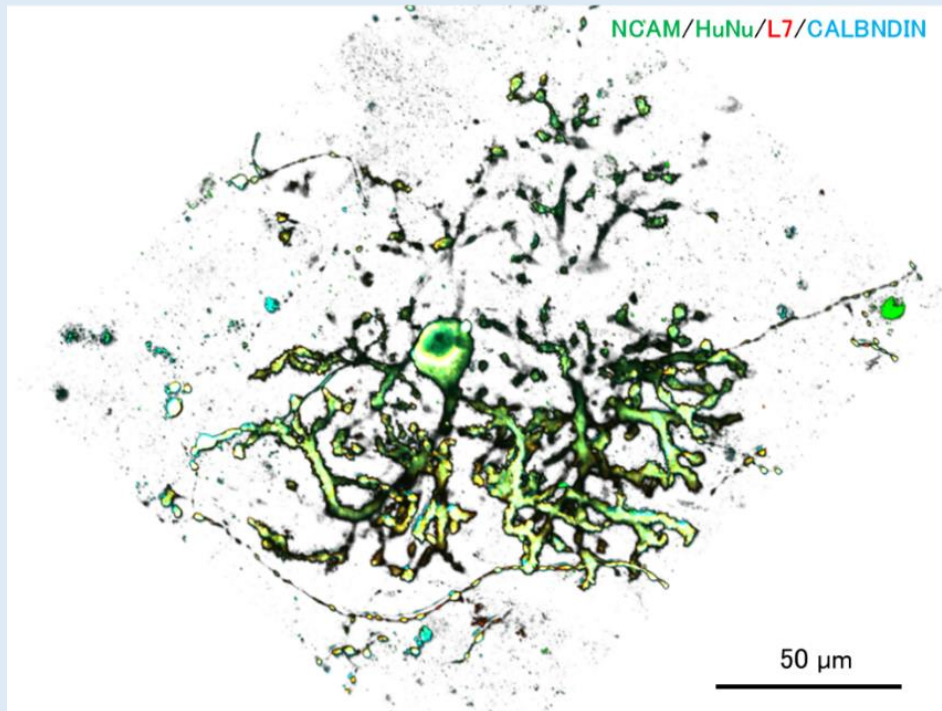
(C) 断面図 プルキンエ細胞の細胞体や樹状突起の一部は 3次元細胞足場から突出して発達している



(A) 2次元培養でのプルキンエ細胞
(蛍光顕微鏡像)



(B) 3次元細胞足場での培養によるプルキンエ細胞
(蛍光顕微鏡像)



(C) 3次元細胞足場での培養によるプルキンエ細胞 (共焦点レーザー顕微鏡像)

図 2. 3次元培養時の複雑な樹状突起を有するヒト iPS 細胞由来プルキンエ細胞の形態

ヒト iPS 細胞由来プルキンエ前駆細胞とマウス小脳由来顆粒細胞前駆細胞を共培養後のプルキンエ細胞の免疫染色像(当社にて作製した細胞)。

(A) 2次元培養時のプルキンエ細胞(蛍光顕微鏡像)

(B) 3次元細胞足場による3次元培養時のプルキンエ細胞(蛍光顕微鏡像)

2次元培養と比較してプルキンエ細胞特有の複雑な樹状突起が大きく発達している

(C) 細胞足場による3次元培養時のプルキンエ細胞(共焦点レーザー顕微鏡像)

プルキンエ細胞特有の複雑な樹状突起が大きく発達している