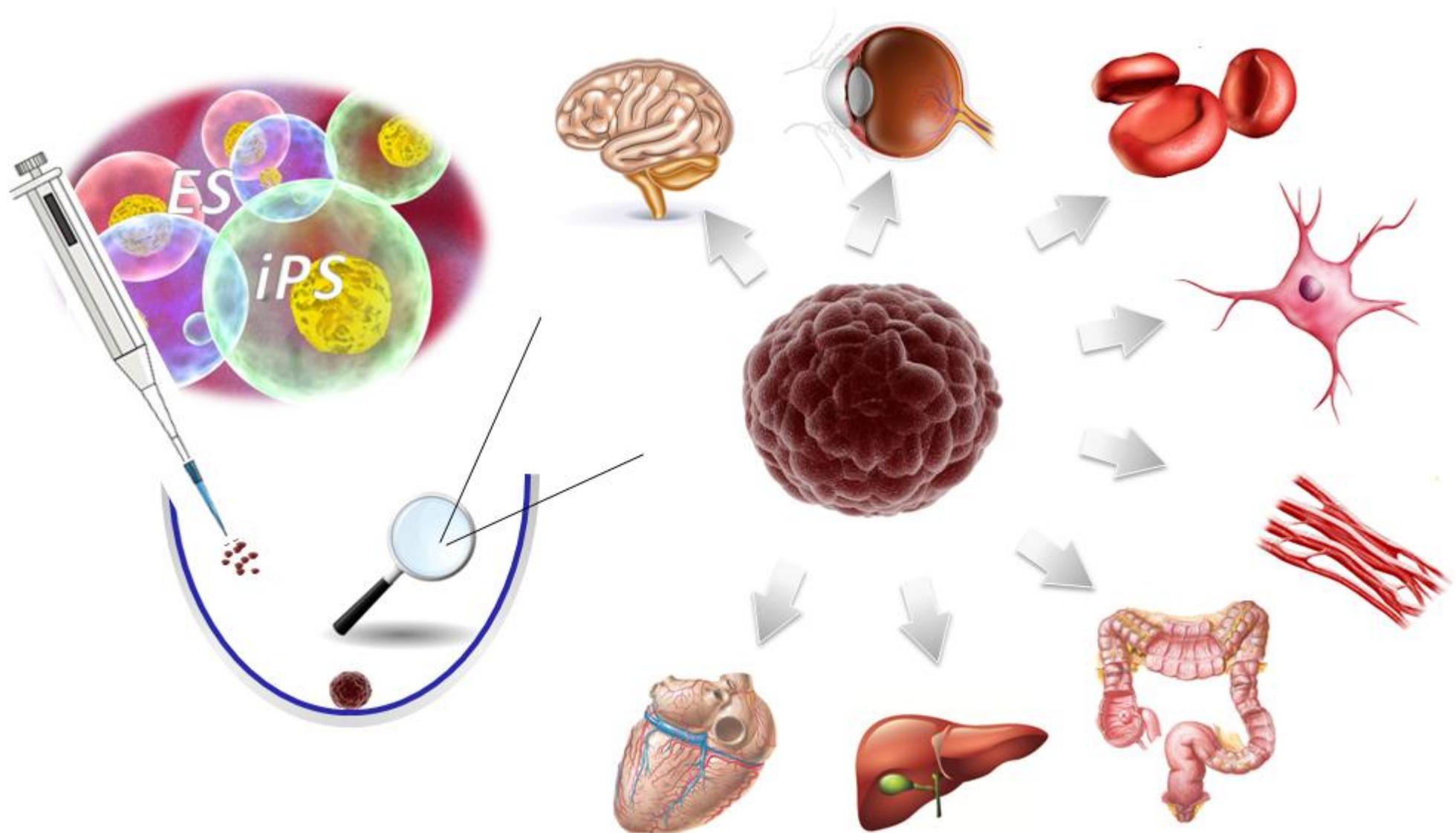


PrimeSurface[®]を用いた 幹細胞研究 —凝集塊形成から組織形成へ—

住友ベークライト株式会社
S - バイオ事業部

PrimeSurface[®]を用いた幹細胞研究



凝集塊のサイズの分化への影響

凝集塊のサイズが細胞の分化に大きく影響 (Ref. 1 - 2)



凝集塊のサイズ均一性が重要



**PrimeSurface®では
均一サイズの細胞凝集塊形成が可能！**

【References】

1. Control of human embryonic stem cell colony and aggregate size heterogeneity influences differentiation trajectories. Bauwens, C.L., Peerani, R., Niebruegge, S., Woodhouse, K.A., Kumacheva, E., Husain, M., and Zandstra, P.W. *Stem Cells*, 26, 2300-2310. (2008)
2. Methods for inducing embryoid body formation: in vitro differentiation system of embryonic stem cells. Kurosawa, H., *J Biosci Bioeng*, 103, 389-398. (2007).

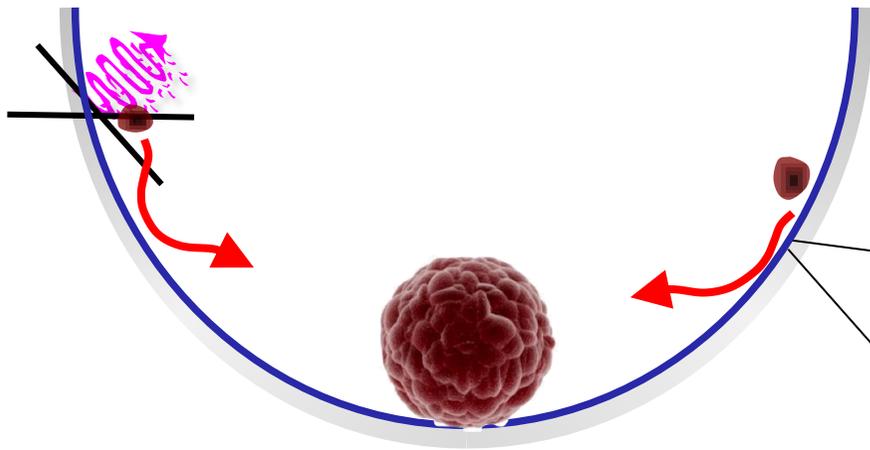
PrimeSurface[®] の特長

超低接着性表面処理

均一な凝集塊を形成

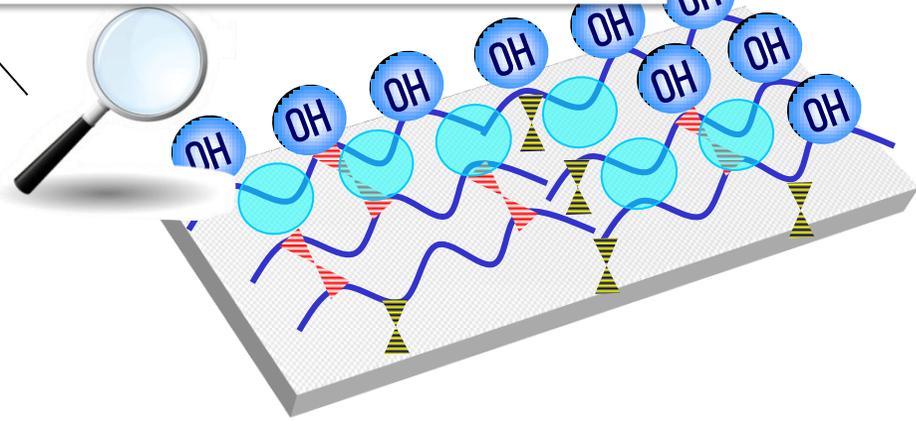
豊富なウェル形状

PrimeSurface[®] による凝集塊形成の原理

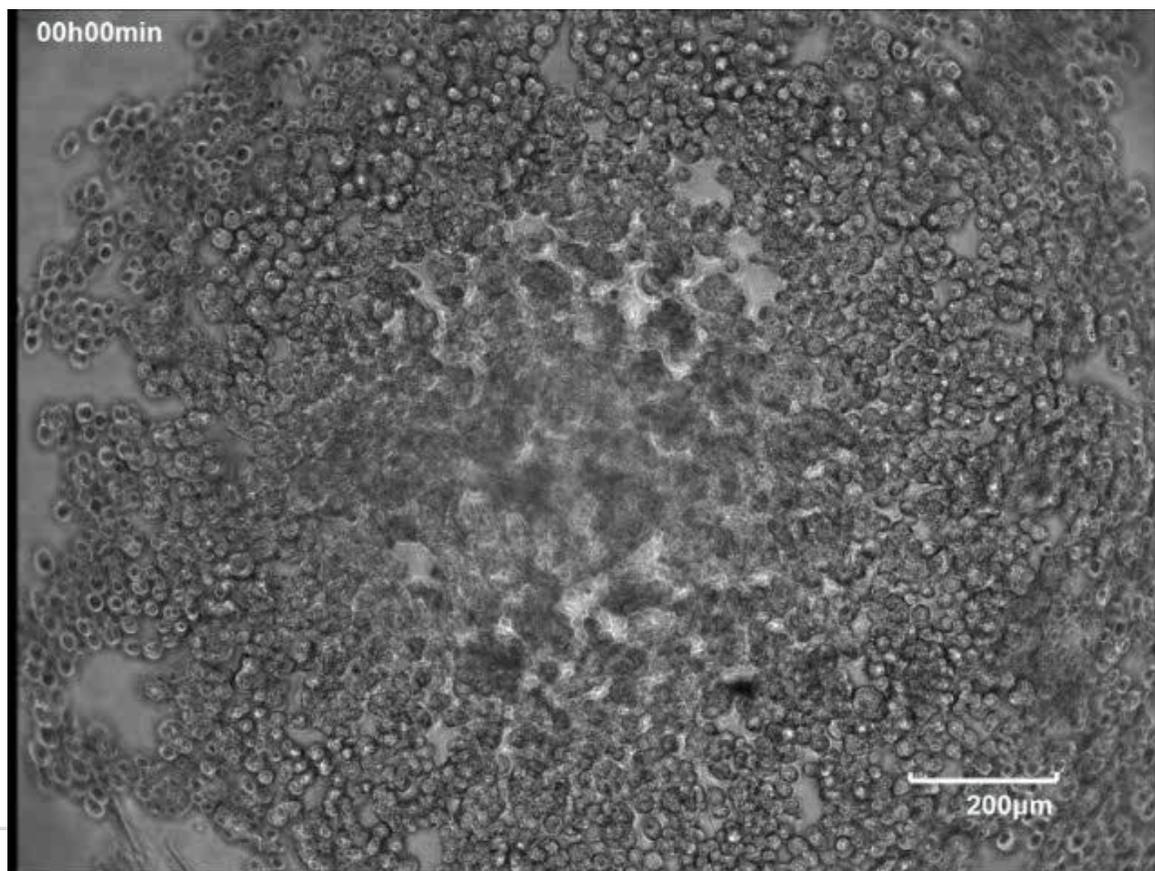


細胞－細胞相互作用による
自発的な凝集塊形成

超親水性ポリマーコート



ヒトiPS 細胞 凝集塊(胚様体)形成過程のタイムラプス

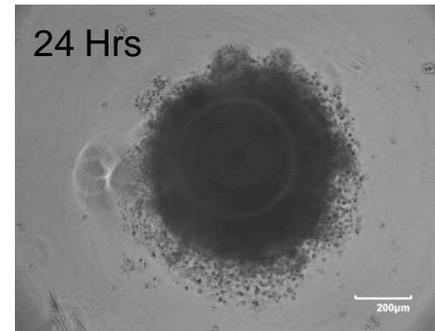
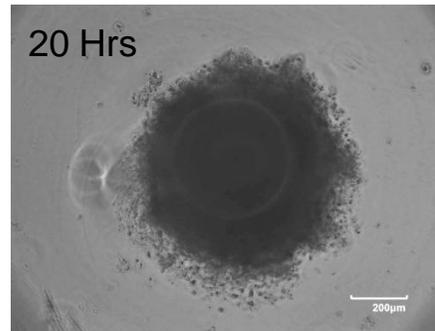
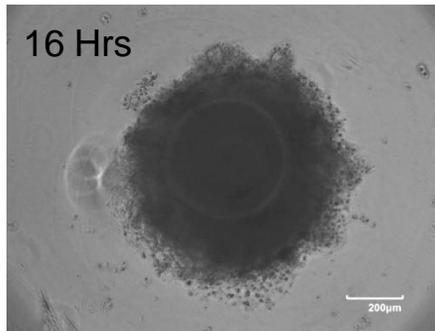
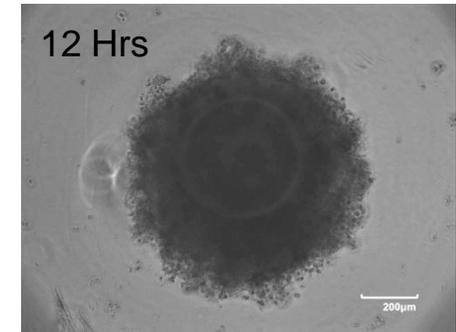
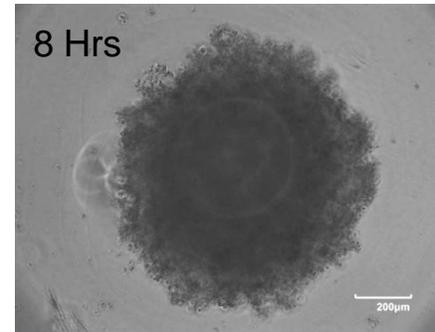
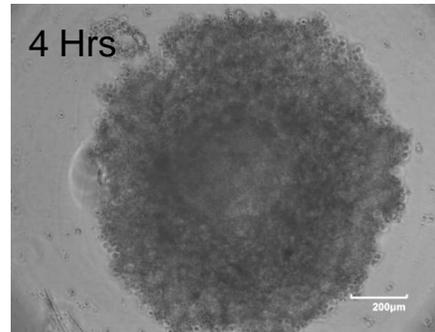
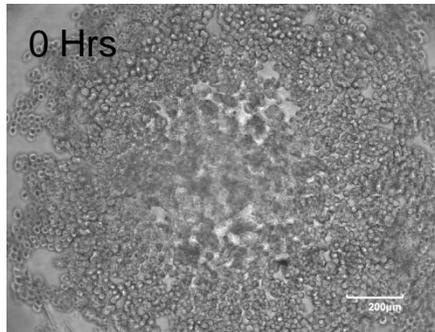


撮影機器 : BioStudio
(コアフロント株式会社)

【培養条件】

- 培養器 : *PrimeSurface[®] MS-9096V*
使用細胞 : hiPS細胞 (201B7: Takahashi K et al. Cell, 2007 Nov 30;131(5):861-72, iPS Academia Japan, Inc.)
播種密度 : 9,000 cells/well
使用培地 : DMEM/F12 + 20%(v/v) KSR + 1%(v/v) NEAA + L-Glutamine(2mM) + β -Mercaptethanol (80 μ M) + Y-27632(30 μ M)
培養雰囲気 : 5%CO₂, 37°C

ヒトiPS 細胞 凝集塊(胚様体)形成過程



撮影機器 : BioStudio
(コアフロント株式会社)

【培養条件】

培養器 : PrimeSurface[®] MS-9096V

使用細胞 : hiPS細胞 (201B7: Takahashi K et al. Cell, 2007 Nov 30;131(5):861-72, iPS Academia Japan, Inc.)

播種密度 : 9,000 cells/well

使用培地 : DMEM/F12 + 20%(v/v) KSR + 1%(v/v) NEAA + L-Glutamine(2mM) + β-Mercaptoethanol (80 µM) + Y-27632(30µM)

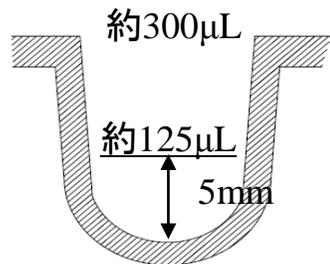
培養雰囲気 : 5%CO₂, 37°C

PrimeSurface[®] マルチウェルプレートのラインナップ

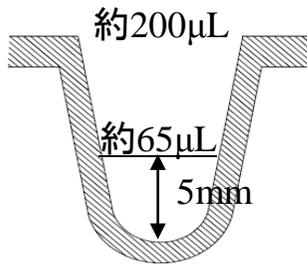
- 24 ウェル
- 96 ウェル をご用意しております
- 384 ウェル

96ウェルプレート： 細胞の性質に応じて最適形状を！

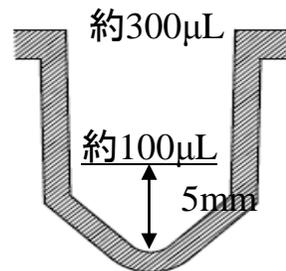
最大容量



MS-9096U (96 ウェル透明)
MS-9096W (96 ウェル白色)

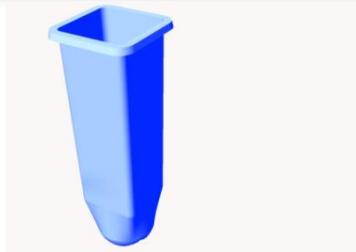


MS-9096M (96 ウェル透明)



MS-9096V (96 ウェル透明)

384ウェルプレート： U字型丸底形状， 容量 106μL

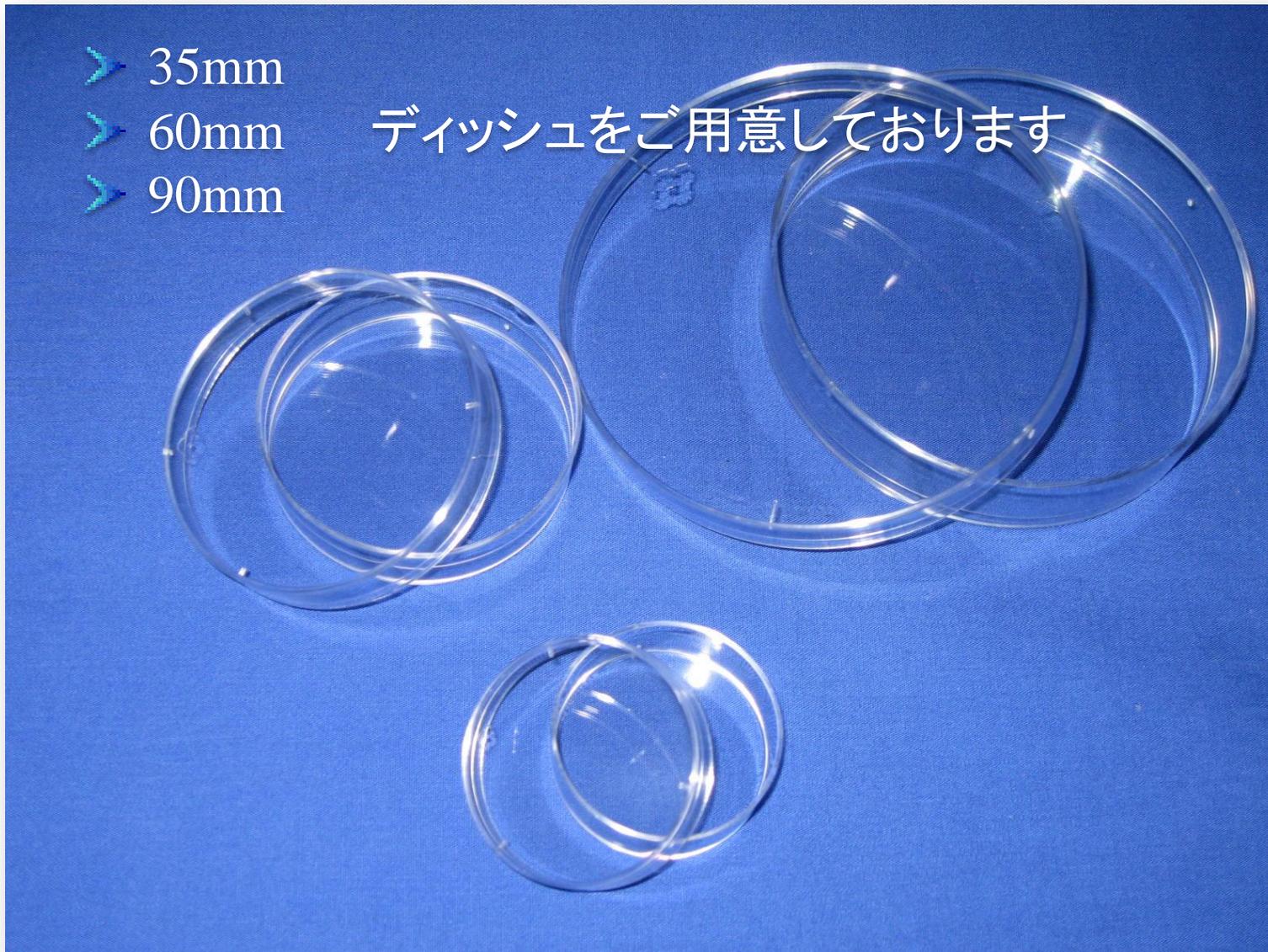


MS-9384U (384 ウェル透明)
MS-9384W (384 ウェル白色)

PrimeSurface® ディッシュのラインナップ

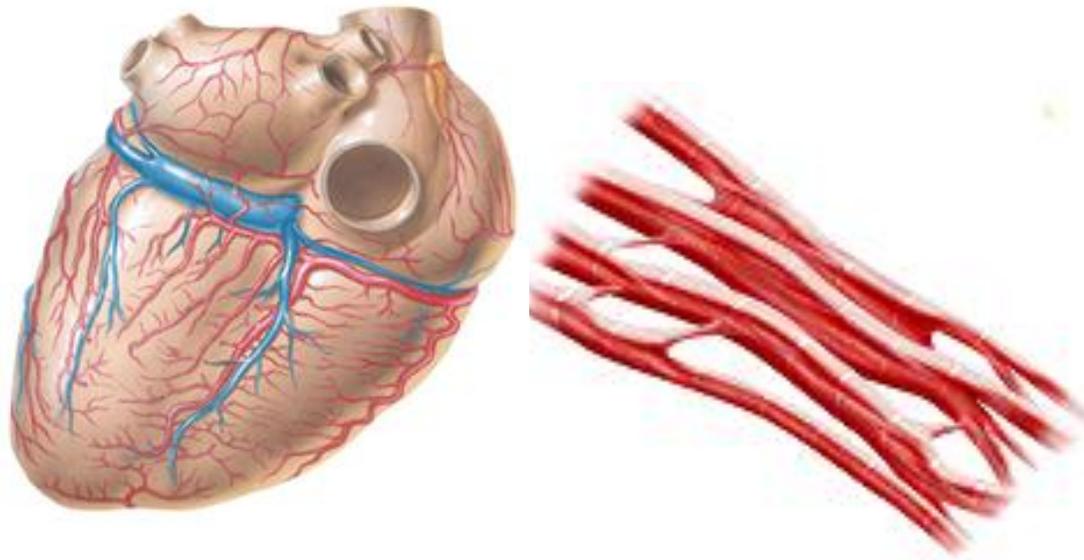
- 35mm
- 60mm
- 90mm

ディッシュをご用意しております



アプリケーション例

PrimeSurface® MS-9096U (ウェル形状: U) を 用いたマウスES細胞から心筋への分化誘導



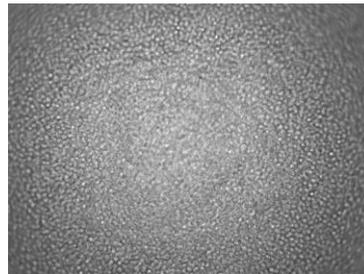
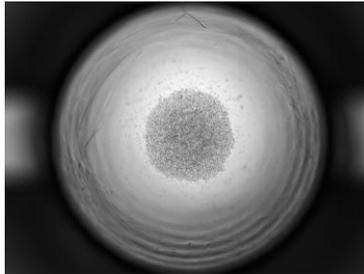
【参考文献】

A novel regulator of cardiomyogenesis in pluripotent embryonic cells.

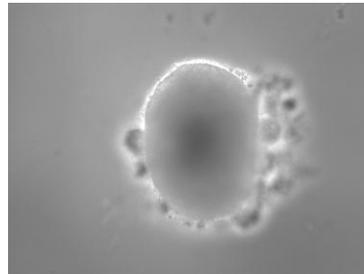
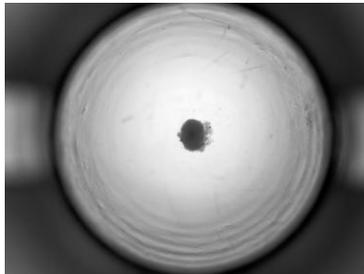
Yasuda S, Hasegawa T, Hosono T, Satoh M, Watanabe K, Ono K, Shimizu S, Hayakawa T, Yamaguchi T, Suzuki K and Sato Y, *Biochem. J.*, 437, 345-355 (2011)

PrimeSurface® MS-9096M（ウェル形状:) を用いた ヒトES細胞の凝集塊形成

Day 0



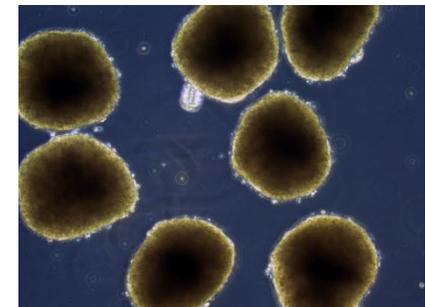
Day 6



x2

x10

優れたサイズ均一性



7ウェルより
凝集塊を分取

【培養条件】

培養器 : PrimeSurface® MS-9096M
 使用細胞 : ヒトES (KhES-1株)
 播種密度 : 9,000cells/well
 使用培地 : GMEM+KSR+NEAA+2ME + 20uM Y-27632
 培養雰囲気 : 5%CO₂, 37°C
 培養期間 : 6日間

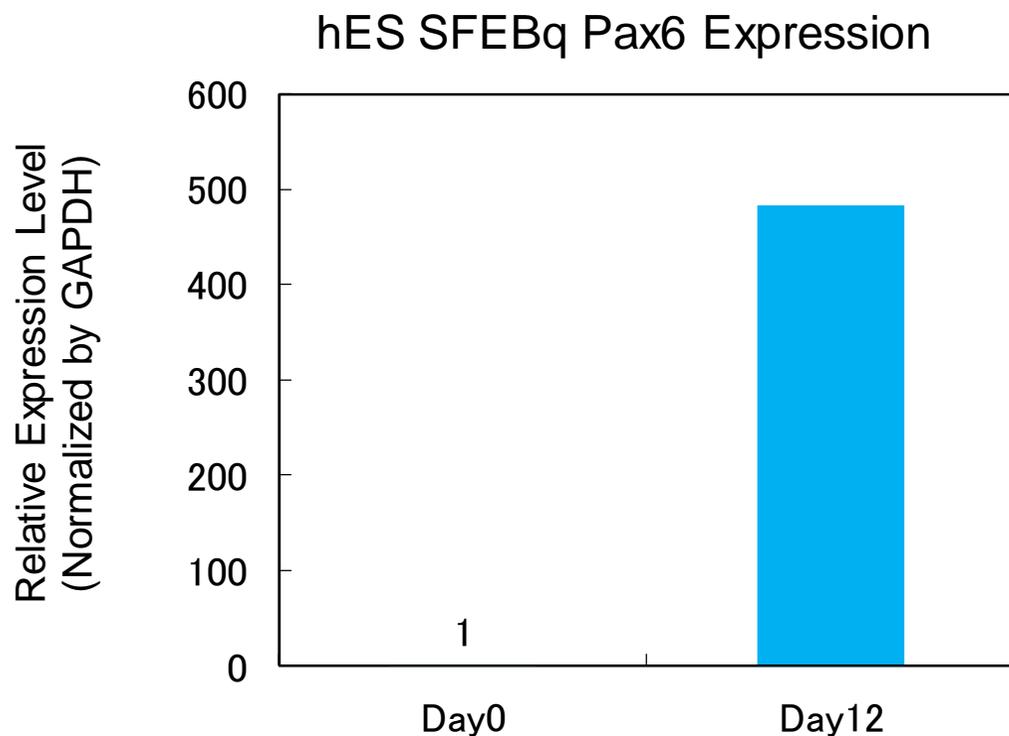
理化学研究所

発生・再生科学総合研究センター

幹細胞研究支援・開発室

笹井 芳樹グループ・ディレクター様ご提供

PrimeSurface[®] MS-9096M (ウェル形状: U) を用いた ヒトES細胞の脳皮質神経系細胞への分化誘導



【培養条件】

培養器 : PrimeSurface[®] MS-9096M
 使用細胞 : ヒトES (KhES-1 株)
 播種密度 : 9,000cells/well
 使用培地 : DMEM/F12 + KSR + Y-27632
 培養雰囲気 : 5%CO₂, 37°C

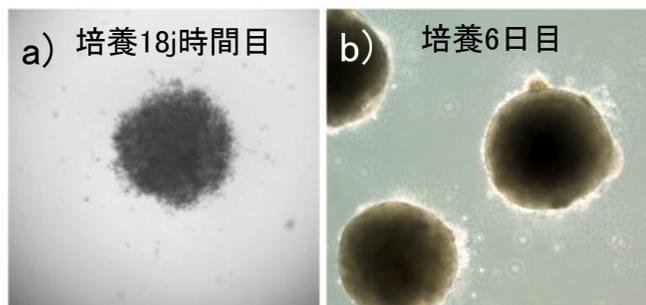
理化学研究所

発生・再生科学総合研究センター

幹細胞研究支援・開発室 ご提供

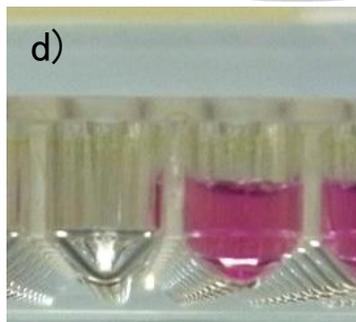
培養開始12日目にPax6の量が増えており、
神経分化が進んでいることを示す。

PrimeSurface® MS-9096V (ウェル形状:) を用いた ヒトES細胞凝集塊から自己組織化した神経網膜組織への誘導



3ウェルより
凝集塊を分取

【培養条件】
 培養器 : PrimeSurface® MS-9096V
 使用細胞 : ヒトES (KhES-1株)
 播種密度 : 9,000cells/well
 使用培地 : GMEM+KSR+NEAA+2ME+ 20uM Y-27632
 培養雰囲気 : 5%CO2, 37°C



ヒトES細胞凝集塊から
自己組織化した神経網膜組織

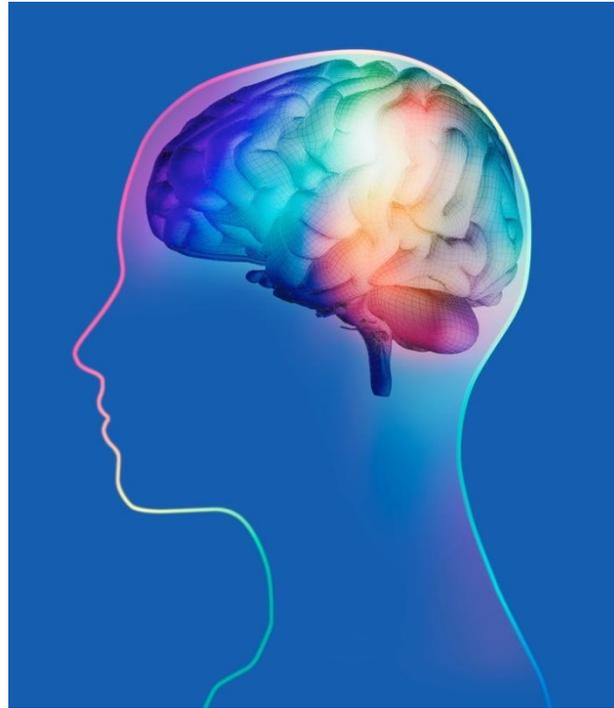
写真 a) - c) : 理化学研究所
発生・再生科学総合研究センター
幹細胞研究支援・開発室 ご提供

【参考文献】

Self-Formation of Optic Cups and Storable Stratified Neural Retina from Human ESCs

Nakano T, Ando S, Takata N, Kawada M, Muguruma K, Sekiguchi K, Saito K, Yonemura S, Eiraku M, Sasai Y
Cell Stem Cell, 10 (6), 771-785 (2012)

自己組織化する大脳新皮質



http://www.cdb.riken.jp/jp/04_news/articles/13/131216_Selforganization.html

Self-organization of axial polarity, inside-out layer pattern, and species-specific progenitor dynamics in human ES cell-derived neocortex,

Kadoshima, T., Sakaguchi, H., Nakano, T., Soen, M., Ando, S., Eiraku, M., and Sasai, Y. (2013).

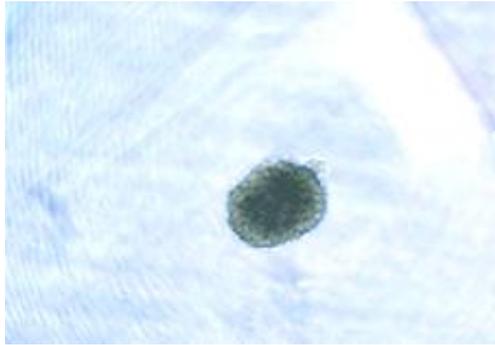
Proc Natl Acad Sci U S A 110, 20284-20289.

HepG2を実験例として用いた凝集塊形成 — 競合他社品との比較—

- 培地 : DMEM Low Glc. +10% FCS
- 細胞播種数 : 1,000 cells/100 μ L/well
- 培養日数 : 3日間

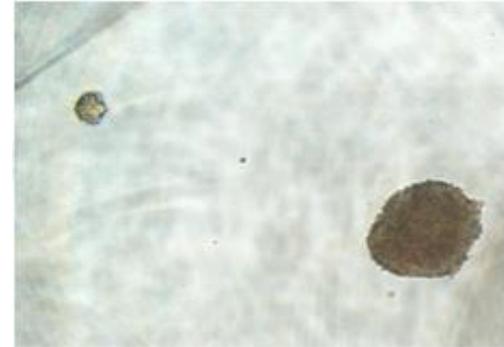
結果の判断基準

96ウェルの顕微鏡観察結果を以下の4つのグレードに分類いたしました。



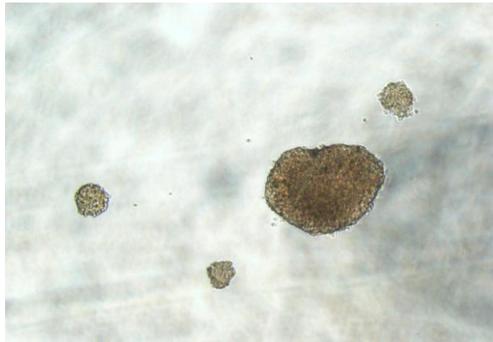
【グレードA】

1ウェルに1個だけ凝集塊が形成した場合



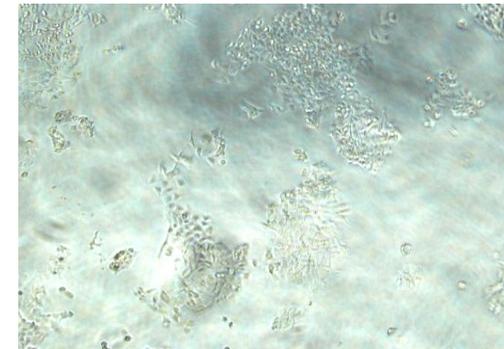
【グレードB】

大きな凝集塊と1個の小さな凝集塊が形成した場合



【グレードC】

大きな凝集塊と複数の小さな凝集塊とが形成した場合



【グレードD】

細胞接着抑制が不十分で細胞が器壁に接着してしまい、凝集塊とが形成できなかった場合

(優) A > B > C > D (劣)

評価結果

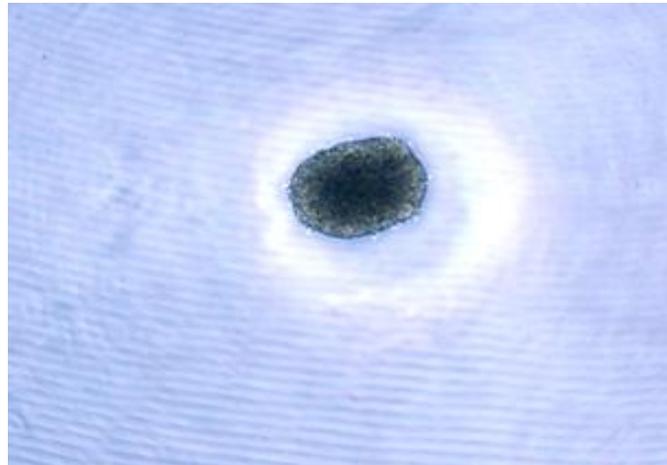
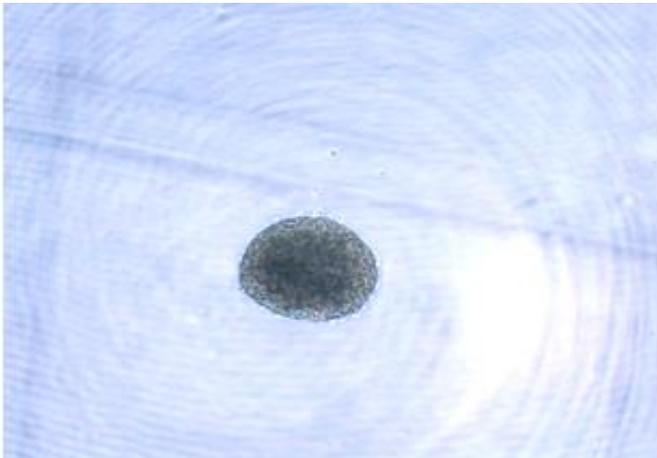
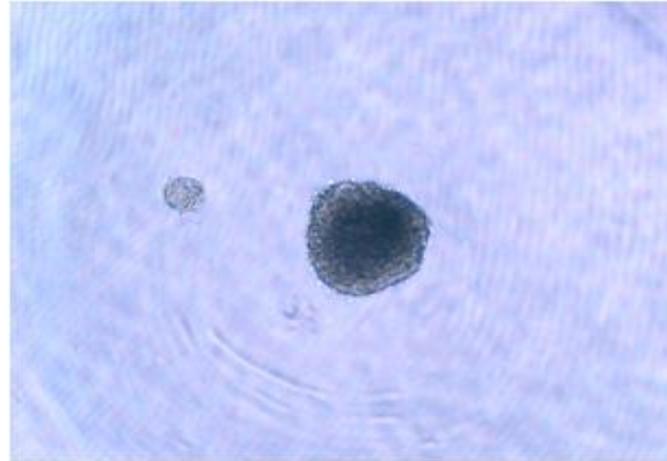
4種類の製品の中でプレートの中でPrimeSurface®が最良！

メーカー	製品名	グレード			
		A	B	C	D
住友ベークライト	PrimeSurface® MS-9096U	95	1	0	0
X	製品 X	87	6	3	0
Y	製品 Y	83	9	4	0
Z	製品 Z	0	0	49	47

1. PrimeSurface[®]96U plate 住友ベークライト

グレードA : 95/96 ウェル

グレードB : 1/96 ウェル

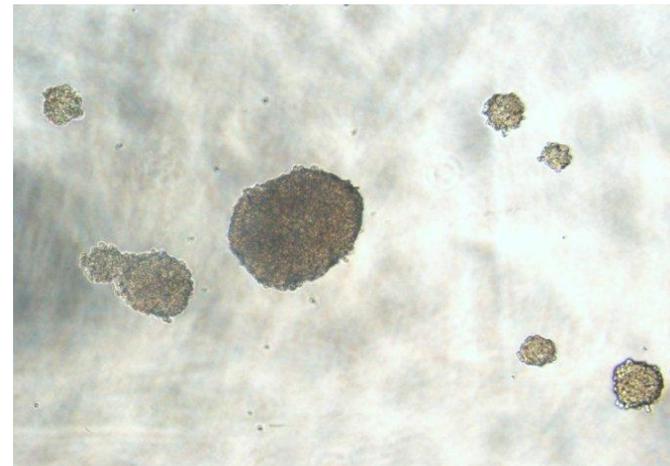
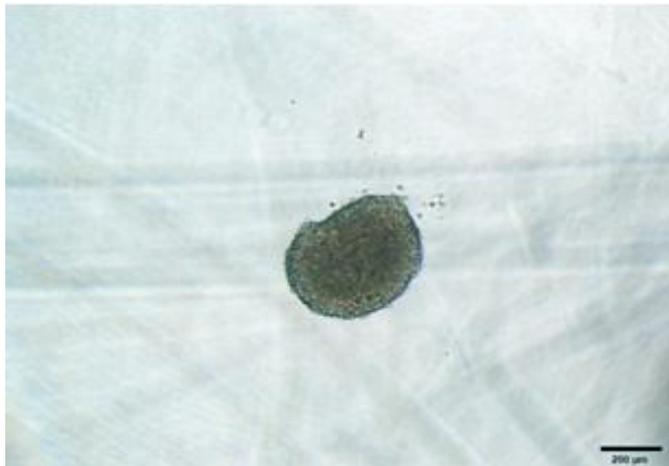
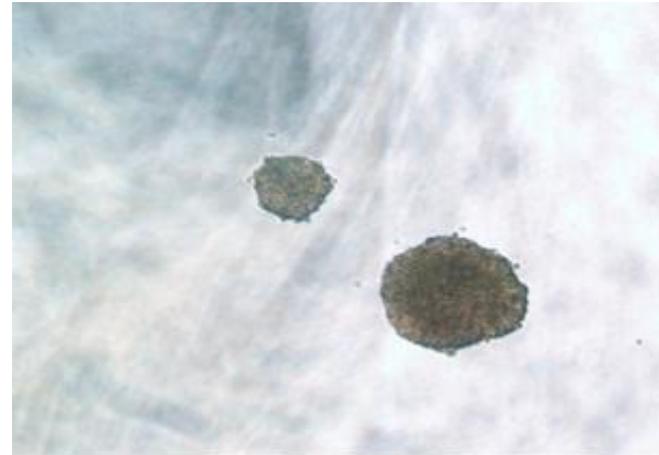


2. 製品 X

グレードA: 87/96 ウェル

グレードB: 6/96 ウェル

グレードC: 3/96 ウェル

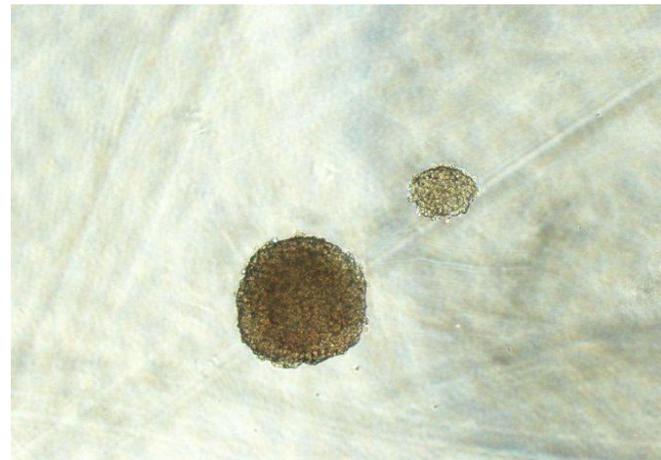


3. 製品 Y

グレードA: 83/96 ウェル

グレードB: 9/96 ウェル

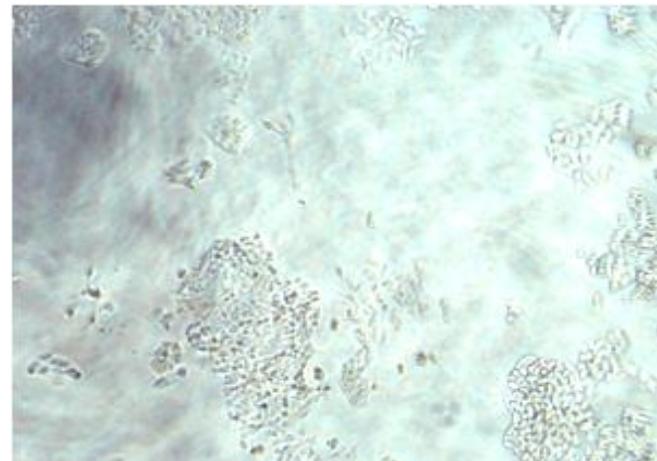
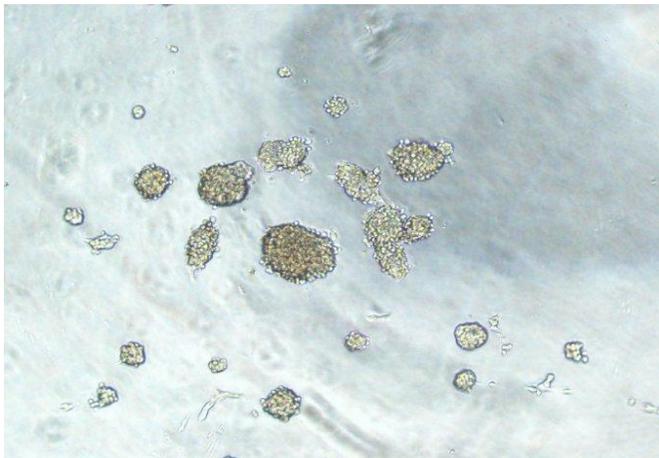
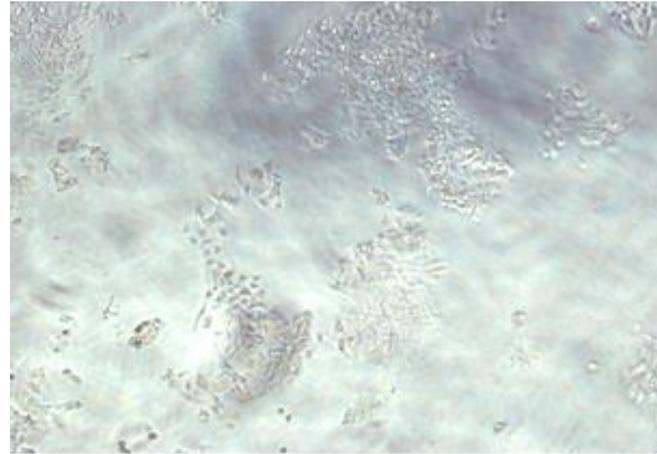
グレードC: 4/96 ウェル



4. 製品 Z

グレードC: 49/96 ウェル

グレードD: 47/96 ウェル



製品Zでは、細胞が器壁に接着してしまい、凝集塊は半数程度しか形成できませんでした。

その他

- 本製品は室温で保存できます。
- 保存期間は2年間です。

お問い合わせ先

住友ベークライト株式会社 S-バイオ事業部

E-mail : s-bio@sumibe.co.jp

TEL : 03-5462-4831, FAX 03-5462-4835