

細胞培養に用いられるコラーゲンゲル膜

iPS細胞などの幹細胞培養を効率化

昨年、マスコミ等で大きく取り上げられた、iPS細胞をはじめとする多能性幹細胞。これらを培養する際には、「フィーダー細胞」との共培養が行われます。フィーダー細胞と幹細胞をタンパク質透過性のコラーゲンゲル膜で分離培養し、フィーダー細胞の機能性を損なわずに幹細胞分離操作を省く方法を開発しました。

▶ 熟練技術が要求される フィーダー細胞の除去

iPS細胞(人工多能性幹細胞)は、生体外ですべての組織に分化する分化多能性を持つため、再生医療や創薬支援など、さまざまな利用分野が期待されています。iPS細胞を増やすためには「フィーダー細胞」と呼ばれる別の細胞を下敷きにして、その上で培養する方法が用いられています。フィーダー細胞が産生する液性の因子(タンパク質など)により、iPS細胞が別の細胞に変化することなく増殖します。しかし、iPS細胞を利用する段階では、フィーダー細胞を完全に除去しなければなりません。この作業には、高額な装置と熟練技術が必要でした。

▶ コラーゲン線維を分離膜に採用

私たちは、フィーダー細胞とiPS細胞をタンパク質透過性の膜で分離培養すれば、フィーダー細胞の効果を損なわずに細胞分離操作を省くことができると考えました(図1)。分離膜に求められる性質は、主に以下の4点です。

- ①細胞接着性
- ②タンパク質透過性および細胞遮蔽性
- ③光学顕微鏡観察が可能な光透過性
- ④培養操作に耐えられる強度

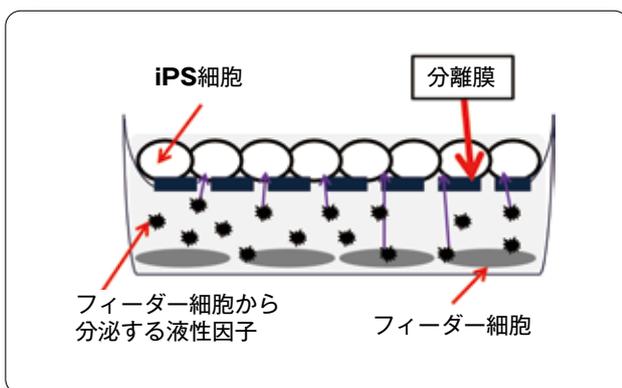


図1 分離膜のイメージ

そこで、分離膜の素材としてコラーゲン線維に着目しました。コラーゲンは生体内で細胞を取り囲む物質そのものであり、細胞接着性を持つ培養基材です(性質①)。太さが約100nmのコラーゲン線維が絡み合ったゲルは、血清アルブミン(分子量6万)を透過させます(性質②)。最終的には、メッシュによる補強により性質②および③を損なわずに性質④をクリアし、底面にコラーゲンゲル分離膜を持つ培養容器を開発しました(図2)。

▶ iPS細胞を自在に分化させる 培養容器の開発に成功

開発した培養容器を用いることで、これまで難しかったiPS細胞とフィーダー細胞の分離培養を簡便に使えるようになりました。実験の結果、分離膜上でiPS細胞は明瞭なコロニーをつくり(図2)、全細胞の90%以上がiPS細胞の状態(未分化状態)を保ったため、分離膜の有効性が実証されました。

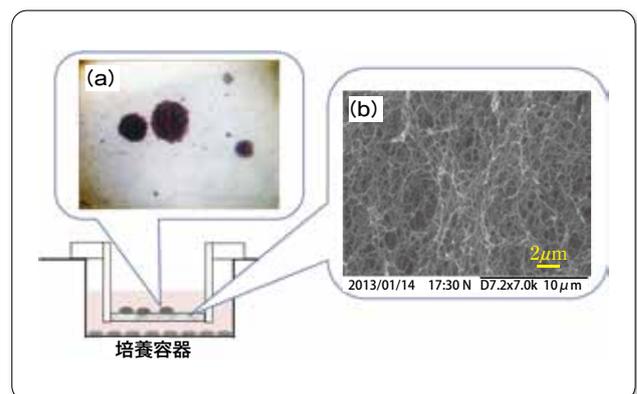


図2 開発した培養容器

- (a)分離膜で培養したiPS細胞の位相差顕微鏡像
- (b)分離膜のコラーゲンナノ線維のSEM像

本技術の最大の利点は、培養容器を移すだけで別の培養系に移行できることです。つまり、iPS細胞を剥がすという熟練作業が不要になります。本技術により、培養容器上のiPS細胞を神経細胞へと分化させることに成功しました。