

2月24日(水)16:30~16:50
産学官連携展示出展企業セミナー

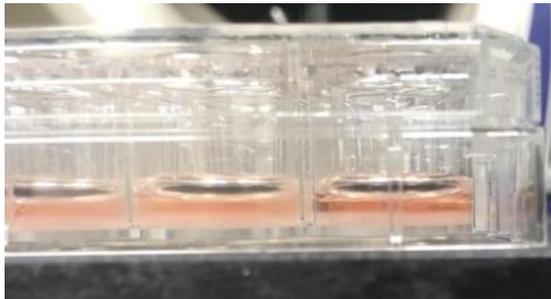
Nano T

NFBC由来新規3次元細胞培養基材 (3D-NanoFibGrow)

Nano T-Sailing 合同会社

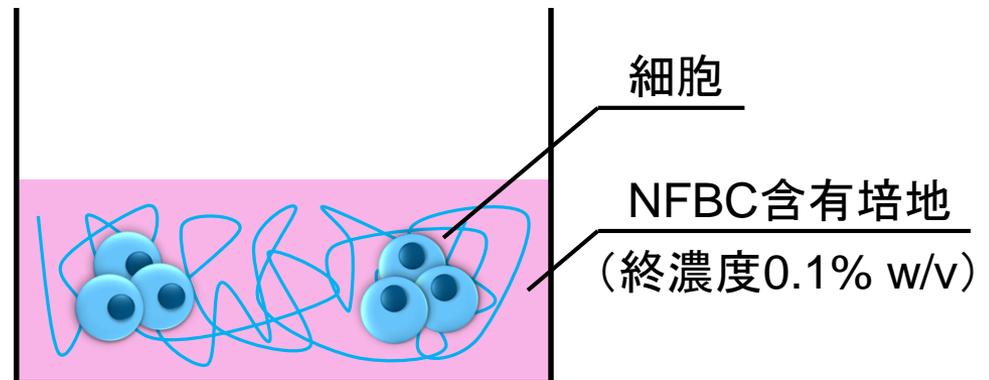
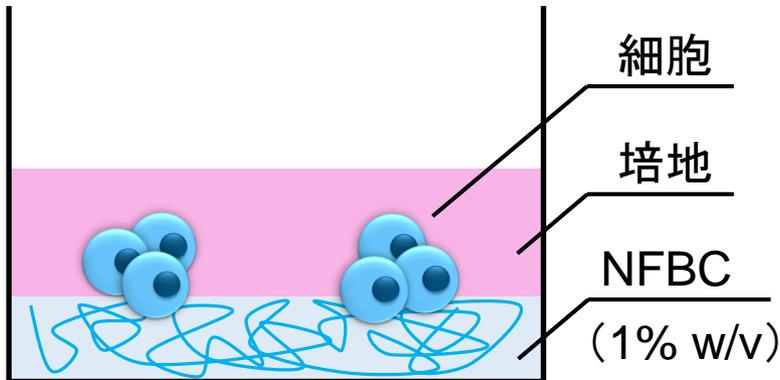
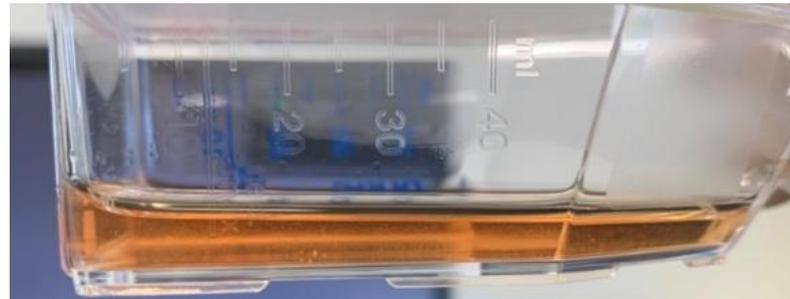
On gel法

NFBCを細胞の足場として利用
培地交換が比較的簡便
NFBCを添加するだけ！



Suspension法

低濃度のNFBCを含有した培地で培養
細胞の浮遊培養が可能
NFBC含有培地で培養するだけ！

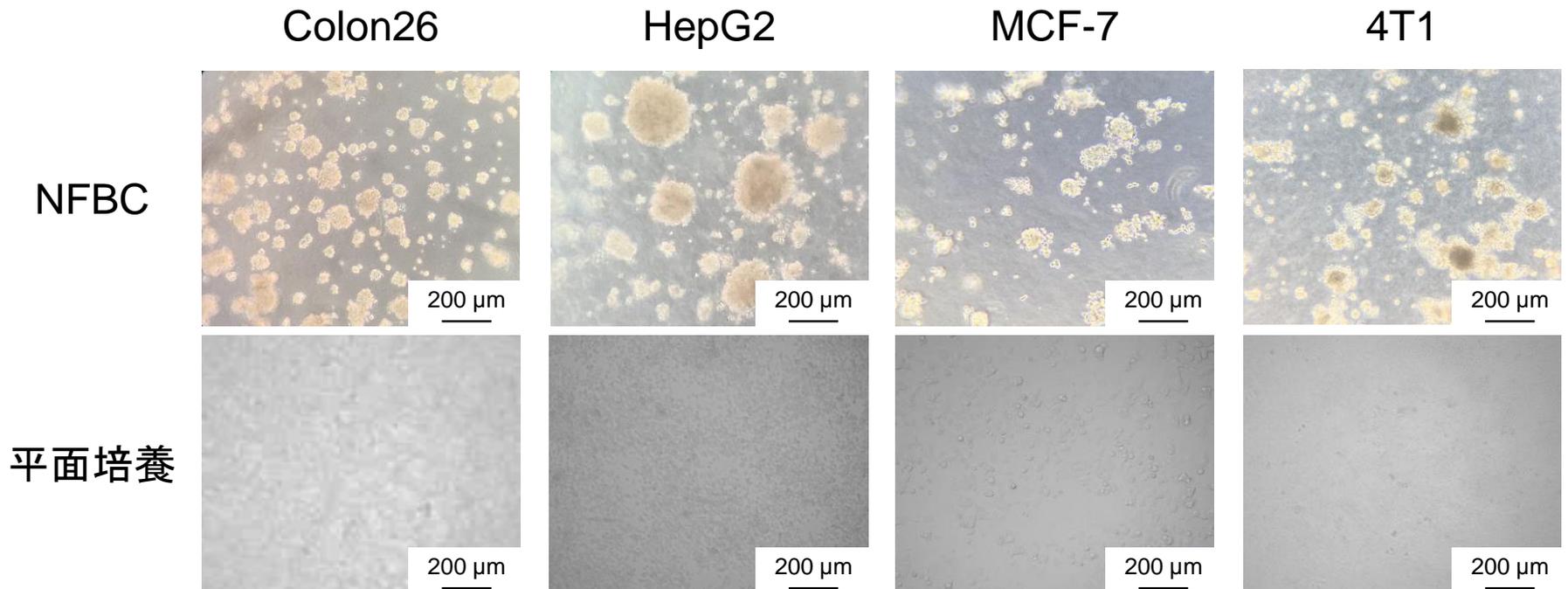


1. 種々がん細胞を3次元培養することで、**がんスフェロイド**を作成可能

がん細胞種：

Colon26マウス結腸がん細胞、HepG2ヒト肝がん細胞、
MCF-7ヒト乳がん細胞、4T1マウス乳がん細胞

On gel法で、各種がん細胞を培養

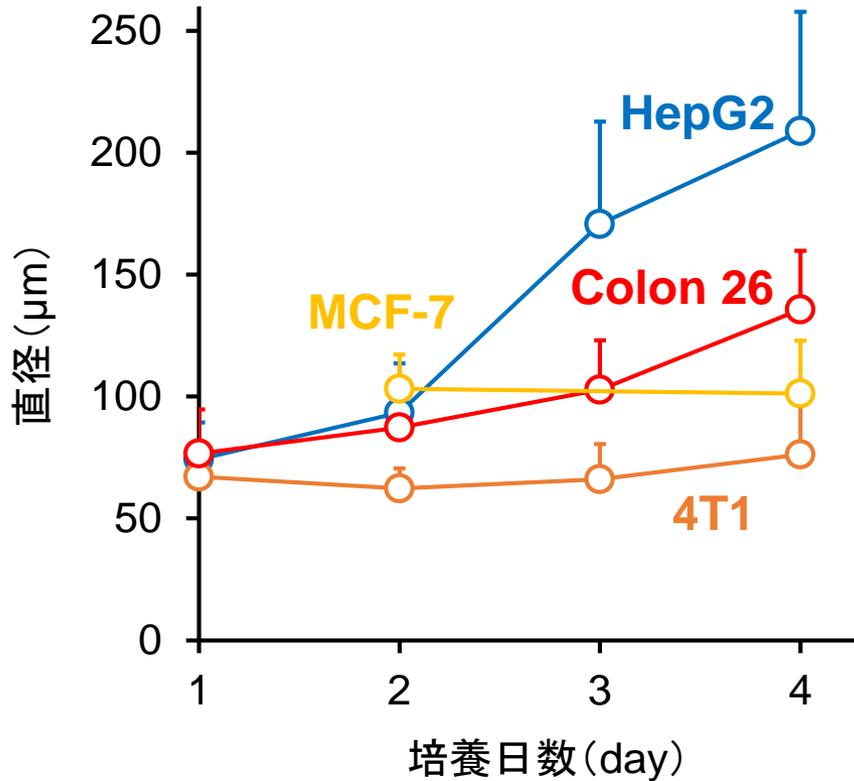


種々がん細胞のスフェロイドの作成に成功した

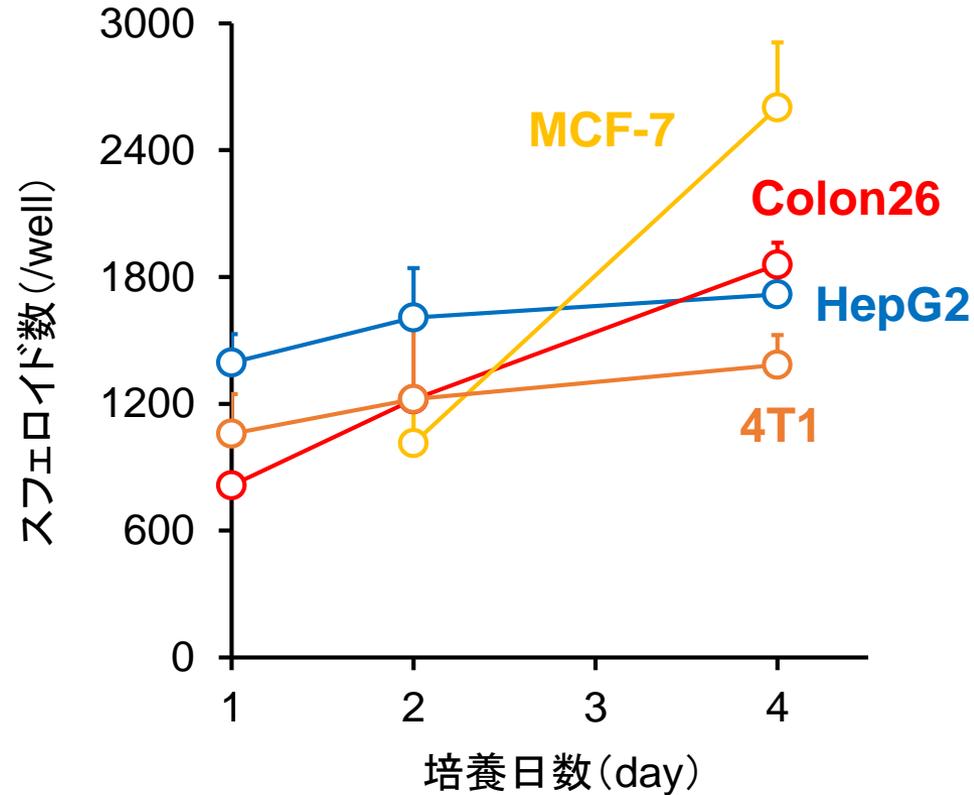
1. 種々がん細胞を3次元培養することで、がんスフェロイドを作成可能

On gel法で、各種がん細胞を培養、スフェロイド径・スフェロイド数を顕微鏡で測定

スフェロイド径の測定



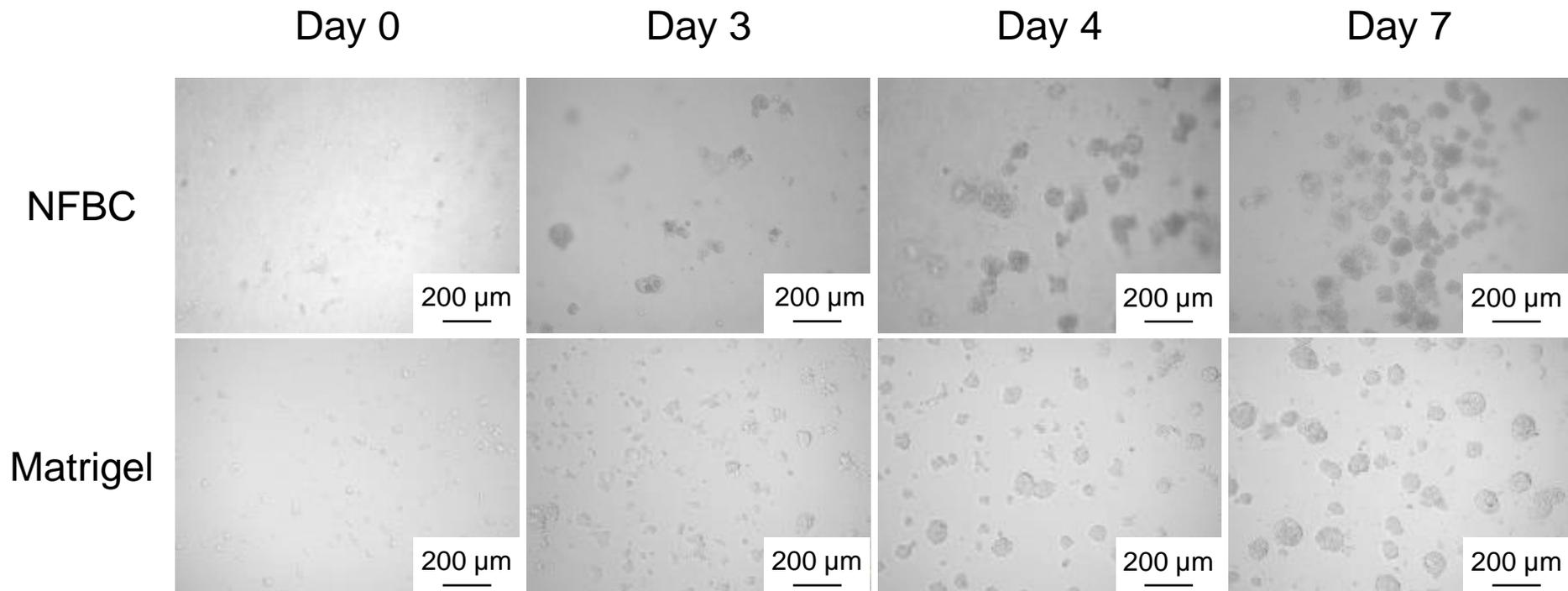
スフェロイド数(直径40 μm以上)の測定



がんスフェロイドの成長を経時的に観察したところ、スフェロイドの大きさ・数共に増加することを示した

2. 既存の3D培養基材(マトリゲル)と比較して、スフェイロイドの成長速度はほぼ同程度

MCF-7を用い、3次元培養基材として最も汎用されている**Matrigel**と比較検討
NFBC培養群は、On gel法で培養

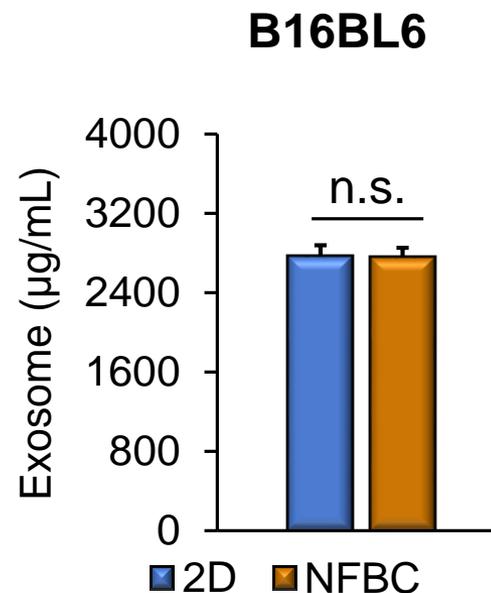
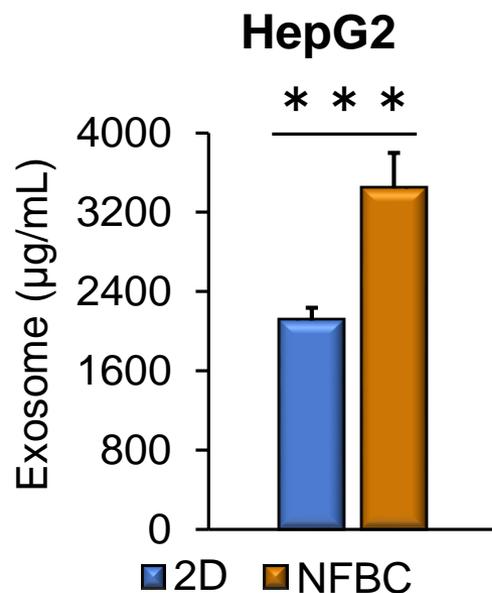
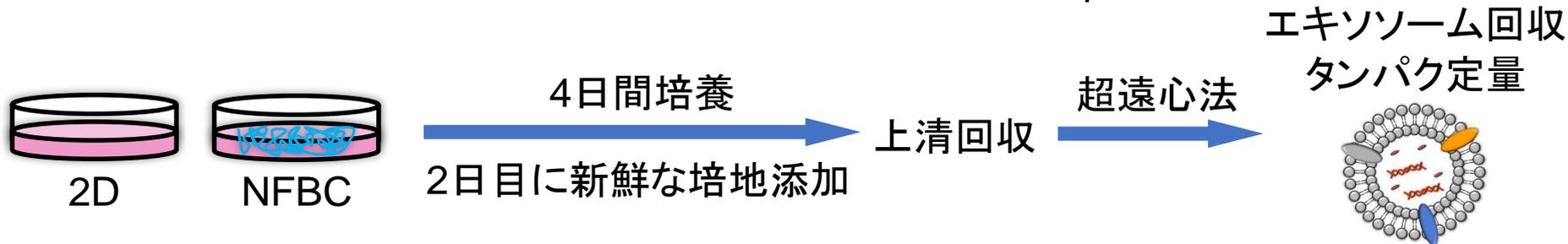


スフェイロイドの形成にかかる日数は成長因子等を含むMatrigelと同程度であった

3. がんスフェロイドを培養することで機能性の高いエクソソームの分泌を誘導

細胞; HepG2(ヒト肝がん細胞)、B16BL6(マウスメラノーマ細胞)

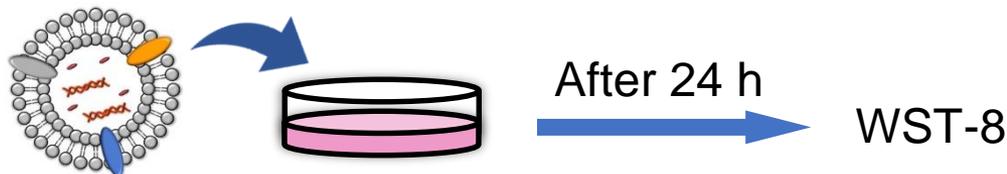
培養法; 2D培養、NFBCを用いた3次元培養(Suspension法)



NFBCで3次元培養したがん細胞においてもエクソソームを分泌しており、がん種によっては分泌量が亢進した

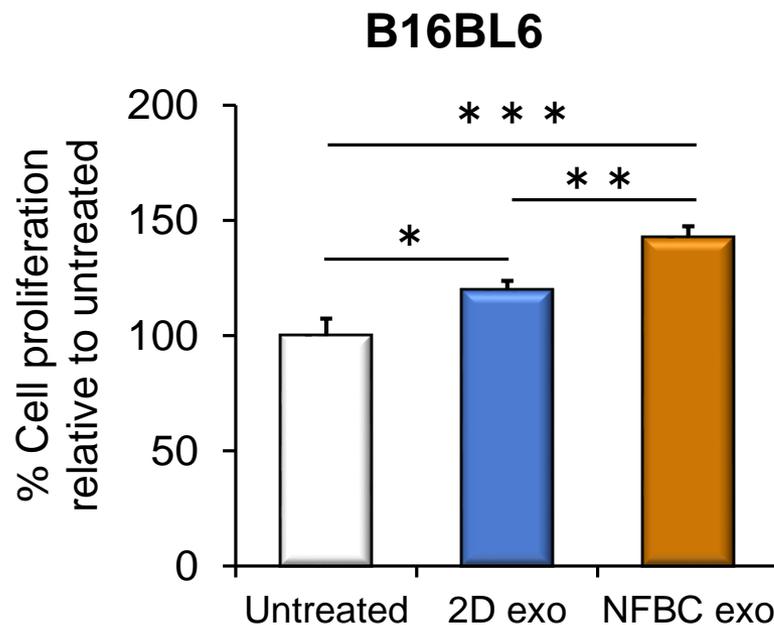
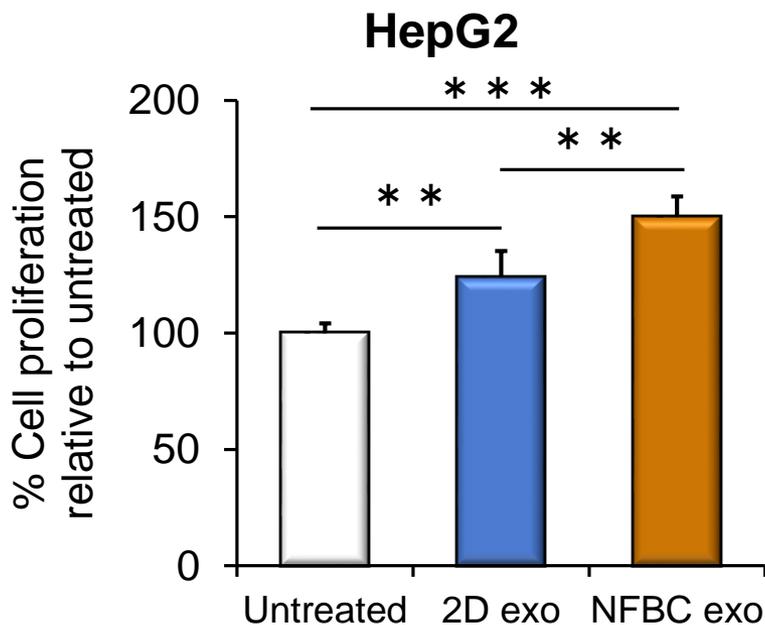
3. がんスフェロイドを培養することで機能性の高いエクソソームの分泌を誘導

細胞 ; HepG2 (ヒト肝がん細胞)、B16BL6 (マウスメラノーマ細胞)



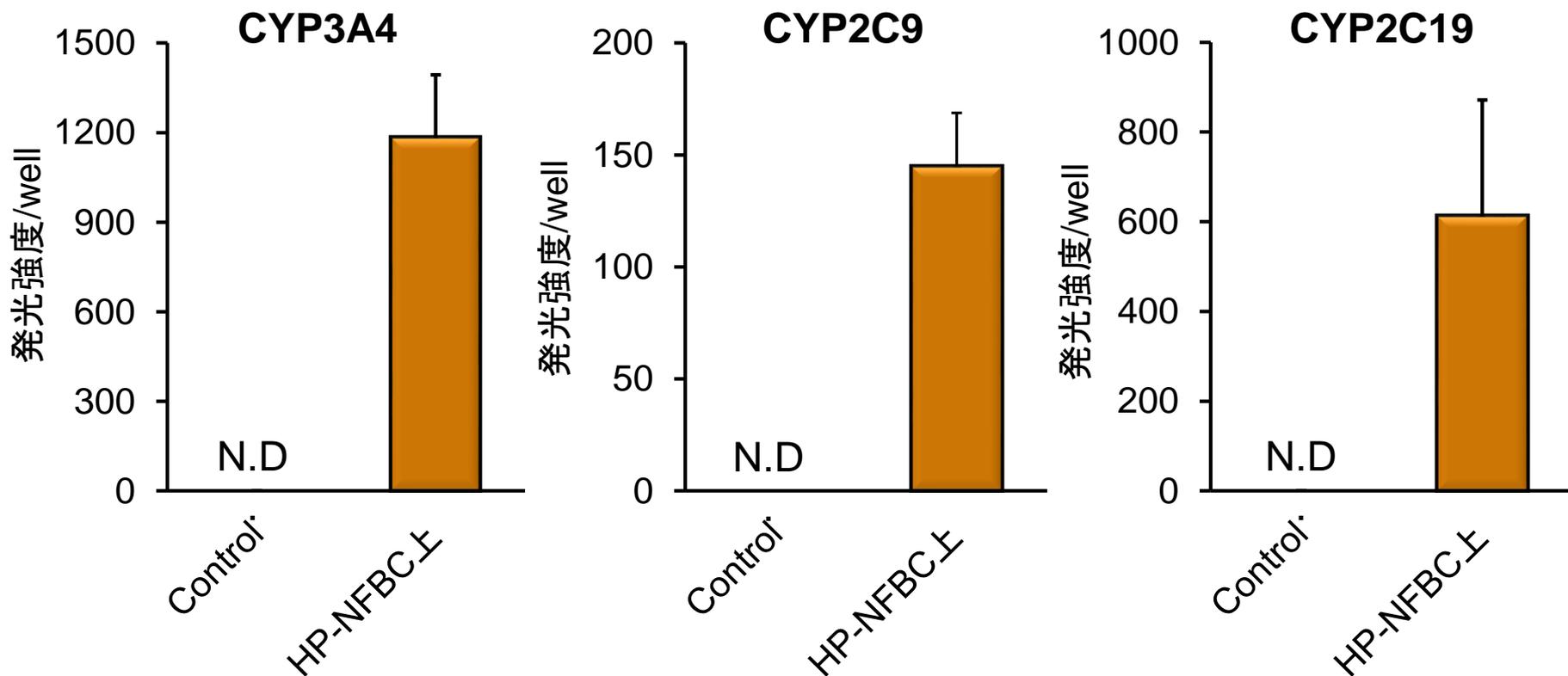
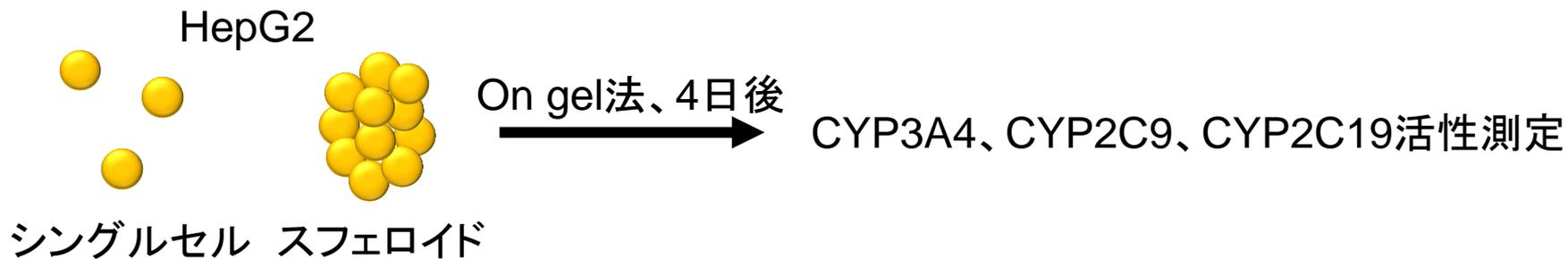
2D exo: 2D培養の細胞から回収したエクソソーム

NFBC exo: NFBC-3次元培養 (Suspension法) の細胞から回収したエクソソーム



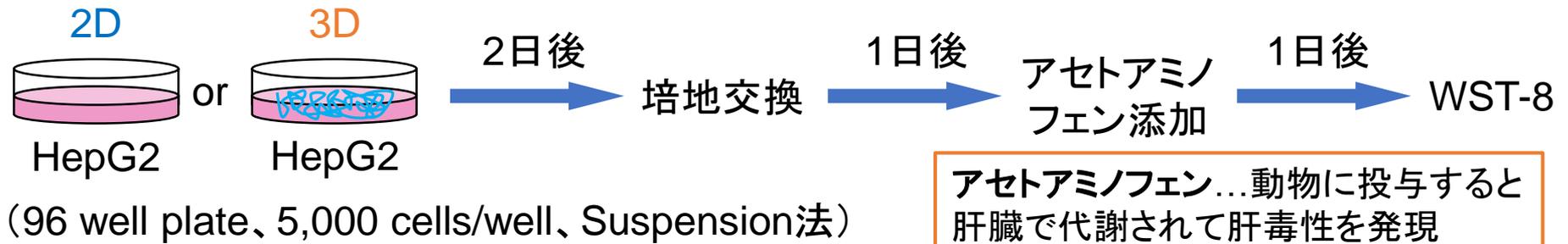
NFBCで培養したがん細胞由来のエクソソームは、
通常のエクソソームと比較して、親細胞に対する細胞増殖能が高かった 7/18

4. 作成したHepG2肝がんスフェロイドは各種薬物代謝酵素(CYP)の活性が上昇する

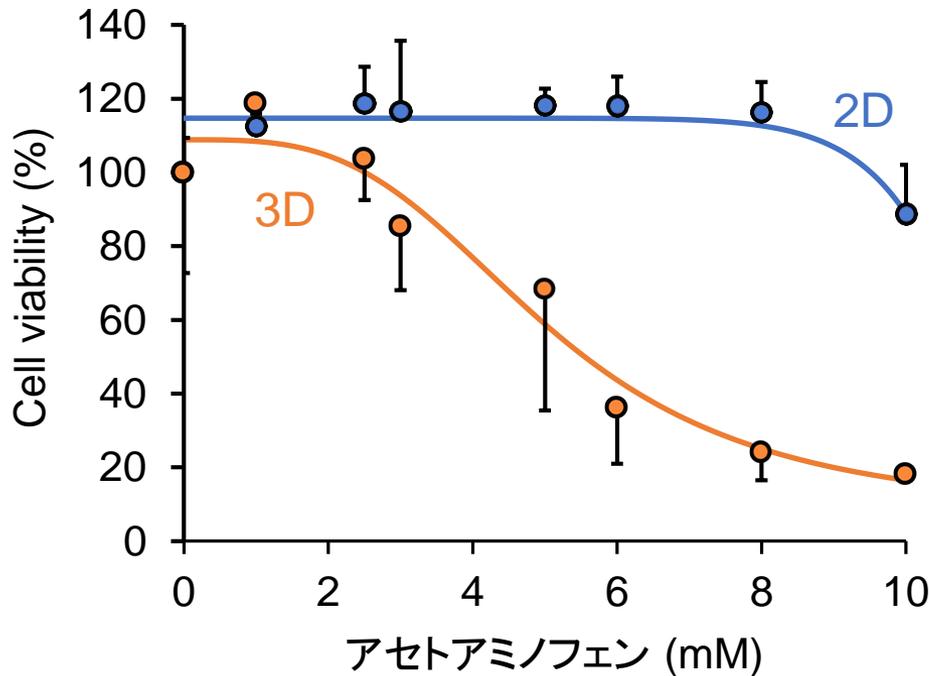


HepG2細胞をスフェロイド化することにより、肝臓が本来有するCYP活性を取り戻した

5. HepG2肝がんスフェロイドを用いることで、 薬物の代謝活性および代謝毒性のスクリーニングが可能



アセトアミノフェンの代謝毒性

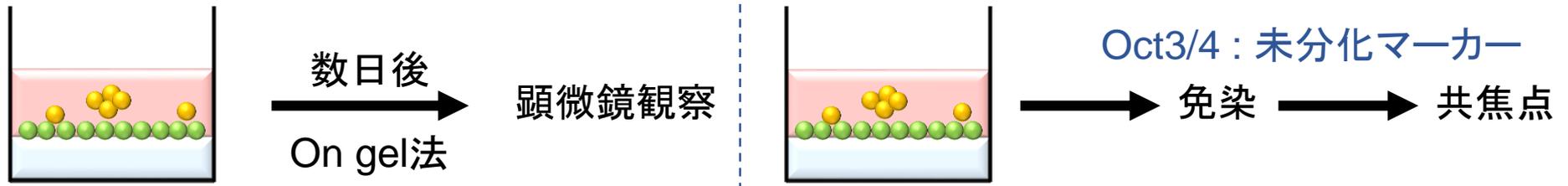


これまで動物モデルで評価していた薬物の代謝活性を、*In vitro*のモデルで評価可能

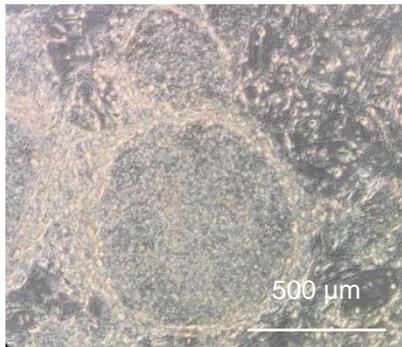
↓
ハイスループットで簡便な代謝試験モデル

3D培養して作成したHepG2スフェロイドは、薬物の代謝試験に有用

7. iPS細胞を3次元培養することで、未分化性を維持したiPSスフェロイドを作成可能



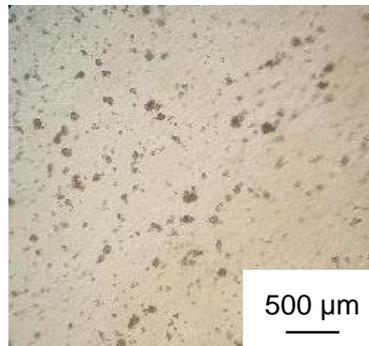
iPS細胞の平面培養



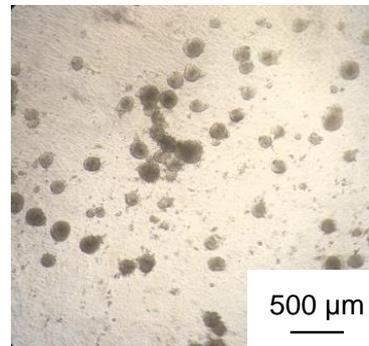
NFBC

NFBC

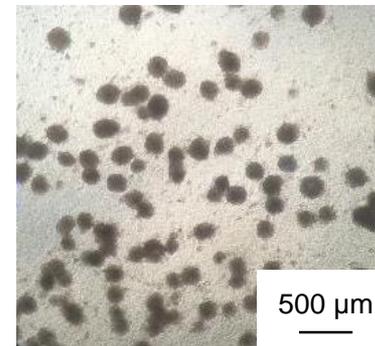
Day 1



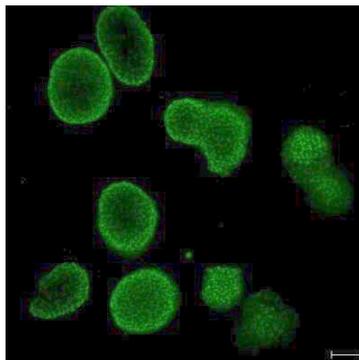
Day 5



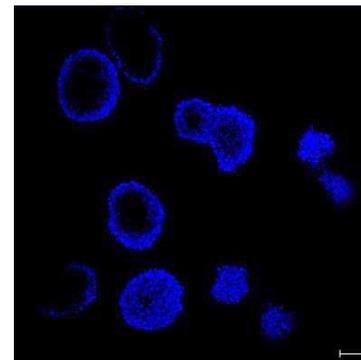
Day 9



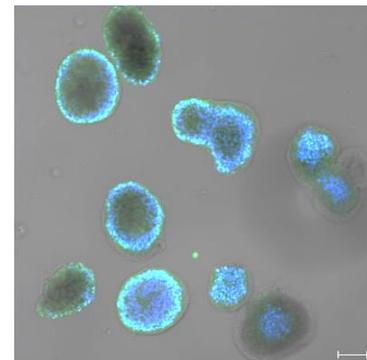
Oct3/4



Hoechst



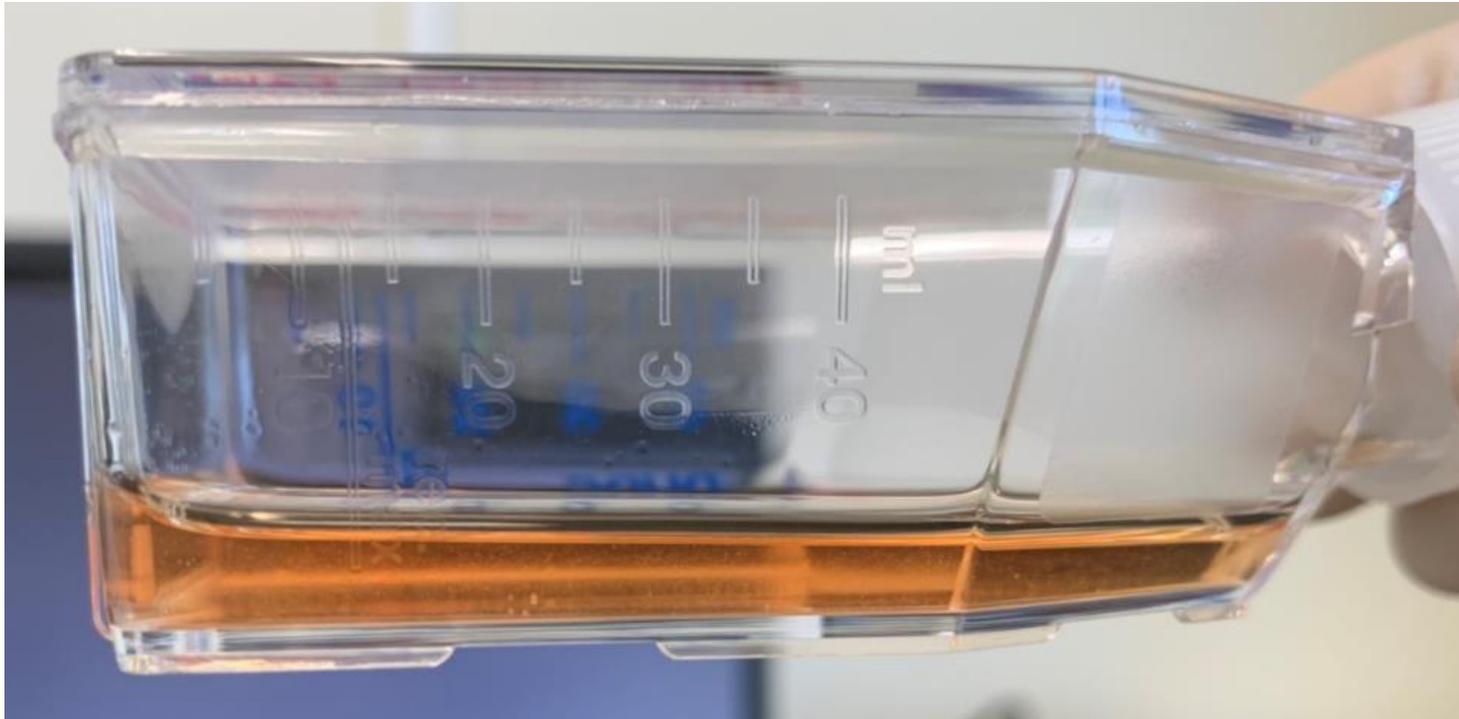
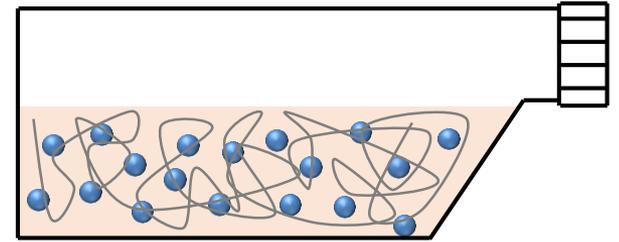
Merged



NFBCを用いてiPS細胞を培養することで、未分化性を維持した状態でスフェロイドを作成することに成功した

8. フラスコを用いたスフェロイドの大量培養にも応用可能

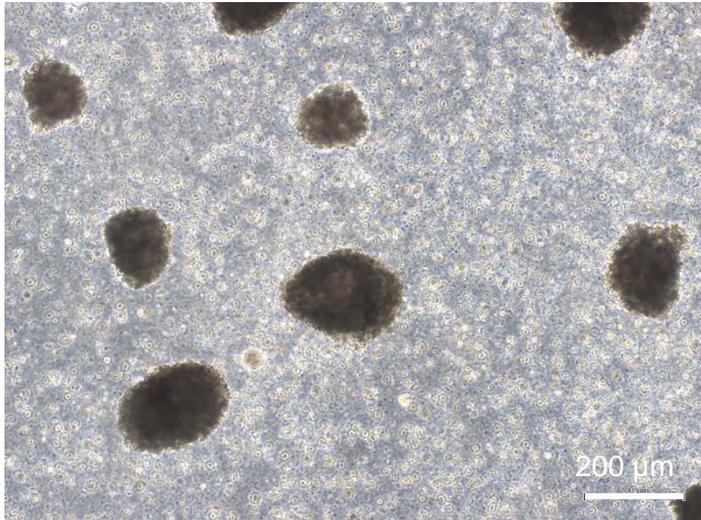
1. iPS培養培地にNFBCを添加、均一になるように混合
2. iPSコロニーを播種
3. CO₂インキュベーターで培養



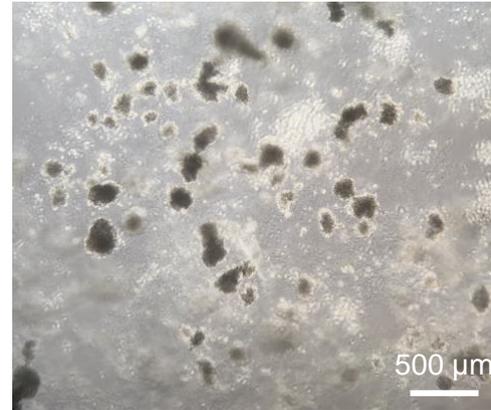
NFBCを用いた3次元培養(Suspension法)は、フラスコ等での大量培養も可能

8. フラスコを用いたスフェロイドの大量培養にも応用可能

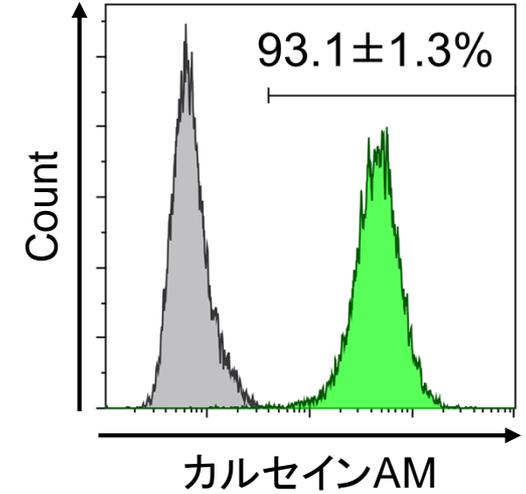
iPS細胞



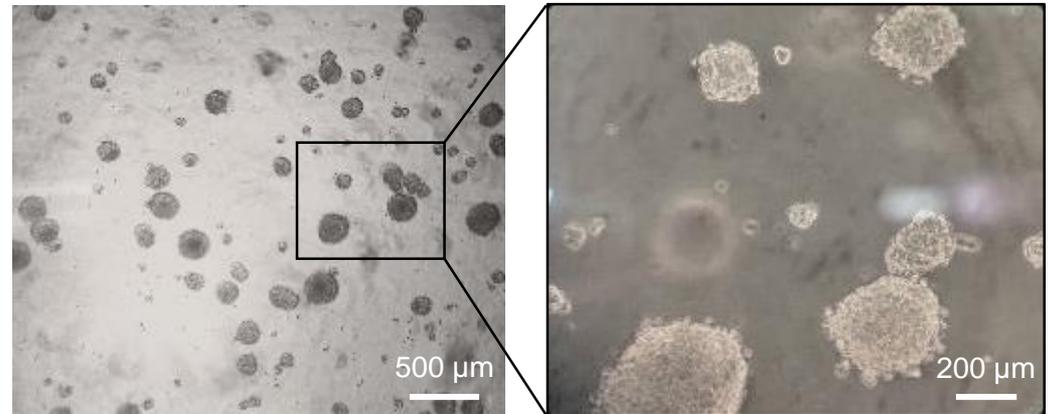
HepG2



生細胞率の評価



Colon26



NFBCとその他の3次元培養基材との比較

	3D-NanoFibGrow™		Matrigel®	他の3D培養キット
	On gel法	Suspension法		
がんスフェロイドの形成	○	○	○	△
CYP活性の発現	◎	○	○	
代謝活性評価への利用		○		
エクソソームの分泌と評価		○ (大容量での培養が必須)		○ (加工プレートでの培養)
iPSスフェロイドの形成	○	○	○	○
MSCの3次元培養	△	○		○
腫瘍移植基材としての利用		○	○	
培養スケール	小 (ウェルプレートでの培養)	小～大 (フラスコでの培養まで可能)	小 (ウェルプレートでの培養)	小～大 (キットによって様々)
操作	<ul style="list-style-type: none"> 室温で操作可能 滅菌可能 細胞懸濁液と混ぜるだけ 		<ul style="list-style-type: none"> 4℃で液体、37℃で固体なので操作が煩雑 	<ul style="list-style-type: none"> 複数種類を組み合わせるので、操作が煩雑
コスト(培地500 mLでの培養を想定)	20,000円～40,000円		2,000,000円	60,000～100,000円