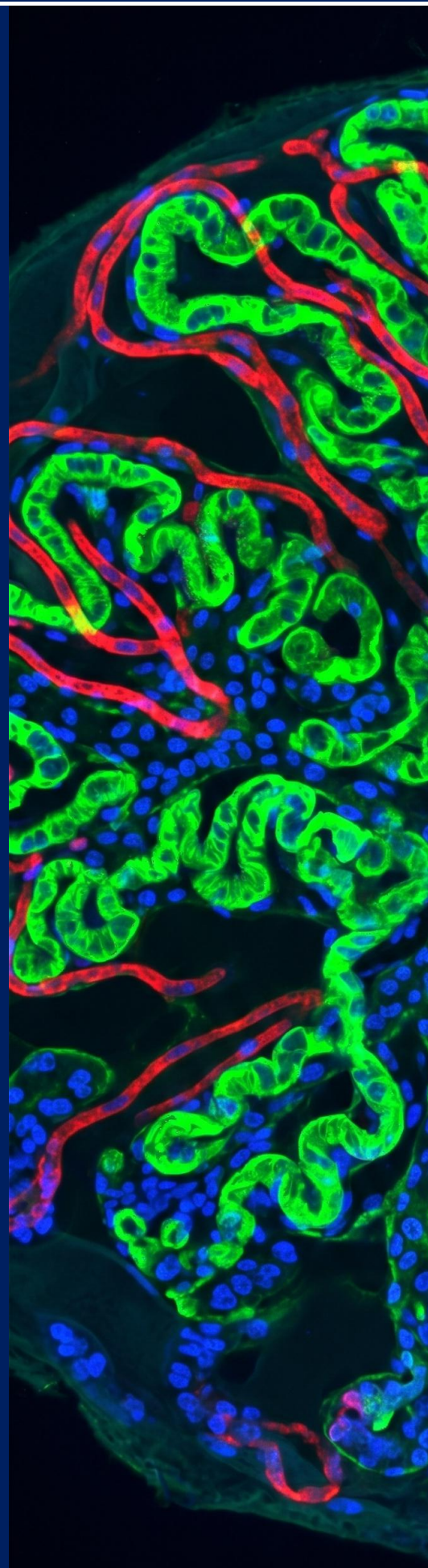
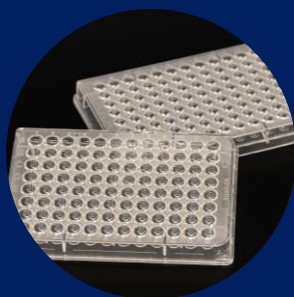
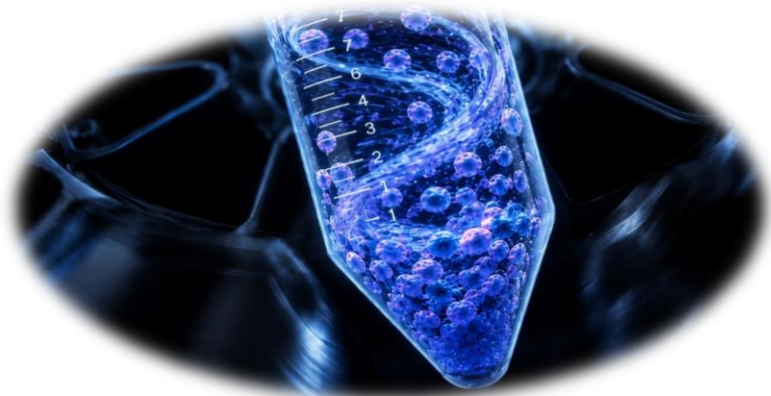


- 細胞回収用遠沈管 ステムフル®
- 3次元培養プレート PrimeSurface®
- オンチップポンプ型多臓器MPS BioStellar® Plate



1. オルガノイド作製用の細胞準備

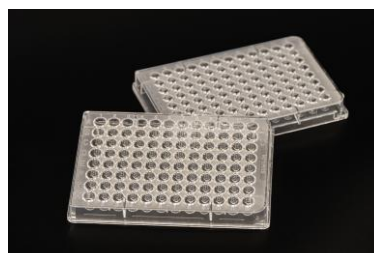
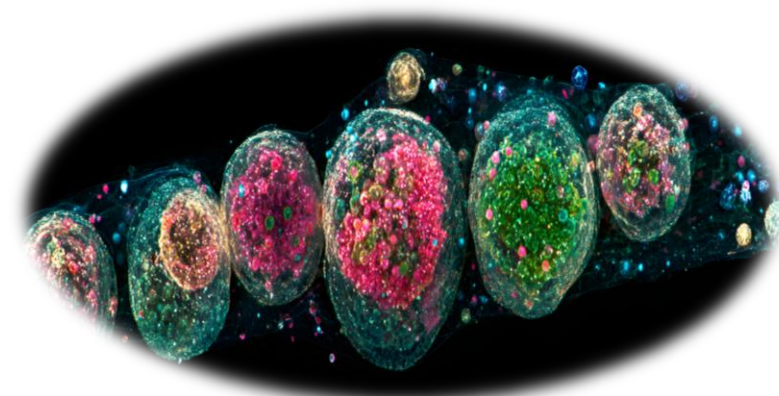
細胞回収用遠沈管 ステムフル®



製品紹介はこちら

2. オルガノイドの成熟培養

3次元培養プレート PrimeSurface®



製品紹介はこちら

3. オルガノイドを用いた薬効評価

オンチップポンプ型多臓器MPS BioStellar® Plate



製品紹介はこちら

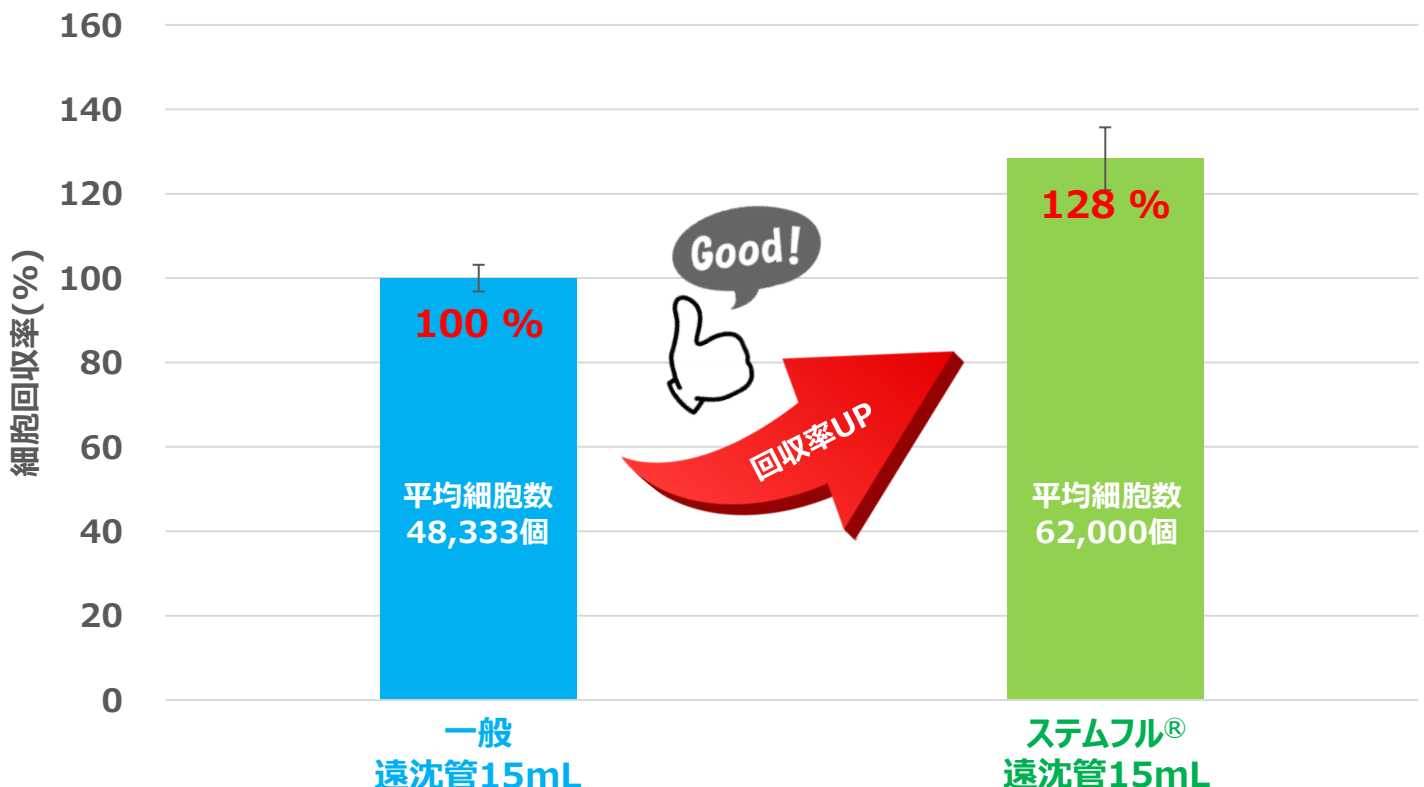
小腸オルガノイドのシングルセル回収における比較試験

再生医療研究が発展し、臓器移植の代替法としてオルガノイドを用いた細胞移植療法が近年注目されています。オルガノイドを患者の体内に移植することで、本来の臓器と同様の機能を発揮することが期待されています。機能的な臓器を再生するために、移植するオルガノイドは一定の数が必要で、継代などで増やす必要があります。また、オルガノイドからシングルセルを作製しシングルセル解析を行うことで、がん等の疾患の発症メカニズムの解明や新たな治療法の開発に貢献する可能性を秘めています。オルガノイド研究が進歩する中で、オルガノイドの継代やシングルセル解析で希少な細胞を効率よく回収したいという声が高まっています。

データ提供：慶応義塾大学医学部医化学教室
教授 佐藤俊朗先生

【実験条件】

- 試料 : 患者由来小腸オルガノイド
- 試料数 : n=3
- 容器 : **ステムフル®遠沈管15mL (品番 : MS-90150)**
一般遠沈管15mL
- 測定方法 : 小腸オルガノイドを細胞解離酵素を用いてシングルセルに解離したのち、無血清培地で洗浄後の細胞数を計測。
他社一般遠沈管の回収率を100%として換算して比較。



ステムフル®は一般遠沈管に比べ細胞吸着による細胞ロスが少なく、貴重な細胞の回収率向上に貢献します。

Modeling embryo-endometrial interface recapitulating human embryo implantation

Shun Shibata, Shun Endo, Luis A. E. Nagai, Eri H. Kobayashi, Akira Oike, Norio Kobayashi, Akane Kitamura, Takeshi Hori, Yuji Nashimoto, Ryuichiro Nakato, Hirotaka Hamada, Hirokazu Kaji, Chie Kikutake, Mikita Suyama, Masatoshi Saito, Nobuo Yaegashi, Hiroaki Okae, and Takahiro Arima

Sci. Adv. 10, eadi4819 (2024). <https://doi.org/10.1126/sciadv.adi4819>

Copyright © Authors 2024

This article is licensed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

【背景】

ヒト妊娠開始の初期段階は、胚が子宮内膜に着床することによって規定されます。しかし、着床の機序は倫理的制約や技術的制限により依然として十分に解明されていません。特に、子宮内膜上皮・間質細胞および血管内皮細胞の三次元的構造とそれらと胚の相互作用については未解明の課題が多いです。従来の2D培養モデルや単純な共培養系では、in vivoの組織構造やホルモン応答性、細胞間機能的ネットワークを再現することが困難でした。

【本研究の成果】

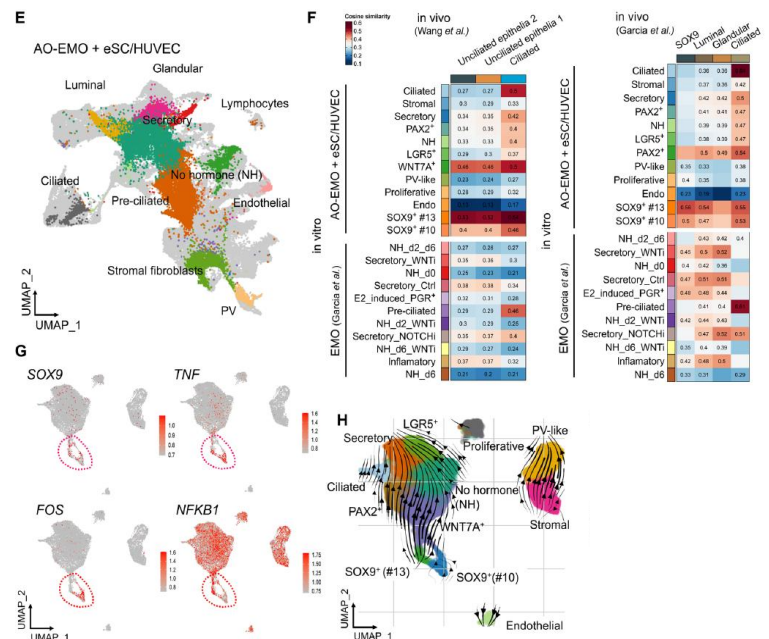
本研究では、ホルモン応答性を保持し子宮内膜組織のin vivo構造を模倣した上皮細胞主体の子宮内膜オルガノイド (AO-EMO) を作製しました。AO-EMOはアピカル側を外向きに有し、濃密な間質細胞と自己形成する内皮ネットワークを含み、ホルモン刺激による成熟・分泌能の向上も確認されました。

AO-EMOとヒト胚性幹細胞由来胚様体と共培養することで、接触、接着、浸潤といった重要な着床過程を再現する「胎児-母体集合体」を確立しました。またこのモデルでは、ヒト胚盤胞を用いて、合胞体細胞 (シンシチウム) および子宮内膜間質細胞への浸潤および融合が確認され、着床における細胞間融合・相互作用の詳細な解析が可能となりました。

ヒトの胚着床機構を高精度に再現するこのモデルは胚と母体の複雑なシグナル・物理相互作用の解明に新たな実験基盤を提供し、生殖医療の発展に貢献が期待されます。

【本研究におけるステムフル®の使い方】

シングルセルRNAシーケンス (scRNA-seq) 解析において、細胞懸濁液の取り扱い時にステムフル®を使用。細胞の吸着・損失を最小限に抑制し、高品質なRNAシーケンスデータ取得に貢献しています。これは高度な細胞解析を伴う実験において、信頼性の高い結果を得る上で重要な役割を果たしました。



(詳細は論文をご参照ください)

ヒトiPS由来腎臓オルガノイドの作製と創薬研究への応用

【はじめに】

iPS細胞由来のオルガノイド作製技術は、近年の再生医療や創薬研究において革新的な進展をもたらしています。オルガノイドは、実際の組織や器官の三次元的な構造や機能を忠実に再現できるため、従来の二次元細胞培養では困難であった生体内の複雑な微小環境を模倣し、病態解明や薬剤の効果・安全性評価における新たな研究モデルとして注目されています。

本アプリケーションノートでは、PrimeSurface®を用いた高品質なヒトiPS由来腎臓オルガノイドの均一で再現性の高い作製技術を紹介し、そのオルガノイドが疾患モデルの作製、薬効評価や薬剤スクリーニングとしても応用でき、創薬研究の効率化に貢献します。

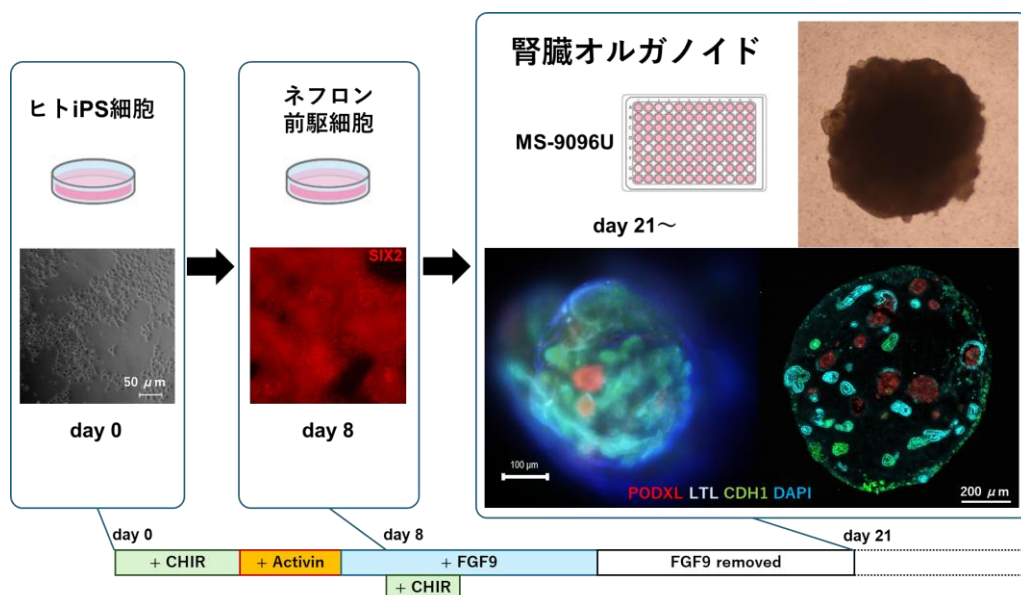
【腎臓オルガノイドの作製】

・**iPS細胞の分化誘導**： ヒトiPS細胞を段階的な刺激条件（CHIR99021、Activin A、FGF-9の添加）によりネフロン前駆細胞まで分化誘導しました。

・**三次元培養とオルガノイド形成**： Day8に分化誘導中の細胞をPrimeSurface®に播種し、特殊な表面処理により細胞凝集と均一な腎臓オルガノイド形成を促進しました。

・**培養および評価**： 約21日間培養後、形成されたオルガノイドを回収し、免疫蛍光染色で腎臓特異マーカーを評価しました。高品質で機能的な三次元組織形成を確認しました。

PrimeSurface®を用いることで、ヒトiPS細胞由来腎臓オルガノイドは均一で高い再現性をもつサイズに形成されました。免疫染色解析においても、腎臓のネフロン構造を構成する主要な細胞マーカーが適切に発現しており、機能的な三次元組織の形態形成が示されました。



【発現マーカー】

① **PODXL**：腎臓の糸球体内にある足細胞（ポドサイト）で発現する膜タンパク質です。足細胞のシグナル伝達や細胞間接着、糸球体基底膜との相互作用に関与し、腎臓の血液ろ過機能の維持に重要な役割を果たします。オルガノイドでは足細胞のマーカーとして用いられます。

② LTL：近位尿細管の表面に特異的に結合します。近位尿細管の細胞表面の糖鎖構造に結合し、尿細管機能の指標や構造の同定に使われます。オルガノイドでは近位尿細管部分の識別に利用されます。

③ CDH1：上皮細胞の細胞間接着に関与する重要な接着分子であり、腎臓の遠位尿細管や集合管で主に発現します。細胞の組織構造を維持し、細胞間の結合を介して形態形成や組織の健全性を保つ役割を担います。

④ DAPI：DNAと特異的に結合する蛍光色素で、細胞核を染色するためのカウンターステインとして広く使用されます。細胞の存在および核の形態を観察するための基本的な染色方法です。

【データご提供】 東京科学大学 腎臓内科 講師 須佐 紘一郎 先生

【PrimeSurface®で作製したオルガノイドによる創薬支援】

・**高い均一性・再現性**： PrimeSurface®は特殊な表面処理により均一な細胞接着基盤を提供することで、均質かつ再現性の高いオルガノイド形成を実現します。これにより薬剤反応のばらつきを減少させ、スクリーニングの信頼性が向上します。

・安定した長期培養環境： 長期間の培養に耐える安定性があり、繰り返しの薬剤添加や慢性的な影響の評価も可能です。

・**機能的評価に適した三次元構造**： 腎臓のネフロン構造を模倣し、主要細胞マーカーを発現するため、薬剤の有効性・毒性評価において従来の2D培養よりも実臨床に近い評価が可能です。

・**創薬研究の効率化と成功確率の向上**： 安定した培養系により評価実験のバラツキが抑制され、評価結果の品質が向上。疾患モデルの作製、薬効評価や薬剤クリーニングの効率化および創薬成功率の向上に寄与します。

PrimeSurface®は均一で再現性の高い高品質なオルガノイド形成を可能にし、オルガノイド研究における信頼性の高い培養システムとして有効です。

さらに、疾患モデルの作製、薬効評価や薬剤スクリーニングへ応用でき、創薬研究の革新と効率化に寄与します。

ヒト大脳皮質オルガノイド作製

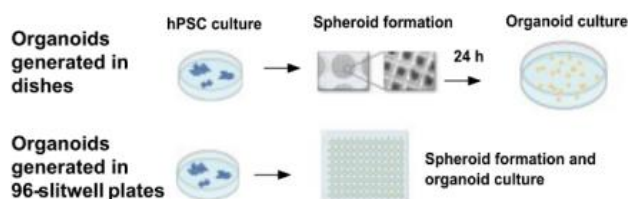
データ提供：米国ニューロシステム研究所 (NSCI) 主任研究員 テイラー・ベルチュッチ博士

【はじめに】

ヒト多能性幹細胞 (hPSC) 由来の大脳皮質オルガノイドは、人間の脳発達や神経疾患の研究に役立つ有用なモデルです。これらのオルガノイドは、神経新生やグリア新生といった重要な発達過程を再現し、皮質の構造と機能を長期間にわたり研究可能にします。しかし、従来のプロトコルは生産効率が低く、hPSC系統間でのばらつきが大きいことから再現性に課題がありました。本研究では、PrimeSurface®スリットウェルプレート96Sを用いた改良プロトコルを開発し、複数のドナー由来細胞での作製効率および再現性を向上しました。これにより、疾患関連の代謝異常を敏感に検出でき、神経変性疾患のメカニズム解明に貢献できます。

【方法】

PrimeSurface®スリットウェルプレート96Sを使用してhPSCから大脳皮質オルガノイドを作製しました。ウェル内でスフェロイドを形成し、その後特定のパターンニング因子を用いて培養を行いました。対照群はマルチデインブルディッシュでスフェロイドを形成後、24時間後にディッシュに移し替えてオルガノイド培養を行いました。培養期間中、オルガノイドの形態とサイズを定期的にモニタリングし、神経マーカーの発現を評価するために免疫染色を行いました。PrimeSurface®スリットウェルプレート96Sを使用することで、効率的かつ再現性のある大規模なオルガノイド作製が可能となりました。



Day 1	5 days	Day 6	19 days	Day 25	18 days	Day 43
E6 medium +SB431542 +dorsomorphin +XAV939		Neurobasal medium + B27 + EGF + FGF2		Neurobasal medium + B27 + BDNF + NT3		Neurobasal medium + B27

【結果】

- PrimeSurface®スリットウェルプレート96Sで培養されたオルガノイドは、数の減少が最小限で、高い生存率、均一なサイズ、安定した成長を示しました。

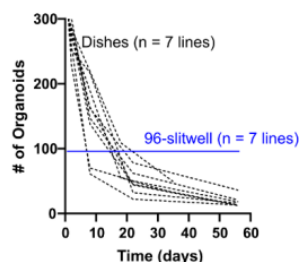


Fig. 1 培養期間経過に伴うオルガノイドの数は、対照群（破線）ではオルガノイド同士が融合し、減少した。PrimeSurface®スリットウェルプレート96S（青実線）では融合による減少が防止され数が維持された。

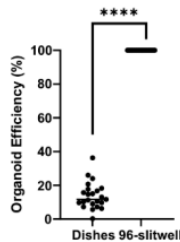


Fig. 2 20日間培養後のオルガノイド生産効率。PrimeSurface®スリットウェルプレート96Sにおいて高いオルガノイド生産効率が維持された。

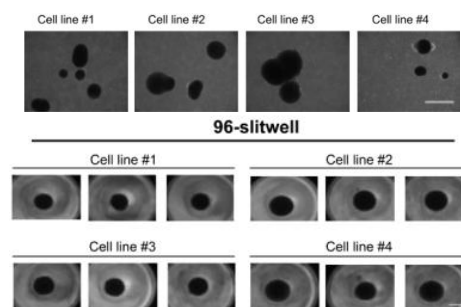


Fig. 3 対照群で生成されたオルガノイドは様々なサイズを示した一方、PrimeSurface®スリットウェルプレート96S内のオルガノイドは安定した成長を示した。

- スフェロイド形成時点でPrimeSurface®スリットウェルプレート96Sで生成されたスフェロイドは、対照群に対し多能性関連遺伝子が有意に高く、複数のhPSCラインで対照群と比較し均一なサイズ分布を示しました。

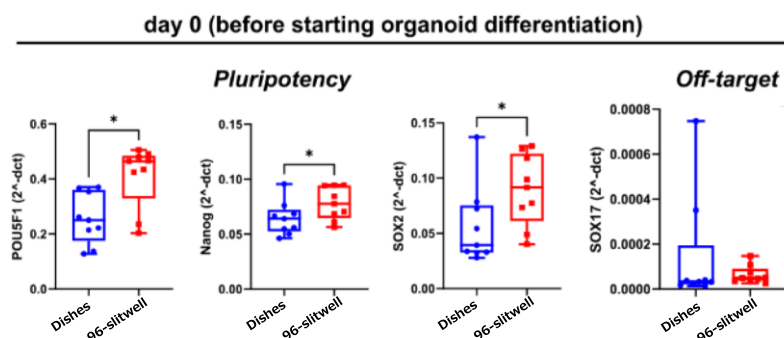


Fig. 4 Spheroid formation時点(day0)での遺伝子発現の比較。PrimeSurface®スリットウェルプレート96SのhPSCスフェロイドは、対照群であるマルチデインブルディッシュで形成されたスフェロイドと比較して、多能性関連遺伝子POU5F1/OCT4、NANOG、SOX2の発現が有意に高かった。

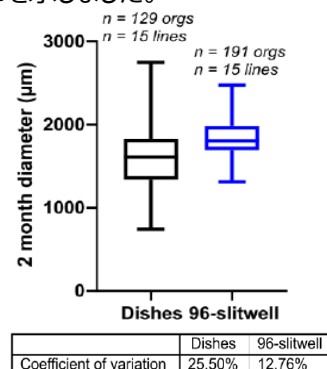


Fig. 5 hPSC15ラインを2か月培養後、直径のばらつきを比較。いずれの方法で生成されたオルガノイドも同様の直径に達したが、オルガノイド間および細胞株間の再現性はPrimeSurface®スリットウェルプレート96Sで大幅に改善された。

【考察】

PrimeSurface®スリットウェルプレート96Sを用いた培養により、オルガノイドの生産効率とサイズ均一性が著しく向上し、従来法よりも安定した培養が可能となりました。これにより細胞株間および実験間のバラツキが低減され、再現性と信頼性の向上に寄与します。初期スフェロイドの形成の均一性も、培養の再現性を支える上で重要な役割を果たしました。

PrimeSurface®スリットウェルプレート96Sは、均一で安定した培養環境を提供し、大規模かつ効率的なオルガノイド生産を可能にします。実験のばらつきを低減し、オルガノイドベースの疾患モデルの標準化に貢献します。

肝・中枢神経オルガノイドによる毒性評価

データ提供：The Organoid Company BV トーマス・ミッチェルCEO



【はじめに】

シクロホスファミド（CP）は肝臓のCYP450酵素によって代謝活性化される抗がん剤ですが、従来の単培養モデルの限界から、代謝物が他臓器に与える二次毒性のメカニズムは十分に解明されていません。本研究では、PrimeSurface®スリットウェルプレート96Sを用いて作製された肝スフェロイド（LO）と中枢神経オルガノイド（CNSO）をオンチップ多臓器MPSプラットフォーム「BioStellar® Plate」上で連結共培養し、CPの二次毒性を評価しました。その結果、LOで代謝されたCP代謝物に起因すると考えられるCNSOにおけるNeuN発現の低下および γ H2AX陽性シグナルの増加が、用量依存的に観察されました。

本研究により、オルガノイドと多臓器MPSプラットフォームを組み合わせた本システムは、単一臓器モデルでは捉えきれない臓器間の代謝的相互作用を再現可能であり、より生体に近い環境における包括的な薬物毒性予測ツールとして極めて有用であることが示されました。

【方法】

LOとCNSOは、The Organoid Company社が開発した分化プロトコルとPrimeSurface®スリットウェルプレート96Sを活用した自動培養システムを用いて作製され、機能的成熟を目的に90日間培養されました。作製された各オルガノイドをBioStellar® Plate上にロードし、(1)LO-CNSO、(2)LO-LO、(3)CNSO-CNSOの3群を確立しました。CPは0, 50, 100, 200 μ Mの濃度で各コンパートメント（LOを含む条件ではLO側、CNSO-CNSOでは片側）に添加し、回転数2,500rpmで48時間の連結共培養を実施しました。培養後、両オルガノイドを4%パラホルムアルデヒドで固定し、CNSOは抗NeuN抗体、LOは抗アルブミン抗体、DNA損傷評価用として抗 γ -H2AX抗体、核染色としてDAPIを用いて免疫染色を行いました。画像取得には横河電機社の共焦点定量イメージングサイトメーター「CQ1」を用いて、10倍の倍率で4視野にわたり1ウェルあたり約40枚のZスライスを取得しました。得られた画像を解析し、各マーカーを定量評価しました。

【結果】

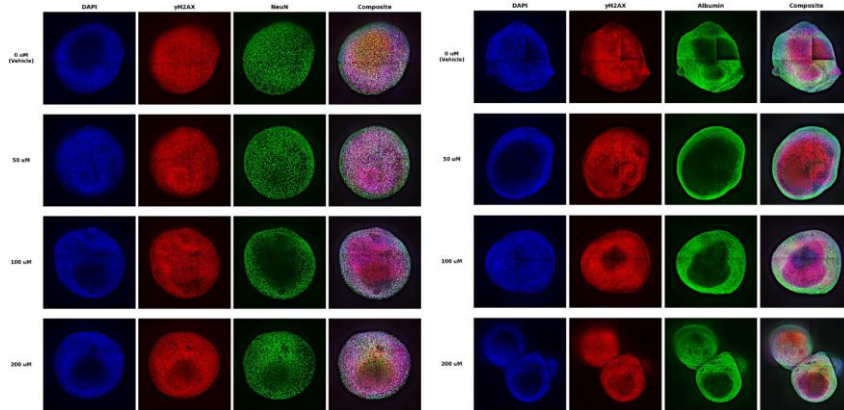


図1：CPの容量反応におけるCNSOおよびLOの代表的な共焦点顕微鏡画像

左図：CP濃度0、50、100、200 μ MにおけるDAPI（核：青） γ H2AX（DNA損傷：赤）、NeuN（神経マーカー：緑）および合成画像

右図：CP濃度0、50、100、200 μ MにおけるDAPI（核：青） γ H2AX（DNA損傷：赤）、Alb（肝臓マーカー：緑）および合成画像

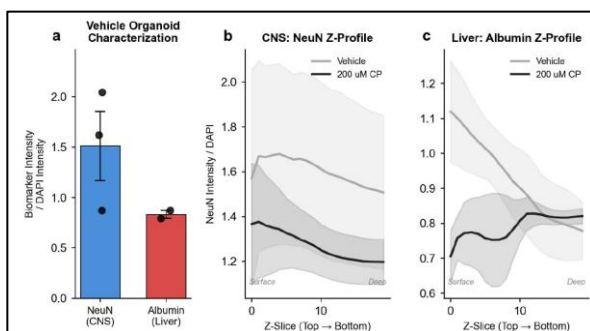


図2：オルガノイドの特性解析とZ軸方向の蛍光強度プロファイル

- (a) 各オルガノイドのバイオマーカー評価（CNSO:NeuN、LO:Alb）
- (b) NeuN/DAPIのZ方向プロファイリング（200 μ M CP vs Vehicle群）
- (c) Alb/DAPIのZ方向プロファイリング（200 μ M CP vs Vehicle群）

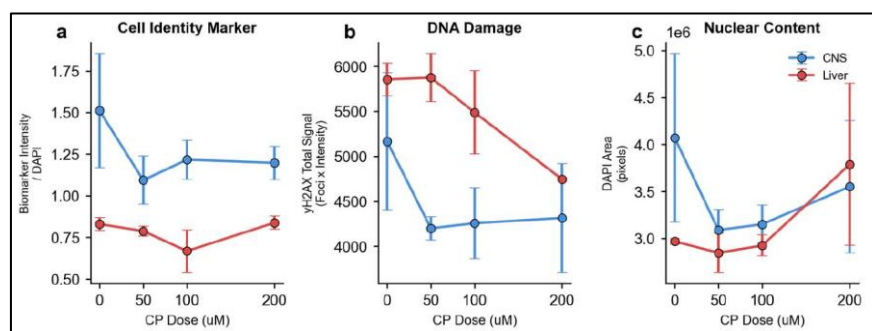


図3：CNSOおよびLOにおけるシクロホスファミド用量依存的応答

- (a) 各CP濃度におけるオルガノイドバイオマーカー評価（青：CNSO、赤：LO）
- (b) 各CP濃度におけるDNA損傷評価（青：CNSO、赤：LO）
- (c) 各CP濃度における細胞核面積解析（青：CNSO、赤：LO）

CP処理により、CNSOのNeuNシグナルの減少を確認した。

CP濃度の増加に伴い、CNSバイオマーカーの減少、DNA損傷、核の減少を確認した。

PrimeSurface®スリットウェルプレート96Sによる高品質なオルガノイド作製技術と、BioStellar® Plateの多臓器連結システムにより、肝代謝を介したシクロホスファミドの用量依存的な神経毒性の再現に成功しました。本成果は、従来のシングルオルガノイド系では困難であった「臓器間の代謝的相互作用」を*in vitro*で再現可能にするものであり、次世代の包括的な薬物毒性予測ソリューションとして極めて高い有用性を有していることを示しています。

住友ベークライト株式会社

S-バイオ事業部 マーケティング・営業部

〒140-0002 東京都品川区東品川2-5-8 天王洲パークサイドビル

【東日本エリア】TEL : 03-5462-4831 FAX : 03-5462-4835

【西日本エリア】TEL : 06-7669-0031 FAX : 06-7223-8691

■ E-mail: s-bio_inquiry@ml.sumibe.co.jp

■ URL : <http://www.sumibe.co.jp>

S-バイオ事業部
ウェブサイト



製品に関する論文等はウェブサイトにてご紹介しております。

サンプルのご請求、WEB でのご説明、お打合せについてもお気軽にご用命ください。

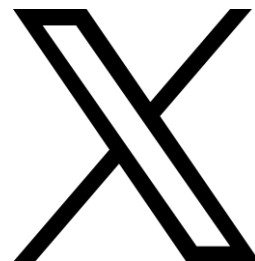
公式メルマガや公式SNSでは新製品・アプリ情報や展示会情報などの最新情報を配信しております。是非メルマガ登録やSNSアカウントフォローをよろしくお願いいたします。



メルマガ登録は
こちらから



LinkedInの
フォローはこちらから



X (旧Twitter) の
フォローはこちらから