

# Cell-able®を用いた3D細胞培養

東洋合成工業株式会社

TOYO GOSEI

## Cell-able®とは

### 原理

東洋合成工業が開発した水溶性感光材で処理した表面には細胞が接着できない。この水溶性感光材を用いて、培養基板表面を多数の100μmの円形細胞接着領域と非接着領域にパターニングしたのがCell-able®プレートである。これにより、細胞は接着領域に集まって接着し、凝集塊(スフェロイド)を形成する。

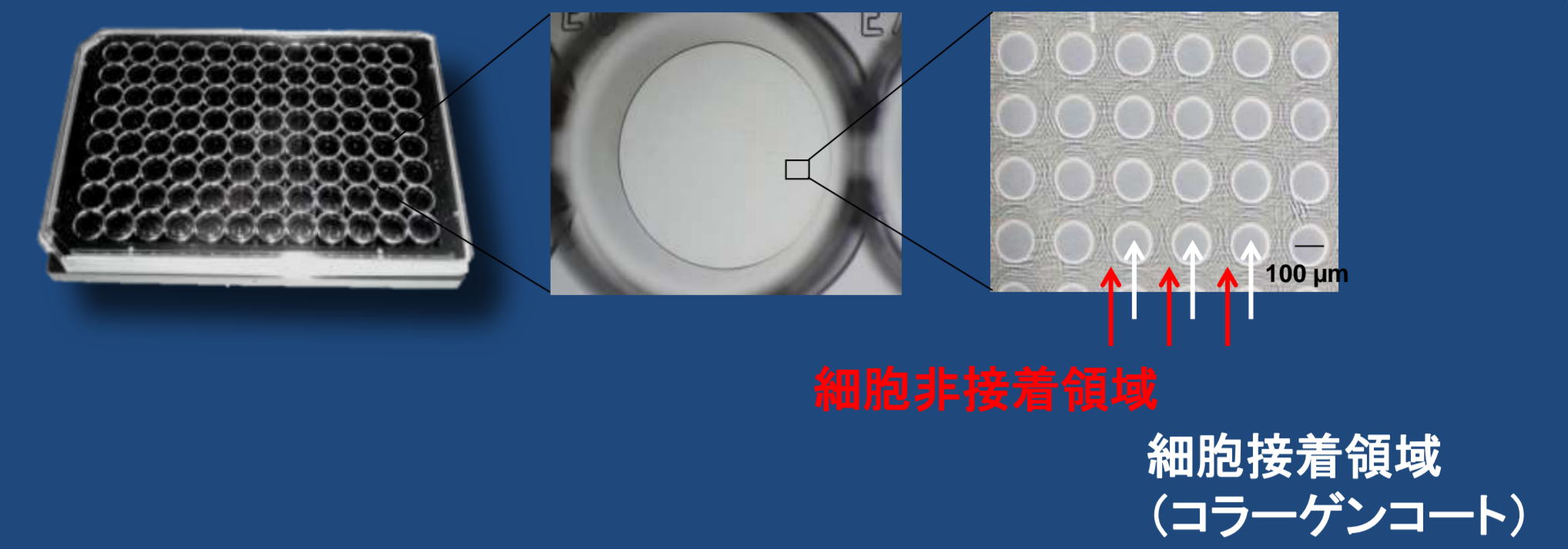
### 特長

- 通常の培養操作で3D培養が可能。
- 96ウェル1ウェル当たりのスフェロイド数は約800個。簡単に均一サイズのスフェロイドを形成することが可能。
- 単独の細胞の培養はもちろん、2種類以上の細胞を共培養することが可能。
- スフェロイドは培養表面に接着しているため、免疫染色などの洗浄操作が必要な実験にも適応可能。
- 目的に応じてパターニングのカスタマイズが可能。

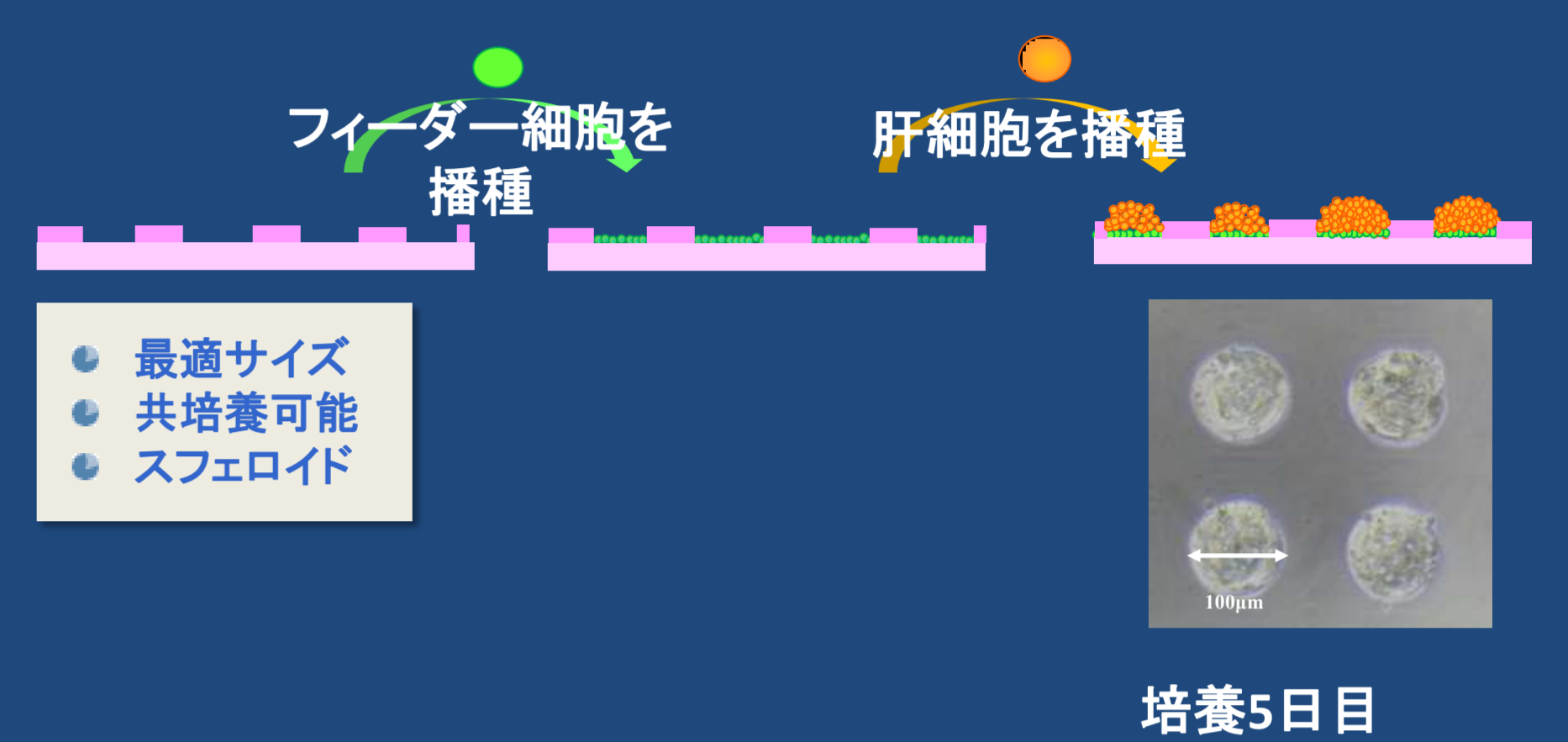
### カスタマイズ実施例

- 温度感応性表面へのパターニング。スフェロイドを形成させたのち剥離して回収。
- 384プレートの中央に200μm径の接着領域を形成: iPS由来心筋細胞培養用。
- その他、ECM種類、サークル径、サークル間距離などを目的に応じて変更可能。

### Cell-able® 培養表面



### ヒト初代肝細胞共培養培養例



## Cell-able®を用いた3D培養の実施例

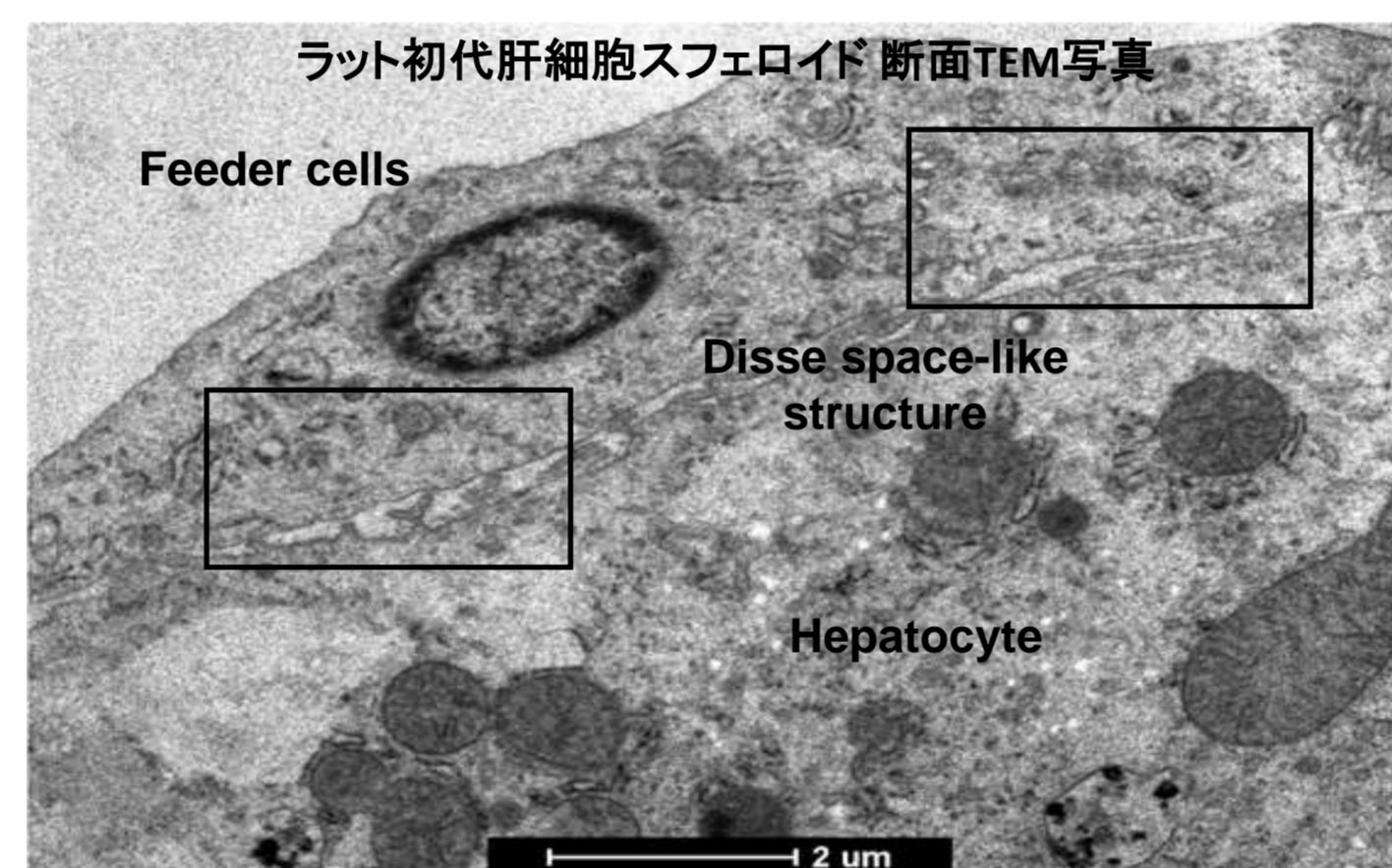
### 肝細胞培養

#### ラット初代肝細胞スフェロイド断面

##### 3D培養によりディッセ腔様の微小構造を再構築

ラット初代肝細胞を、Cell-able®上でフィーダー細胞と共培養した。写真は培養5日目のスフェロイドの断面TEM写真。フィーダー細胞との間にディッセ腔用の構造体が観察された。

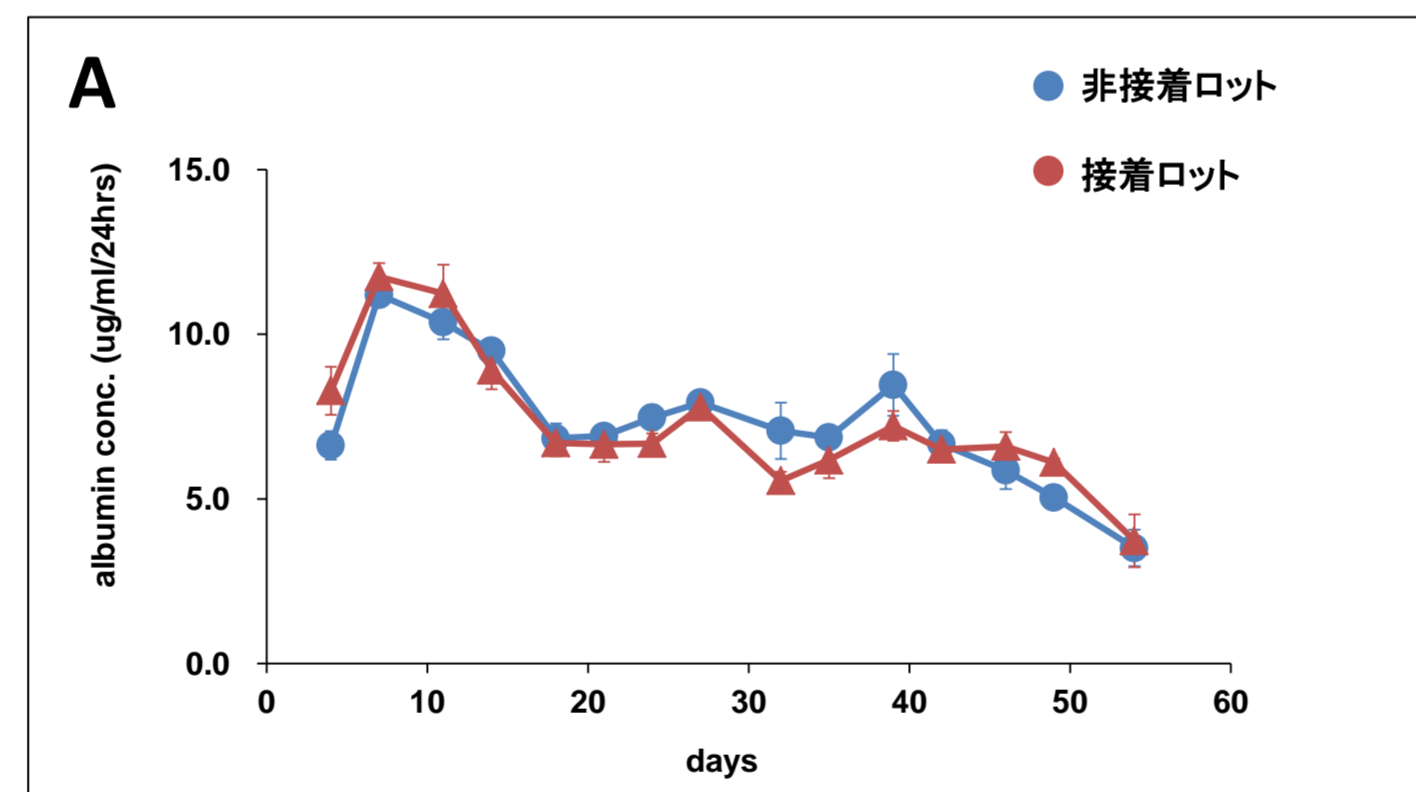
データご提供: 成育医療研究センター 絵野沢伸先生



#### ヒト初代肝細胞長期培養

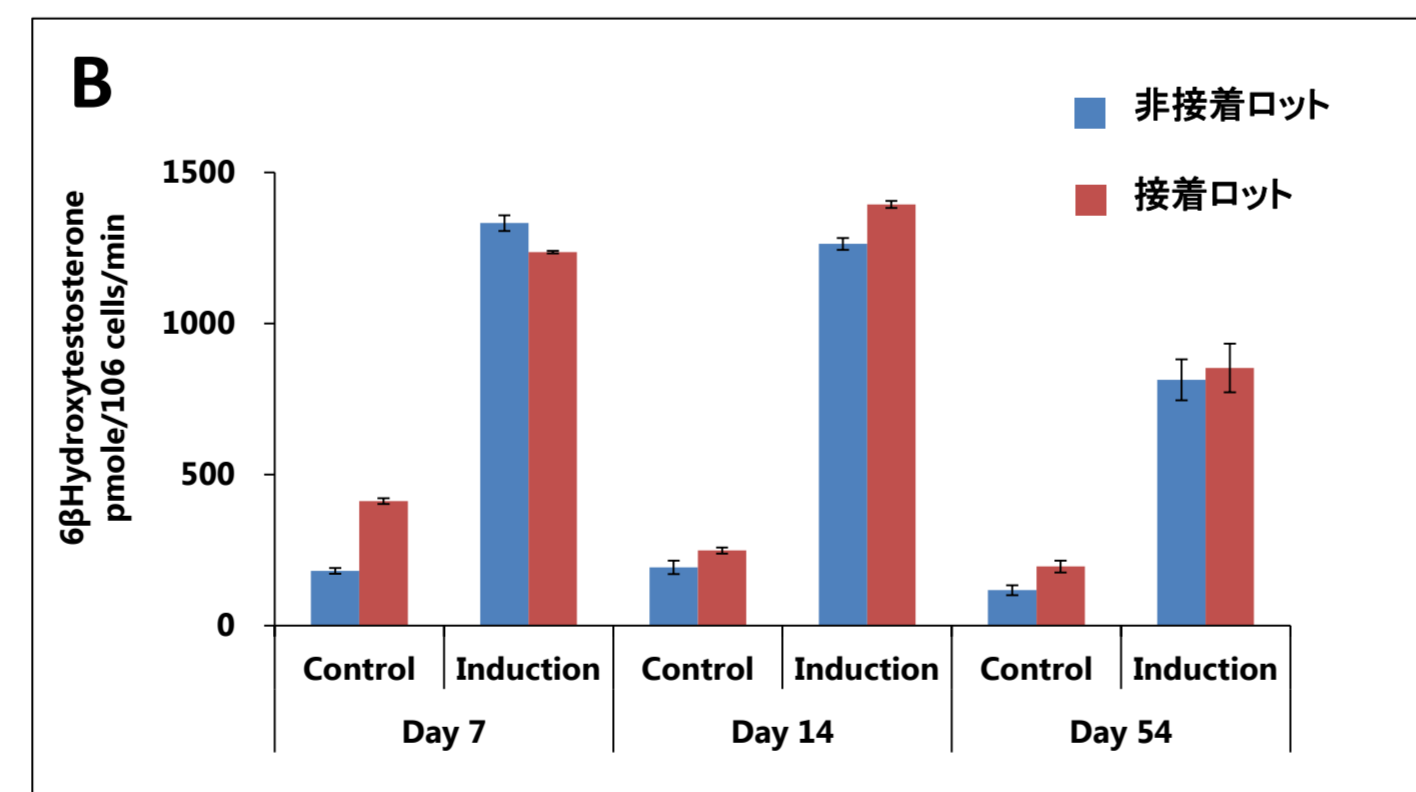
##### アルブミン生産能が54日間維持

凍結ヒト初代肝細胞(接着ロット、非接着ロット)とフィーダー細胞を54日間Cell-able®上で長期共培養した。各培養日に於いて、24時間培養後の培地中のアルブミン濃度をELISA法を用いて測定した結果、54日間に渡ってアルブミン生産能が維持されていた。(Fig. A)



##### CYP3A4活性、誘導活性が54日間維持

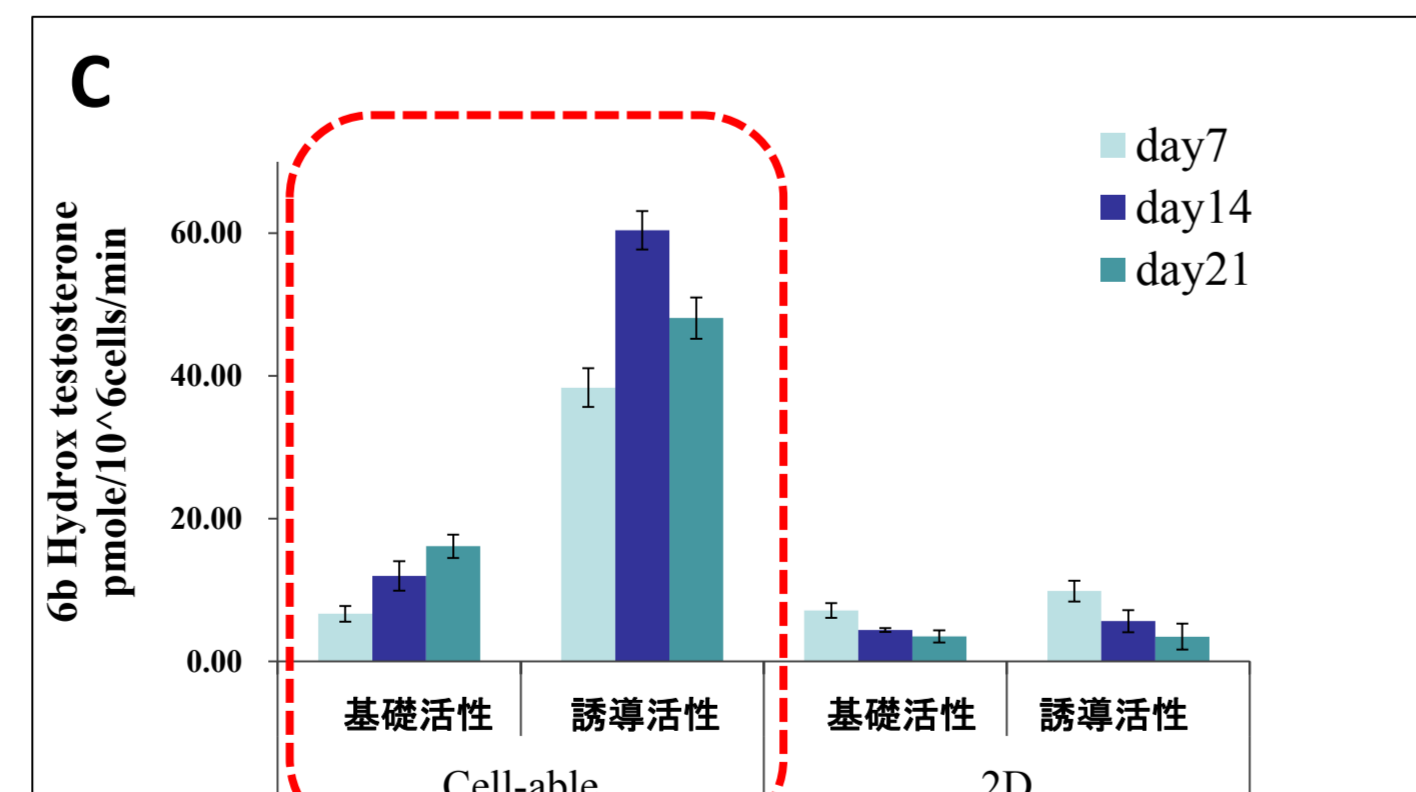
凍結ヒト初代肝細胞(接着ロット、非接着ロット)とフィーダー細胞を54日間にわたってCell-able®上で長期共培養し、CYP3A4活性の経時変化を測定した。この結果、CYP3A4活性、リファンピシンによる誘導活性とも54日間維持されていた。(Fig. B)



#### 2次元培養との比較

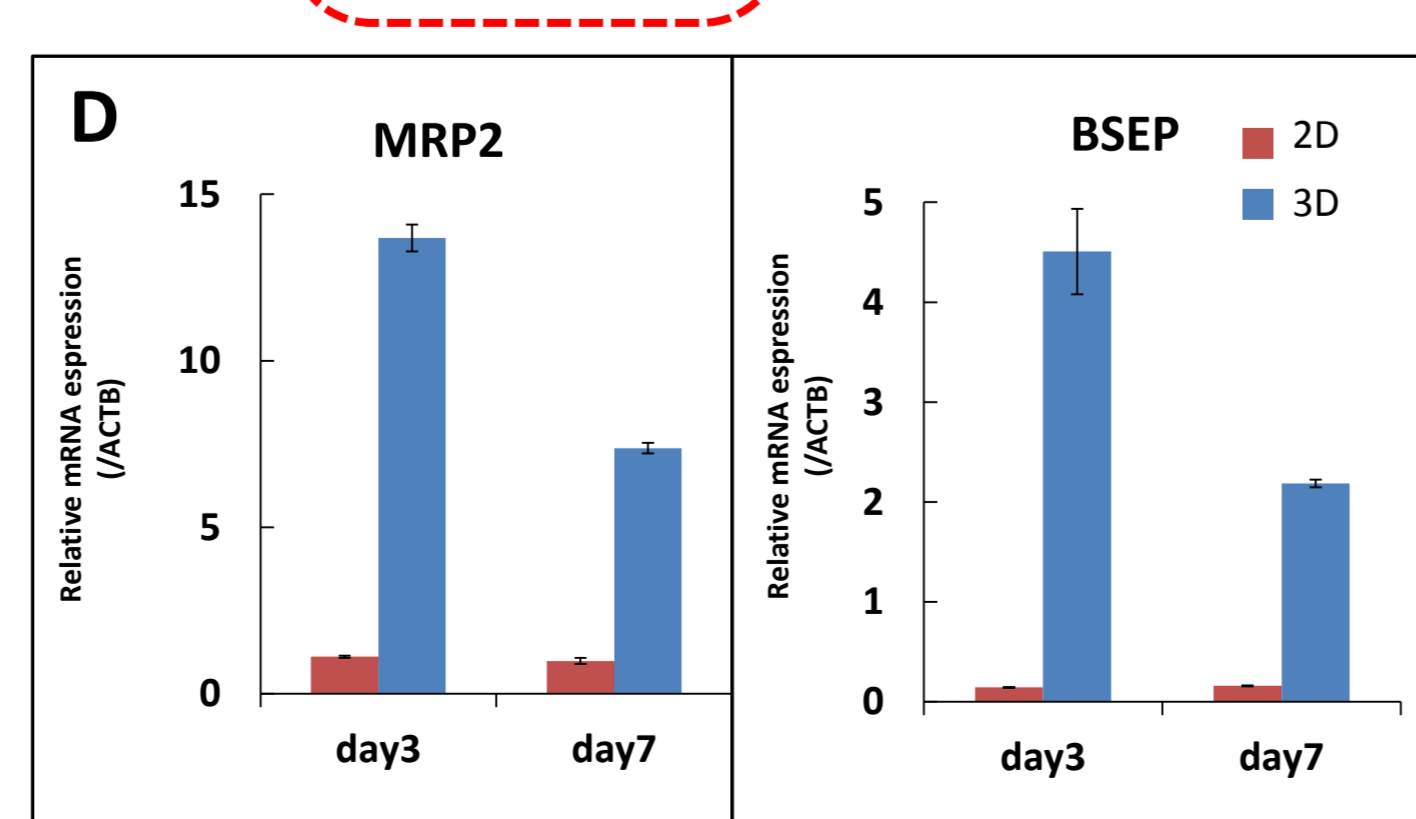
##### 代謝活性誘導活性、2次元培養との比較

凍結ヒト初代肝細胞をCell-able®上でフィーダー細胞と共培養し、CYP3A4の基礎活性と誘導活性を2次元培養と比較した。この結果、2次元培養では培養7日目以降CYP3A4の誘導活性は確認されなかったが、Cell-able®で培養することにより培養21日目まで誘導活性が維持された。(Fig. C)



##### 排泄トランスポーター遺伝子が長期間保持

キメラマウス由来ヒト新鮮肝細胞(PXB-cells™)をCell-able®上で培養し、排泄トランスポーターの遺伝子発現を2次元培養と比較した。2次元培養では培養3日目までにMRP2、BSEPの遺伝子発現量が大きく減少したが、Cell-able®培養では維持される傾向を示した。(Fig. D)



### がん細胞培養

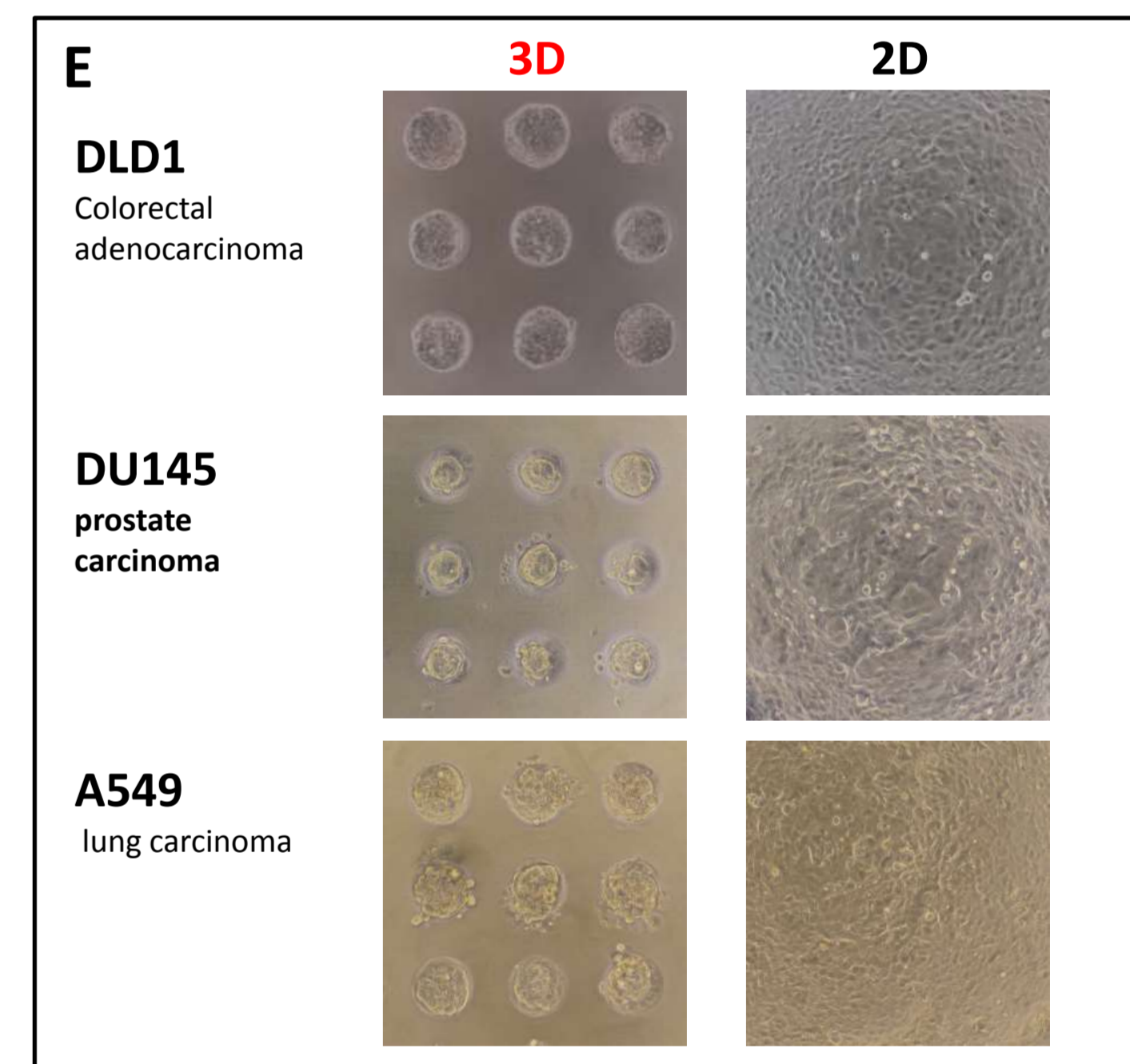
#### 多くのがん細胞株が培養可能

##### OncoPanel™ 3D

接着性のがん細胞は多くの場合Cell-able®上でスフェロイド培養が可能である。大手分析検査受託サービス会社であるユーロフィンパナプス(米国)に於いて、Cell-able®上で培養可能な144種類のがん細胞株をOncoPanel™ 3Dとして受託サービスを展開している。

##### がん細胞株培養形態

OncoPanel™ 3Dのうち、DLD-1, DU145, A549の各細胞を7日間培養した。Fig. E; 右: Cell-able®, 左: 2D plate

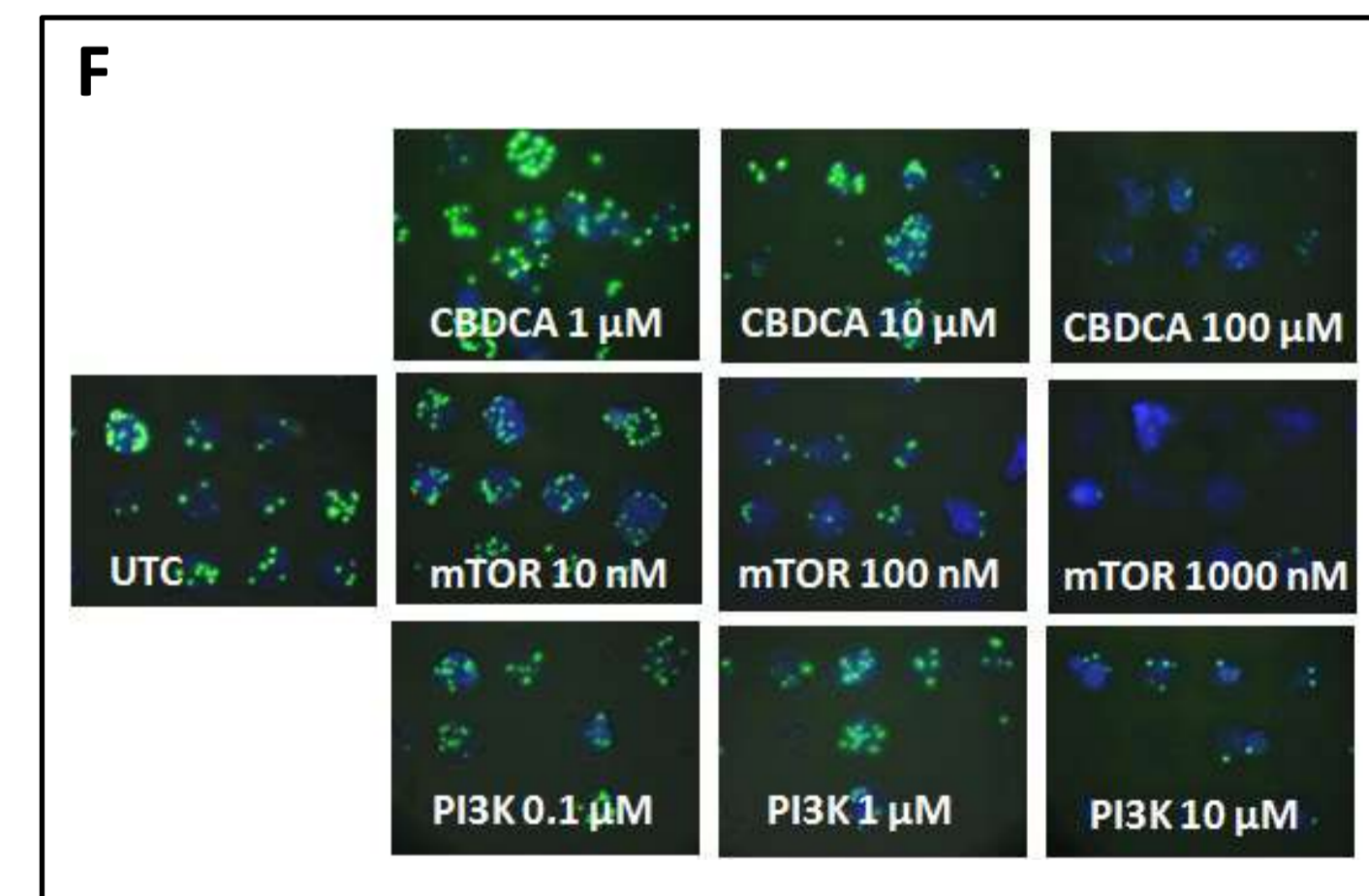


#### 患者由来がん細胞

がん細胞バンクMolecular Response(米国)に於いて患者由来の肝がん、頭頸部がん、悪性黒色腫、乳がん、子宮がんなどの細胞がCell-able®上で培養可能であった。Molecular ResponseではCell-able®上で培養した患者由来のがん細胞を用いた感受性試験を開発した。

##### 患者由来がん細胞を用いた感受性試験

Cell-able®上で患者由来のがん細胞を培養し、3種類の抗がん剤候補で処置した。細胞の増殖抑制をEdUの取り込みで可視化。(Fig. F)



#### がん幹細胞

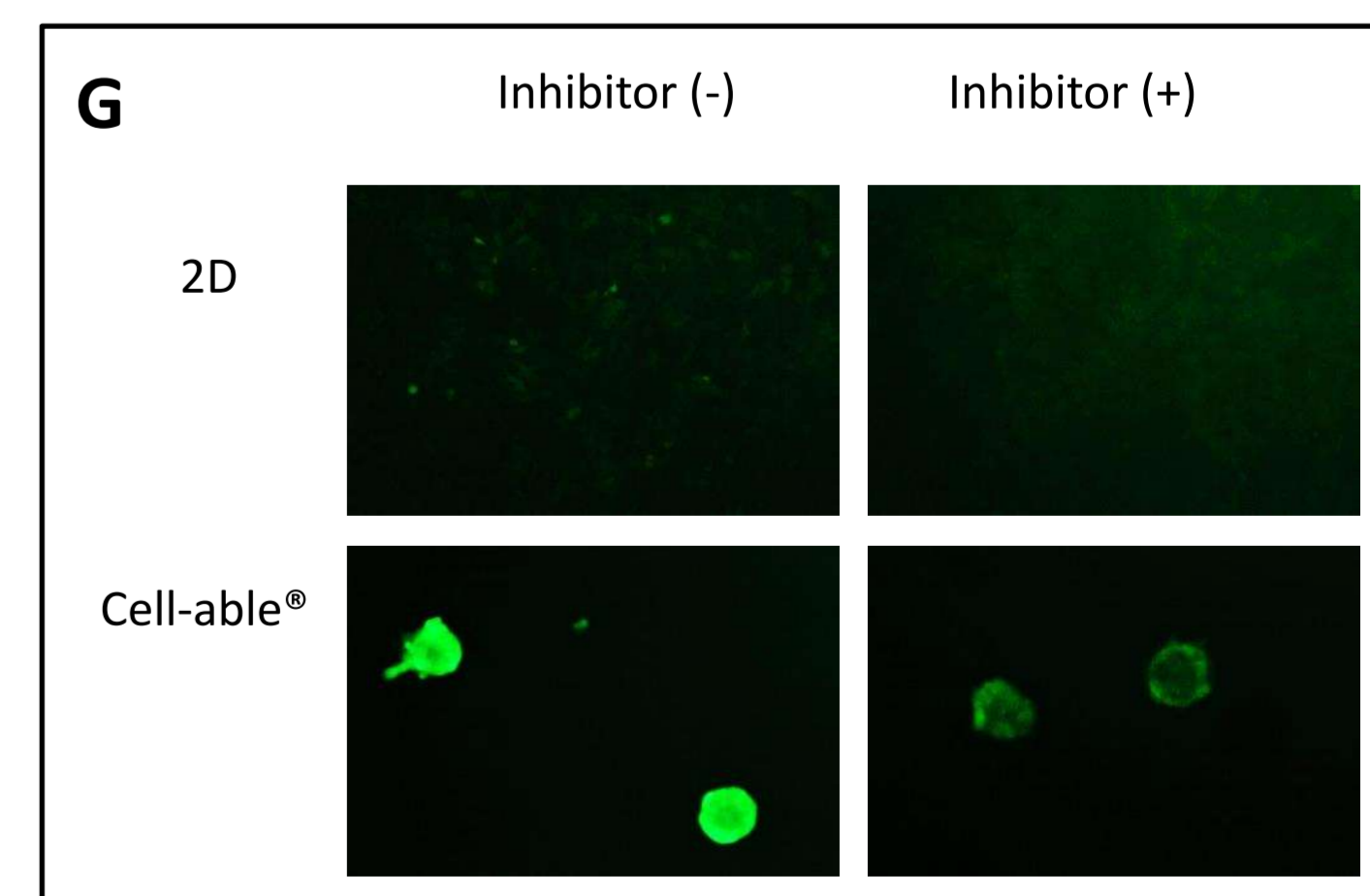
##### 3D化によるステムマーカーの上昇

##### ALDH活性の上昇

肺がん細胞株A549をCell-able®上で培養し、ステムマーカーであるアルデヒドデヒドロゲナーゼ(ALDH)活性をAldefluor™(StemCell Technologies Inc.)にて可視化し、2次元培養と比較した結果、3D化する事によりALDH活性の上昇が認められた。(Fig. G)

##### CD24<sup>low</sup>/CD44<sup>high</sup>細胞の増加

前立腺がん細胞株をCell-able®上で無血清培地で培養することにより、2次元培養と比較してCD24<sup>low</sup>/CD44<sup>high</sup>の細胞の割合が17%から62%に上昇した。(data not shown)



### iPS由来心筋細胞培養

Multi-spheroid imaging analysis of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte by Cellvoyager CV7000 system for the assessment of in vitro cardiotoxicity

©Tadashi NAGAKURA, Takayoshi MATSUBARA, Ko ZUSHIDA and Kohei SAWADA  
日本安全性薬理研究会第6回学術年会(2015年2月20日)