

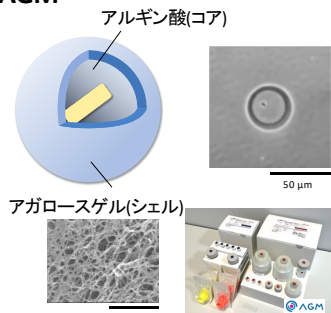
動物細胞培養用 アガロースゲル・マイクロカプセルの開発

青木 弘良
株式会社 東陽テクニカ

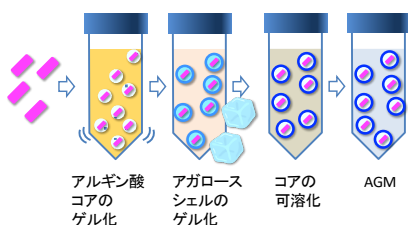


微生物用アガロースゲル・マイクロカプセル (AGM)

AGM

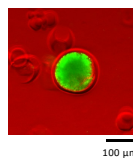


作製工程

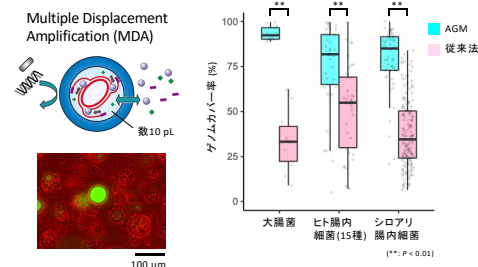


特許 7018685

微生物培養 カプセル



1菌体ゲノム解析



Aoki, H., et al. *Scientific Reports* (2022)

動物細胞用AGM

目的

- 1細胞ゲノム解析 (循環がん細胞, CTC)
- 幹細胞培養・移植 (Lim M, 2018, Engler AJ, 2006)
- がんスフェロイド (Li Y, 2018)

課題

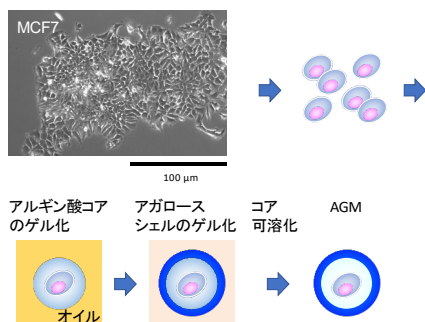
- 細胞の死滅

対策

- 試薬条件の至適化

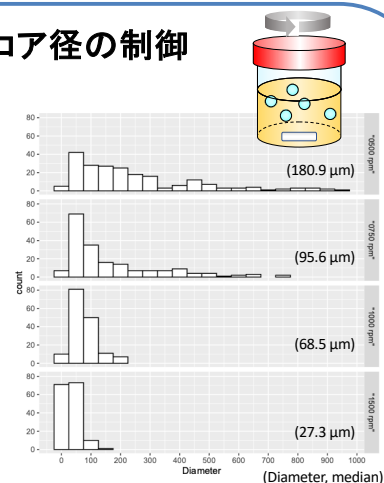


作製方法

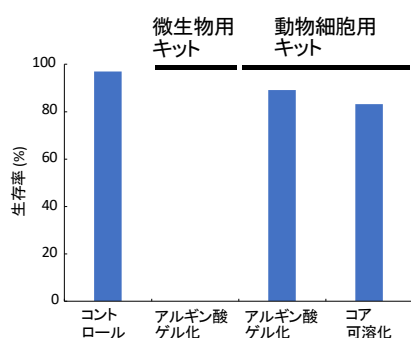


- 細胞培養機材 +
 - デジタルスターラー (アズワン, 3万円)
 - デジタルボルテックスミキサー (Thermo Scientific, 4万円)

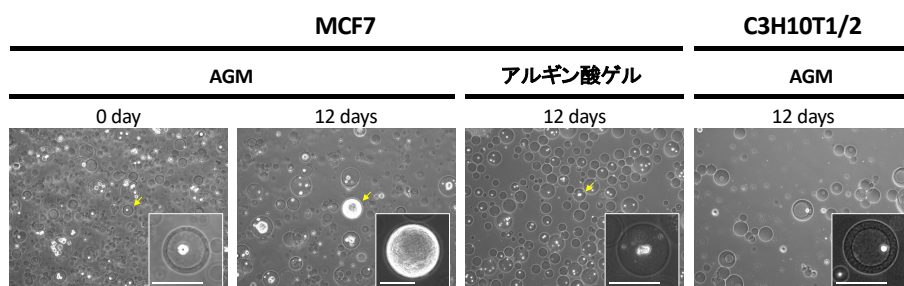
コア径の制御



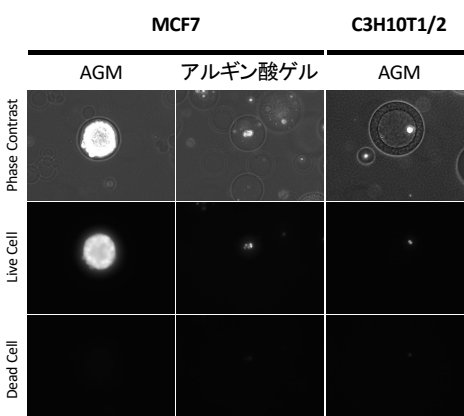
細胞生存率の改善



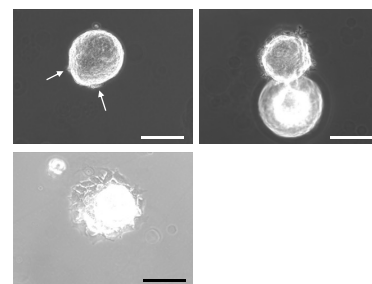
AGM内での細胞培養



Live/Dead 染色



培養による, AGMからの MCF7の回収



Bars: 100 μm

まとめ

- 動物細胞用AGM試薬キットを開発し, AGM内でMCF7を培養すると, 球状のスフェロイドを形成した.
- ゲルビーズにくらべ, AGMの方が, 生育が促進された.
- 今後AGM内の微小環境を用いたがん細胞研究が期待される.

Summary

動物細胞培養用アガロースゲル・マイクロカプセルの開発

青木 弘良

株式会社 東陽テクニカ

【目的】アガロースゲル・マイクロカプセル (AGM, Fig. 1)は、アガロースゲルのシェルと、アルギン酸溶液のコアから構成される、ハイドロゲルマイクロカプセルである。AGM は、2段階のエマルジョン中でのゲル化によるバッチ法により簡便に作製され、スケールアップも容易である。これまで微生物の1細胞ゲノム解析において、pLスケールのコア内でのゲノムDNAの多重置換増幅(MDA)によって、増幅バイアスを抑制し、ゲノム全体のカバー率を向上した。今回我々は動物細胞の1細胞ゲノム解析およびAGMを用いた細胞移植を目指し、AGM内での動物細胞培養条件の確立を試みた。

【方法】従来のAGM作製試薬に対し、溶液組成を調製した動物細胞用AGM試薬キットを作製し、マウス胚由来細胞株C3H10T1/2およびヒト乳がん由来細胞株MCF7を包埋し、培養を試みた。

【結果と考察】従来のAGM試薬での生存率はほぼ0%に対し、動物細胞至適後、約80%の生存率が見られた。AGMのゾル状コア中で、C3H10T1/2およびMCF7を培養したところ、接触阻害がかかるC3H10T1/2は増殖しなかった。しかし接触阻害がかからないMCF7は、お互いを足場として増殖し、塊状のスフェロイドを形成した(Fig. 2)。以上の結果から、AGMへの安定な細胞の包埋と培養条件を確立した。今後は動物細胞用AGM試薬を用いた、シングルセルゲノム解析と、細胞培養が期待される。

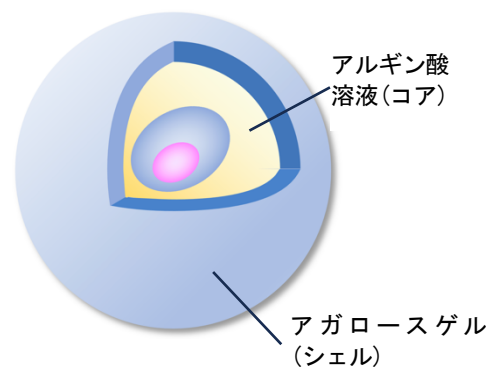


Fig. 1 アガロースゲル・マイクロカプセル (AGM)

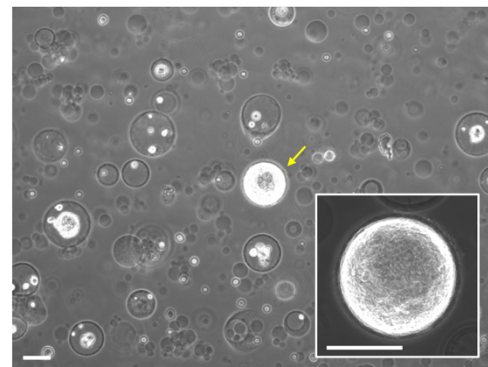


Fig. 2 AGM内でのMCF7の培養

Bar: 100 μ m