

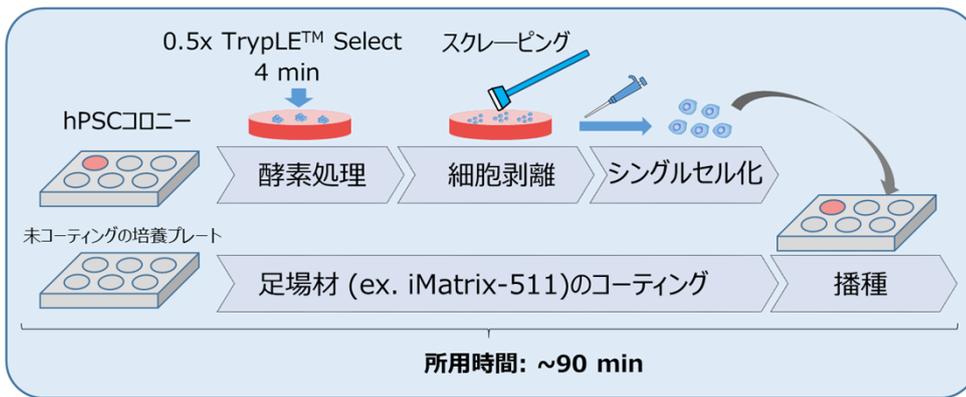


培養法を最適化することで、**StemFit培地**のパフォーマンスを最大限に活かし、「**簡単、楽に**」「**低コスト**」で多能性幹細胞を培養する方法を確立した

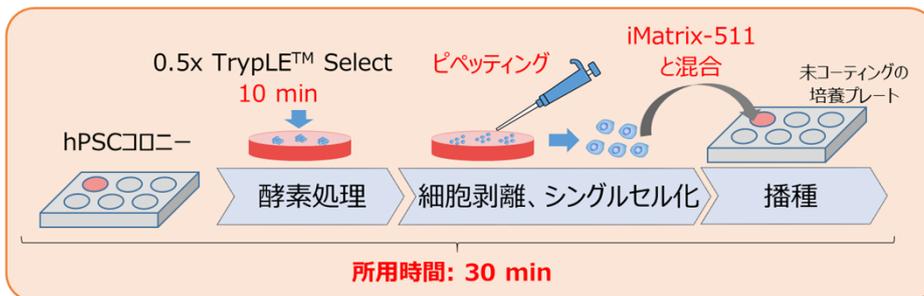
1. 酵素処理時間および剥離方法の最適化（スクレーパーフリー）
 2. コーティングフリーの播種方法（T. Miyazaki et al., *Sci. Rep.*, 7, 41165, 2017）
- 上記の技術を組み合わせ、新たな培養法を開発した

1. スクレーパーフリー、コーティングフリーでの簡便、迅速な継代方法

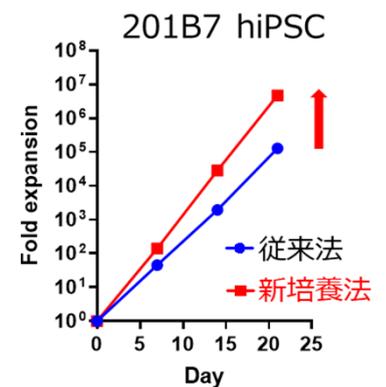
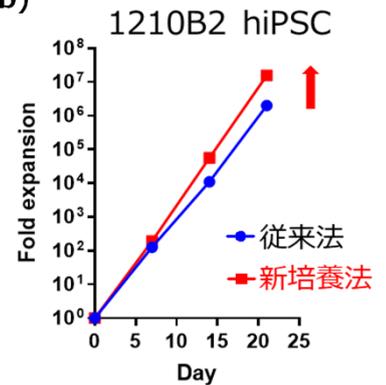
(a) 従来の継代法



スクレーパーフリー、コーティングフリーの継代法



(b)



(c)

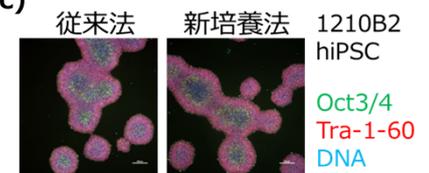


Fig. 1 スクレーパーおよびコーティングを行わない新規培養法の概要。酵素処理時間を10分に延長した上で、ピペッティングで細胞剥離とシングルセル化を行う。細胞懸濁液をiMatrix-511と混合し、未コーティングの培養プレートに播種する。継代に必要な所要時間は約30分に短縮された。継代以後は週末の培地交換不要で、1週間の培養が可能である。(b) 従来法と新規培養法で培養したhiPSCの培養効率評価。従来法に比べて新培養法では継代の手間と時間を削減できただけでなく、細胞の増殖効率が向上した。(c) 従来法と新規培養法で培養したhiPSCコロニーの免疫染色評価。hiPSCコロニーの形態および未分化マーカー（Oct3/4, Tra-1-60）の発現は従来法と新規培養法と同様であった。

2. 新規培養法のコストメリット

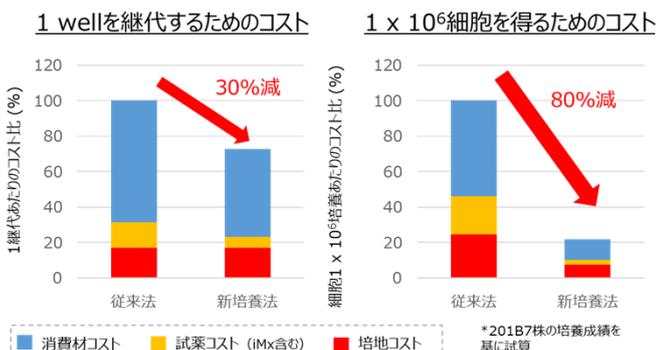


Fig. 2 従来法と新規培養法のコスト比較。使用する消費財およびiMatrix-511を含む試薬量の削減、また培養効率の向上により、6 wellプレートの1 wellを継代するためのコストは30%程度、一定の細胞数（ 1×10^6 細胞）を得るためのコストは約80%削減することが可能であると試算された。

3. コーティングフリーでの簡便なシングルセルクロニング

従来法 90 min



コーティングフリー 30 min

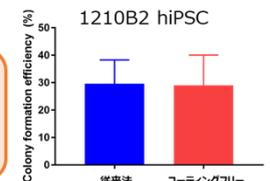


Fig. 3 シングルセルクロニングにおけるコーティングフリー培養の利用。シングルセルクロニングにおいて最も手間のかかるマルチウェルプレートの足場材コーティングおよび除去工程を省略することにより、大幅な手間と時間の削減が可能である。また、シングルセルからのコロニー形成効率は従来法とほぼ同等であった。