

Title	iPS細胞由来心筋細胞におけるスタックプレートの固有振動を用いた細胞剥離・回収法
Sub Title	Cell detachment and collection from a stacked cultivation plate
Author	竹村, 研治郎(Takemura, Kenjiro)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>近年, ヒトiPS細胞が樹立され, すでに世界初の臨床適用も実施されたが, ヒトiPS細胞および分化細胞の最適な増殖培養の方法論は未だ確立されたとは言えない。特に, 治療に十分な細胞数を効率的に培養する手法は開発途上であり, 噴霧の課題である。本研究ではスタックプレートを用いた細胞の大量培養において, 細胞の剥離・回収を自動化することを目的とした。</p> <p>細胞の大量培養を可能とするスタックプレートを用いた大規模な細胞培養において, 特に, 細胞の剥離・回収の過程が難しい。すなわち, リンパシングを添加したスタックプレートを十分に振揺する必要があり, 人為的な回収が困難である。このため, スタックプレートの固有振動を利用して細胞を剥離可能な振揺装置を開発し, 細胞の剥離を達成した。具体的には, (1)スタックプレートの振揺に適した加振装置を製作し, (2)プレートに接着した細胞をリソシングに浸漬し, プレートの固有振動を励振して剥離するとともに。 (3)回収した細胞の増殖性や分化状態を評価した。</p> <p>2年計画で実施している本研究は, H28年度に5段スタックプレート各段に面外振動モードを励振し, 各段に接着したマウス由来筋芽細胞(C2C12)を98%以上剥離できる加振条件を明らかにした。この剥離率は培養技術者による手作業に比べて有意に高い。2年目にあたるH29年度は, 主に幹細胞の一種であるヒト間葉系幹細胞(hMSC)を用いてスタックプレートからの細胞剥離を行った。この結果, 従来の培養技術者による手作業では48%の剥離率に留まっていた条件でも, スタックプレートの固有振動を適切に励振することによって94%のhMSCを剥離できることを明らかにした。また, hMSCのその後の増殖性や未分化状態に影響がないことを実験的に明らかにし, 幹細胞への適用の可能性を示した。</p> <p>Human iPS cells have been established and the world's first clinical application has already been carried out. However, the methodology for optimal growth culture of human iPS cells has not been established yet. Especially, a method for efficiently culturing a sufficient number of cells is under development and it is an urgent task. In this study, we aimed to automate cell detachment in large scale cultivation of cells using stacked plate.</p> <p>In a large-scale cell culture using a stacked plate that enables mass culture of cells, in particular, the process of cell detachment and collection is difficult. That is, it is necessary to sufficiently shake the stacked plate with trypsin added. For this, we have developed a shaking device capable of detaching cells by utilizing the resonant vibration of the stacked plate, and achieve cell detachment. Specifically, (1) a vibration device suitable for shaking the stacked plate was developed, and (2) the cells adhered to the plate were immersed in trypsin, and the resonance vibration of the plate was excited. (3) The proliferation and differentiation status of the collected cells were evaluated.</p> <p>This study is carried out as the 2-year project. In 2016, the out-of-plane vibration mode at each layer of the 5-layer stacked plate was excited and removed 98% or more of mouse myoblasts (C2C12) adhered to each layer. This cell detaching rate is significantly higher than manual work by cell culture technicians. In 2017, the second year, cell detachment from the stacked plate was carried out using human mesenchymal stem cells (hMSC), which is one type of stem cell. As a result, it was revealed that 94% of hMSC can be detached by appropriately exciting the resonant vibration of the stacked plate even under the condition that the detaching rate was only 48% by manual work by the cell culture technician. In addition, it was experimentally clarified that there is no influence on the proliferative and undifferentiated state of hMSC and showed the possibility of application to stem cells culture.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000003-20170370

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	1,200	千円
	氏名	竹村 研治郎	氏名（英語）	Kenjiro Takemura			

研究課題（日本語）

iPS細胞由来心筋細胞におけるスタックプレートの固有振動を用いた細胞剥離・回収法

研究課題（英訳）

Cell detachment and collection from a stacked cultivation plate

研究組織

氏名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position
竹村 研治郎 (Kenjiro Takemura)	理工学部・機械工学科・准教授
福田 恵一 (Keiichi Fukuda)	医学部・内科学教室循環器内科・教授
藤田 淳 (Jun Fujita)	医学部・内科学教室循環器内科・特任講師
遠山 周吾 (Shogo Toyama)	医学部・内科学教室循環器内科・特任助教
倉科 佑太 (Yuta Kurashina)	理工学部・機械工学科・助教(有期)

1. 研究成果実績の概要

近年、ヒトiPS細胞が樹立され、すでに世界初の臨床適用も実施されたが、ヒトiPS細胞および分化細胞の最適な増殖培養の方法論は未だ確立されたとは言えない。特に、治療に十分な細胞数を効率的に培養する手法は開発途上であり、喫緊の課題である。本研究ではスタックプレートを用いた細胞の大量培養において、細胞の剥離・回収を自動化することを目的とした。

細胞の大量培養を可能とするスタックプレートを用いた大規模な細胞培養において、特に、細胞の剥離・回収の過程が難しい。すなわち、トリプシンを添加したスタックプレートを十分に振揺する必要があり、人為的な回収が困難である。このため、スタックプレートの固有振動を利用して細胞を剥離可能な振揺装置を開発し、細胞の剥離を達成した。具体的には、(1)スタックプレートの振揺に適した加振装置を作製し、(2)プレートに接着した細胞をトリプシンに浸漬し、プレートの固有振動を励振して剥離するとともに、(3)回収した細胞の増殖性や分化状態を評価した。

2年計画で実施している本研究は、H28年度に5段スタックプレート各段に面外振動モードを励振し、各段に接着したマウス由来筋芽細胞(C2C12)を98%以上剥離できる加振条件を明らかにした。この剥離率は培養技術者による手作業に比べて有意に高い。2年目にあたるH29年度は、主に幹細胞の一種であるヒト間葉系幹細胞(hMSC)を用いてスタックプレートからの細胞剥離を行った。この結果、従来の培養技術者による手作業では48%の剥離率に留まっていた条件でも、スタックプレートの固有振動を適切に励振することによって94%のhMSCを剥離できることを明らかにした。また、hMSCのその後の増殖性や未分化状態に影響がないことを実験的に明らかにし、幹細胞への適用の可能性を示した。

2. 研究成果実績の概要（英訳）

Human iPS cells have been established and the world's first clinical application has already been carried out. However, the methodology for optimal growth culture of human iPS cells has not been established yet. Especially, a method for efficiently culturing a sufficient number of cells is under development and it is an urgent task. In this study, we aimed to automate cell detachment in large scale cultivation of cells using stacked plate.

In a large-scale cell culture using a stacked plate that enables mass culture of cells, in particular, the process of cell detachment and collection is difficult. That is, it is necessary to sufficiently shake the stacked plate with trypsin added. For this, we have developed a shaking device capable of detaching cells by utilizing the resonant vibration of the stacked plate, and achieve cell detachment. Specifically, (1) a vibration device suitable for shaking the stacked plate was developed, and (2) the cells adhered to the plate were immersed in trypsin, and the resonance vibration of the plate was excited. (3) The proliferation and differentiation status of the collected cells were evaluated.

This study is carried out as the 2-year project. In 2016, the out-of-plane vibration mode at each layer of the 5-layer stacked plate was excited and removed 98% or more of mouse myoblasts (C2C12) adhered to each layer. This cell detaching rate is significantly higher than manual work by cell culture technicians. In 2017, the second year, cell detachment from the stacked plate was carried out using human mesenchymal stem cells (hMSC), which is one type of stem cell. As a result, it was revealed that 94% of hMSC can be detached by appropriately exciting the resonant vibration of the stacked plate even under the condition that the detaching rate was only 48% by manual work by the cell culture technician. In addition, it was experimentally clarified that there is no influence on the proliferative and undifferentiated state of hMSC and showed the possibility of application to stem cells culture.

3. 本研究課題に関する発表

発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)