

Title	幹細胞治療を革新的に効率化する幹細胞分離カラムの開発
Sub Title	Cell separation column for cell therapy
Author	長瀬, 健一(Nagase, Ken'ichi)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2021
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	近年、細胞を移植することで治療を行なう再生医療が、難治性疾患に対する効果的な治療法として注目を集めている。この再生医療において、治療に有効な幹細胞を分離・精製する技術は必要不可欠である。そこで本研究では、細胞を未修飾の状態 で分離することを目的として、正電荷を有する温度応答性高分子修飾シリカビーズを充填剤とした細胞分離カラムを作製した。シリカビーズに原子移動ラジカル重合 (ATRP)の開始剤を修飾し、カチオン性高分子と温度応答性高分子のブロック共重合体をシリカビーズに修飾した。このビーズをカラムに充填し、細胞分離カラムとした。作製したカラムを37℃の細胞培養液でコンディショニングを行った後、標的細胞の間葉系幹細胞(MSC)、夾雑細胞を37℃で負荷した。次に、カラムに37℃の培養液を流し、保持されていない細胞を取り除いた。最後に、カラムに4℃の培地を流すことにより、保持していた細胞を溶出させた。それぞれの操作における細胞濃度を測定し、負荷した細胞濃度に対する回収率を求めた。 温度37℃で、作製したカラムに細胞を負荷したところ、標的細胞のMSCのみがカラムに保持し、夾雑細胞はカラムに保持せずに溶出した。これは、シリカビーズに修飾された高分子とMSCとの静電的相互作用、疎水性相互作用により保持したと考えられる。さらに、カラム温度を4℃に下げたところ、カラムに保持されていたMSCが溶出した。これは、温度を下げる事により、カラムに保持されていたMSCが溶出したと考える。これらの結果より、温度制御のみで標的細胞のみをカラムに保持し、回収する事で細胞分離が行なえる事が示された。 本研究で作製した細胞分離カラムは、細胞を修飾せずに、温度制御のみで分離できる可能性が示された。 Effective cell separation method is demanded for cell transplantation therapy. However, there are several problems in conventional cell separation methods such as consuming time and cost, and negative effect of cells labeling on patients. To overcome these problems, we developed cell separation column using silica beads modified with temperature-responsive polymers for simple and label-free cell separation. Temperature-responsive cationic copolymer, was modified on the silica beads by atom transfer radical polymerization. Polymer modified beads were packed into a column. The column was conditioned with a cell culture medium at 37°C. Then, cell suspension was loaded on the column at 37°C. Cell culture medium was flowed for washing and flowed at 4°C for elute cells from the column. Elution behavior of the cells from the column was observed by counting the eluted cells in each fraction. Cell adsorption at 37°C increased using columns included cationic copolymer. The result indicated that cells were adsorbed on beads in column through not only the hydrophobic interaction between cells and the polymer but also the electrostatic interaction between cells and the polymer. Using cell culture medium cooled at 4°C, cells were eluted from column. This is because the hydrophobic interaction between polymer and cells were reduced by the polymer hydration at 4°C. The developed column would be useful for cell separation and contribute to cell-based therapy.
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002020-0029

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

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	薬学部	職名	准教授	補助額	1,500 千円
	氏名	長瀬 健一	氏名 (英語)	Kenichi Nagase		
研究課題 (日本語)						
幹細胞治療を革新的に効率化する幹細胞分離カラムの開発						
研究課題 (英訳)						
Cell separation column for cell therapy						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
長瀬健一 (Kenichi Nagase)		薬学部・准教授				
1. 研究成果実績の概要						
近年、細胞を移植することで治療を行なう再生医療が、難治性疾患に対する効果的な治療法として注目を集めている。この再生医療において、治療に有効な幹細胞を分離・精製する技術は必要不可欠である。そこで本研究では、細胞を未修飾の状態で分離することを目的として、正電荷を有する温度応答性高分子修飾シリカビーズを充填剤とした細胞分離カラムを作製した。 シリカビーズに原子移動ラジカル重合 (ATRP) の開始剤を修飾し、カチオン性高分子と温度応答性高分子のブロック共重合体をシリカビーズに修飾した。このビーズをカラムに充填し、細胞分離カラムとした。作製したカラムを 37℃ の細胞培養液でコンディショニングを行った後、標的細胞の間葉系幹細胞 (MSC)、夾雑細胞を 37℃ で負荷した。次に、カラムに 37℃ の培養液を流し、保持されていない細胞を取り除いた。最後に、カラムに 4℃ の培地を流すことにより、保持していた細胞を溶出させた。それぞれの操作における細胞濃度を測定し、負荷した細胞濃度に対する回収率を求めた。 温度 37℃ で、作製したカラムに細胞を負荷したところ、標的細胞の MSC のみがカラムに保持し、夾雑細胞はカラムに保持せずに溶出した。これは、シリカビーズに修飾された高分子と MSC との静電的相互作用、疎水性相互作用により保持したと考えられる。さらに、カラム温度を 4℃ に下げたところ、カラムに保持されていた MSC が溶出した。これは、温度を下げる事により、カラムに保持されていた MSC が溶出したと考える。これらの結果より、温度制御のみで標的細胞のみをカラムに保持し、回収する事で細胞分離が行なえる事が示された。 本研究で作製した細胞分離カラムは、細胞を修飾せずに、温度制御のみで分離できる可能性が示された。						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
Effective cell separation method is demanded for cell transplantation therapy. However, there are several problems in conventional cell separation methods such as consuming time and cost, and negative effect of cells labeling on patients. To overcome these problems, we developed cell separation column using silica beads modified with temperature-responsive polymers for simple and label-free cell separation. Temperature-responsive cationic copolymer, was modified on the silica beads by atom transfer radical polymerization. Polymer modified beads were packed into a column. The column was conditioned with a cell culture medium at 37℃. Then, cell suspension was loaded on the column at 37℃. Cell culture medium was flowed for washing and flowed at 4℃ for elute cells from the column. Elution behavior of the cells from the column was observed by counting the eluted cells in each fraction. Cell adsorption at 37℃ increased using columns included cationic copolymer. The result indicated that cells were adsorbed on beads in column through not only the hydrophobic interaction between cells and the polymer but also the electrostatic interaction between cells and the polymer. Using cell culture medium cooled at 4℃, cells were eluted from column. This is because the hydrophobic interaction between polymer and cells were reduced by the polymer hydration at 4℃. The developed column would be useful for cell separation and contribute to cell-based therapy.						
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)			
長瀬健一	機能性高分子が切り拓く DDS と再生医療	第 64 回日本薬学会関東支部	2020 年 9 月 19 日			
長瀬健一	細胞治療のための高機能細胞精製法	第 36 回日本 DDS 学会学術集会	2020 年 6 月 28 日			