MakCell cell culture system 技術資料

データ提供：大阪大学 松井特任准教授
作成日： 2023年8月17日

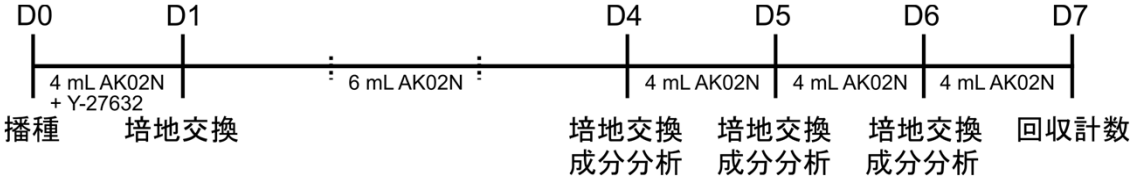
MakCellを用いた自動培地交換の前後における培地成分分析

細胞培養時の日々の培地交換では，培養上清の吸引廃棄により細胞代謝産物を取り除くこと，代謝により減少する物質を供給することが重要である．特にヒト幹細胞培養においては，代謝産物である乳酸の濃度が閾値以上になると細胞毒性を有することから，培地交換時に乳酸を取り除くことが重要である．そこで，卓上型自動細胞培養装置 MakCellを用いてiPS細胞維持培養時の培地交換を行い，手作業による培地交換との比較を行った．比較項目は以下の通り．培地成分分析装置を用いて培地交換前後の培地に含まれる乳酸濃度，グルコース濃度，pHの比較，継代・播種後Day 7におけるiPS細胞形態の比較，培養器材上からiPS細胞を剥離し細胞数を計数し増殖率を比較した．また長期にわたりMakCellを用いて培地交換を行った場合に，iPS細胞の未分化性が維持されているか確認するため，2ヶ月間MakCellで継続してiPS細胞の培地交換を行い（継代のみ手作業），未分化マーカーの遺伝子発現レベルをqRT-PCRにより評価した．

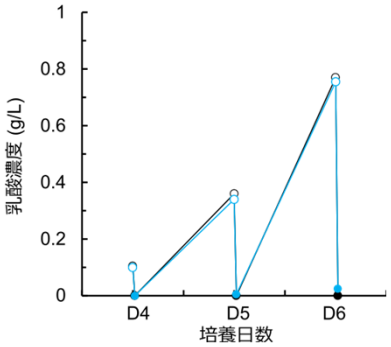
方法

細胞種：ヒトiPS 253G1 (播種密度 4.8x10^2 cells/cm^2)
培養液：StemFit AK02N (Ajinomoto), CultureSure Y-27632(Wako)
器材：60 mm tissue culture dish (BD Falcon), iMatrix-511 (Nippi)
培地成分分析：Vi-CELL MetaFLEX (Beckman Coulter)
細胞計数：Countess 3 (ThermoFisher)
qRT-PCR：StepOne Plus (ThermoFisher), TaqMan Gene Expression Assays (ThermoFisher)

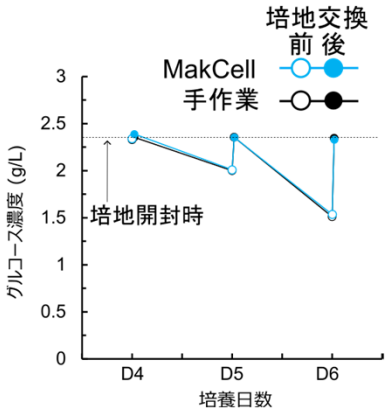
培地交換・成分分析スケジュール



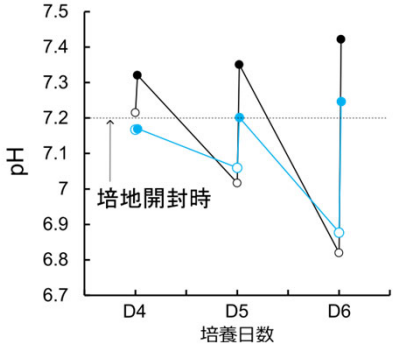
結果



培地交換前後の乳酸濃度変化



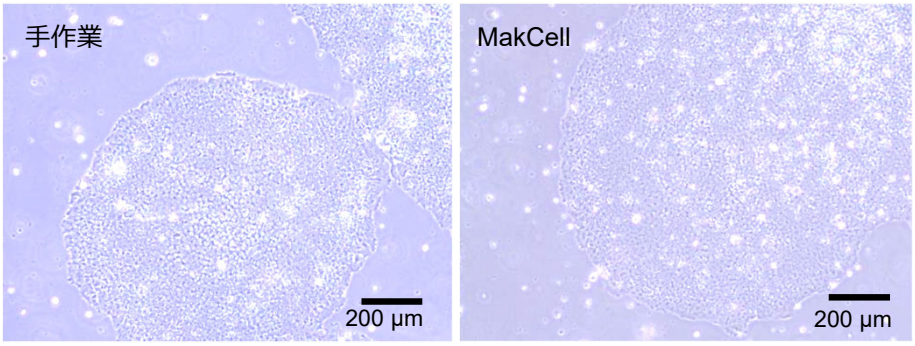
培地交換前後のグルコース濃度変化



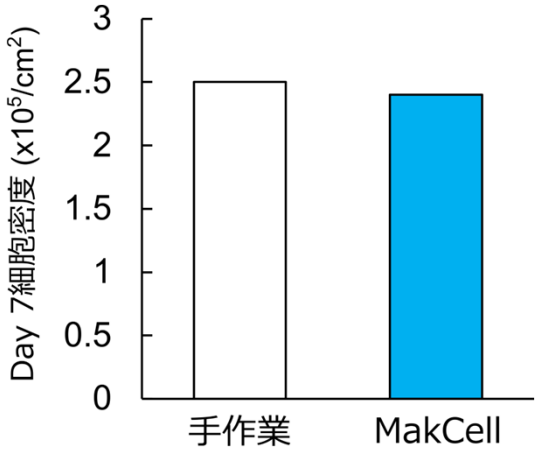
培地交換前後のpH変化

培地交換後に乳酸濃度がゼロになっていること、グルコース濃度が培地開封時の濃度になっていることから，MakCellは手作業による培地交換と遜色なく培地を吸引し，新鮮培地を供給できていた．手作業による培地交換ではその都度培地ボトルの開閉を伴うため溶存二酸化炭素が減少し供給培地のpHは上昇するが，MakCellではボトルの開閉を伴わないため供給培地のpH変動を抑えた状態で培地交換できていた．

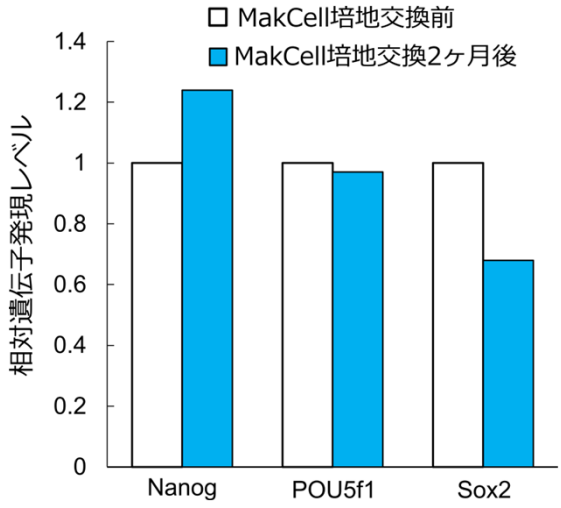
JTEC CORPORATION



Day 7細胞画像



Day 7細胞計数



MakCellによる2ヶ月間の培地交換後の
未分化マーカーの遺伝子発現レベル

培養Day 7におけるiPS細胞を顕微鏡観察したところ、手作業による培地交換とMakCellで培地交換したiPS細胞の間に形態的差異は認められなかった.
またDay 7の細胞計数結果から，手作業により培地交換したものとMakCellで培地交換したiPS細胞の増殖率の間には差異は認められなかった.
MakCellによる培地交換開始前のiPS細胞の未分化マーカーの遺伝子発現レベルを基準として，2ヶ月間MakCellで培地交換を行ったiPS細胞の遺伝子発現レベルをqRT-PCRにより調べたところ，iPS細胞の未分化性は維持できていた.

まとめ

MakCellは手作業による培地交換と比較しても遜色なく培地の吸引と新鮮培地を供給することができており，iPS細胞の形態や増殖率に差異はなかった.
2ヶ月間の培地交換をMakCellで行ってもiPS細胞の未分化性が維持されていることから，MakCellは安定して培地交換可能な装置である.

参考：作業時間比較

	手作業	MakCell
作業内容	培地遠沈管分注　5分/回 培地加温　15分/回 培地交換　30分/回 培地交換回数　4回	チューブ・培地・ノズル準備　30分 プログラム設定　5分
作業時間 合計	200分（3時間20分）	35分

お問い合わせ先
㈱ジェイテックコーポレーション 営業部
〒567-0086
大阪府茨木彩都やまぶき2-5-38
Tel：072-655-2786　Fax：072-643-2391
info@j-tec.co.jp

JTEC CORPORATION