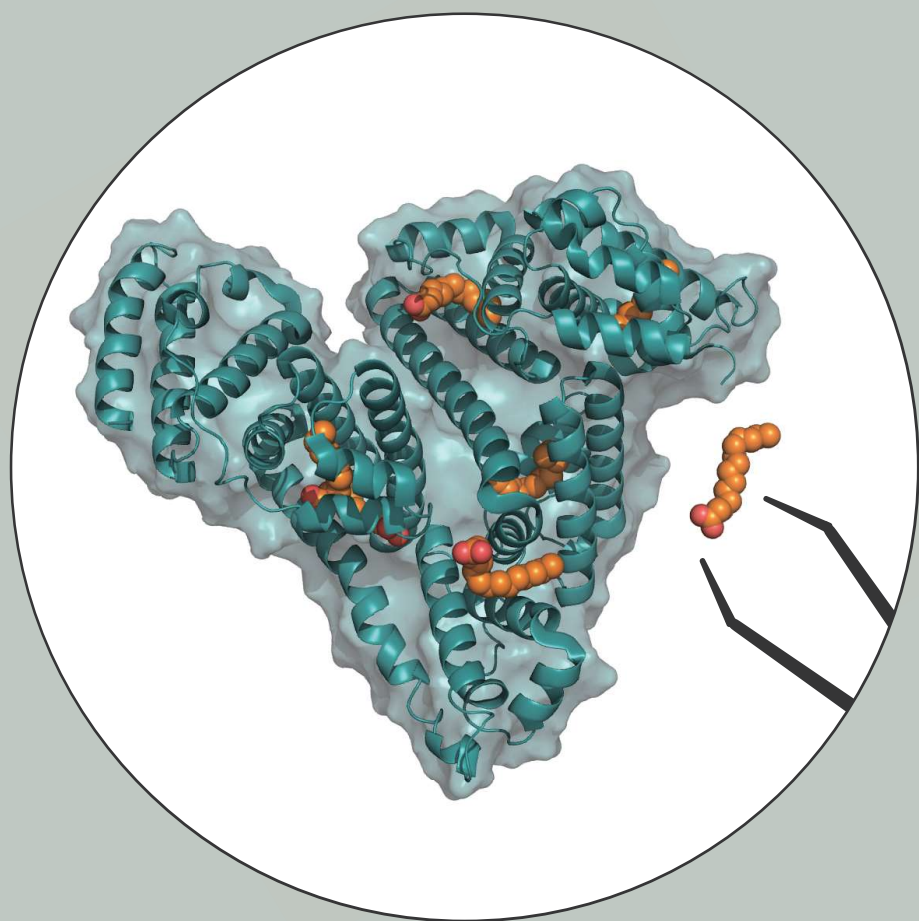


# deAlbumin™

細胞培養でお困りの方へ



# 「調製済み」

## 遺伝子組み換えヒト血清アルブミン

血清アルブミンが血清または遺伝子組み換え宿主から分離される際、一握りの生理活性分子が付いてきます。アルブミンのこれら不純物はロット間性能ばらつきの原因となります。

当社はアルブミンの小分子プロファイルを研究し、それに沿って高度に純化されたアルブミンを調製することにより、培養対象となる細胞種別ごとに最適なアルブミン性能を再構成します。

deAlbumin™製品はiPS、T-Cell、MSC、Neuronを用いて試験しています。

SKU	形状	応用
DA01-20-25ML	20% DPBS 溶液	MSC、神経細胞
DA01-1G	凍結乾燥品	MSC、神経細胞
DA07-20-25ML	20% DPBS 溶液	T細胞、MSC、神経細胞
DA06-10-25ML	20% DPBS 溶液	iPS

## 仕様

生物起源	ヒト、遺伝子組み換え、 <i>Pichia pastoris</i> 発現株
アッセイ	≥98% アルブミン、≥90% モノマー、PAGE 手法
分子量	モノマー ~67 kDa
エンドトキシン	<1 EU/mg タンパク質
保存温度	2-8°C
遺伝子	ALB (ヒト)

画像



## 用途: より健康な神経細胞培養



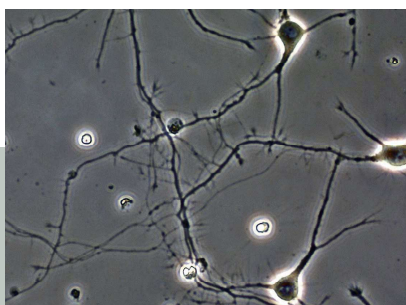
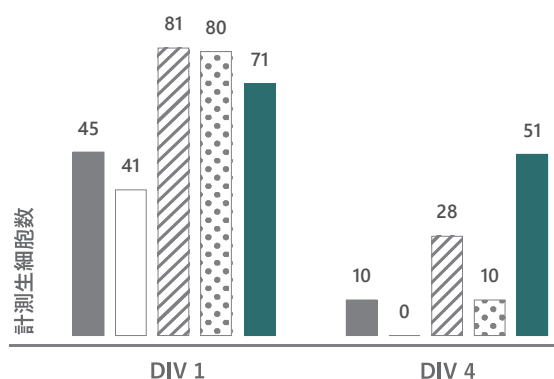
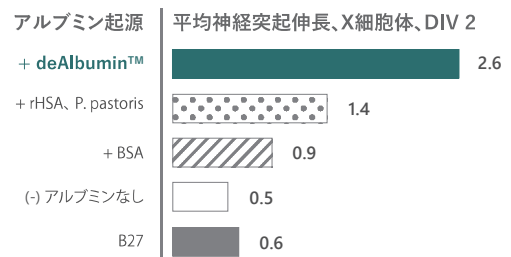
In vitro神経細胞培養は、神経科学、神経疾患、医薬品開発の様々な側面において研究のモデルシステムとなっています。研究者が生きた細胞を肉眼で見えて操作できるため簡便な方法です。

何十年もの取り組みから、神経幹細胞 (NSC) から各種神経細胞サブタイプを培養する数種類の手法が開発されました。これらのNSCはiPSやESから誘導するか、一次組織から分離することができます。

市販培地やサプリメントはフィーダーが不要であると主張していますが、多くの研究室では現在もアストロサイトをフィーダー細胞として神経細胞培養で用いることを好みます。これは培養皿の細胞寿命を長くしようと、共培養環境下で細胞は「より健康」になると信じられているからです。

報告されている多くの培地組成にはアルブミンが用いられており(参考文献1)、プレーティングする細胞生存率にとっても神経細胞成熟化(参考文献2、3)にとっても必要不可欠です。

当社のdeAlbumin™はフィーダーフリーNSC培養サプリメントで、共培養環境と同様により高い生存率とより速い成熟化を実現します。NS21/Neurobasal系において、deAlbumin™ (DA01、DA07) はプレーティングするNSC細胞数を73%増加し、神経細胞の成熟化について神経突起伸長を5倍増やします。



1. Brewer, G. J. et al. *Journal of Neuroscience Research* **35**, 567–576 (1993).
2. Chen, Y. et al. *Journal of Neuroscience Methods* **171**, 239–247 (2008).
3. Taberner, A. et al. *Journal of Neurochemistry* **81**, 881–891 (2002).

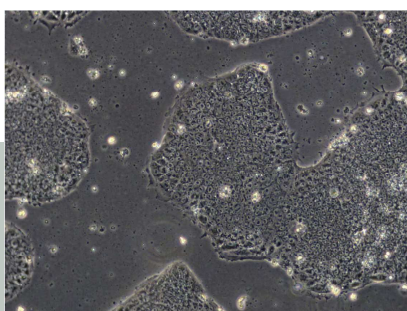
図1. ラット皮質神経細胞の保持 参考文献2に従ってNS21を調製した。一次ラット皮質神経細胞 (Cat.#A18945)、B27 (Cat.#17504044)、Neurobasal (Cat.#A3582901) はThermoFisher製、BSA (Cat.#A4919) はSigma Aldrich製。皮質神経細胞はThermoFisherの取扱説明書に従って解凍培養し、神経細胞 $5 \times 10^3$ 個/cm<sup>2</sup>を0DIVにコロニー形成して毎日観察した。

## 用途:PSCのための堅牢な培地



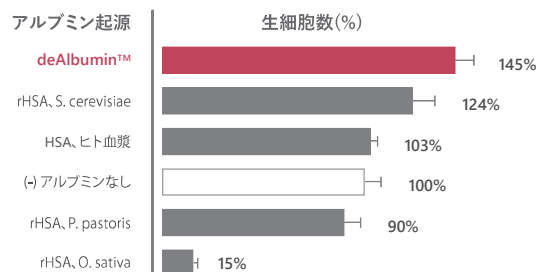
市販ESまたはiPS培地は、個別の研究プロジェクトに合うようしばしば組成の微調整が必要になります。しかし、販売業者からカスタム培地を調達するには、しばしば培地製造業者との長い交渉が必要となります。

所内でhESまたはhiPS培地を調製する場合はどうでしょうか。選択肢の一つは、Essential 8培地 (E8) から始めることです。そのレシピは2005年に公開されましたので(参考文献4)、それによって組成を調整することができます。しかしE8培地の大きな問題は、細胞にストレスがかかる状況での堅牢性です。例えば、単一細胞クローニング、患者由来iPS、CRISPR-Cas9遺伝子編集などの用途では収量が低くなる場合があります。アルブミンなどいくつかの成長因子をサプリメントで添加してE8培地を増強することができます。アルブミン以外はほとんど遺伝子組み換え高純度で入手可能です。



近年、アルブミンを含有する高度なES/iPS培養培地が数種類登場し(参考文献5)、アルブミン非含有のE8と比較してこれらの製品で考えられるアルブミンの機序も報告されています(参考文献6)。

当社が開発したdeAlbumin™(DA06)は特にiPS細胞を対象とし、E8培地における細胞数を45%増加します。



- Chen, G. *et al. Nature Methods* **8**, 424–429 (2011).
- Desai, N. *et al. Reproductive Biology and Endocrinology* **13**, 9 (2015)
- Massai, D. *et al. Scientific Reports* **7**, (2017).

図2. deAlbumin™がiPSCの成長と維持を支援する iPSC細胞(GIBCO, #A18945)をE8培地(GIBCO, #A1517001)で培養し、各遺伝子組み換えアルブミン(1mg/mL)を添加した。iPS細胞を6ウェルプレートに1ウェルあたり $1 \times 10^6$ 個播種した。培地は毎日交換した。4日間培養した後、各群の生細胞密度をトリパンブルー法により決定した。

## 用途:T細胞の大規模増殖

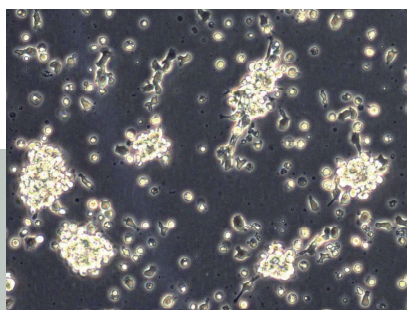


T細胞およびNK細胞は多くの治験で免疫療法として使用されています。これらの細胞は末梢血単核細胞(PBMC)プールから分離され、しばしば遺伝子改変されています(例えば、機能性添加のためにキメラ抗原受容体を植え付けるなど)。

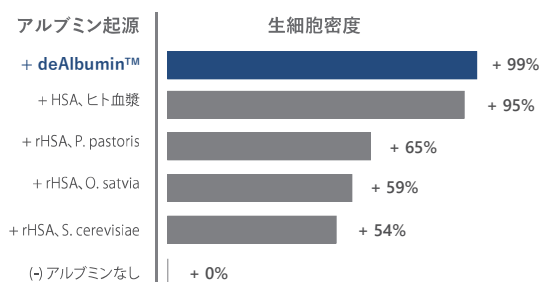
これら一次細胞の有限寿命(T細胞で30-40日、NK細胞で15日。参考文献7および参考文献8)という制約下においては、治療レジメンに十分な細胞を改変・増殖させるため、培養培地の最適化が必要となります。

T細胞およびNK細胞用の無血清培養系は1987年から開発されてきましたが、細胞成長を促進する上でアルブミンは必要不可欠な血清代替成分であることが判りました(参考文献9)。統計的な培地最適化からも、アルブミンが重要要素であることが判っています(参考文献10)。

アルブミンに付着した不純物は、リンパ球の培養に栄養面で影響するだけでなく、炎症誘発作用や免疫調節作用が生じる場合があります(参考文献11)。



当社のDA07アルブミンは、静的培養にも振とう培養にも使用可能です。5日間培養でdeAlbumin™(DA07)を使用することにより、アルブミンなしCDM(既知組成培地)と比較して生細胞成長を99%増大することができます。



- Baliu-Piqué, M. *et al. Frontiers in Immunology* **9**, (2018).
- Lowry, L. E. *et al. Frontiers in Immunology* **8**, (2017).
- Polet, H. *et al. The Journal of Experimental Medicine* **142**, 949 (1975).
- Kim, M. M. *et al. Communications Biology* **2**, (2019).
- Lone, A. M. *et al. Frontiers in Immunology* **4**, (2013).

図3. ヒトT細胞の生細胞密度を高めた 血漿HSA、市販遺伝子組み換えHSA、deAlbumin™ (0.5 mg/mL)使用時のヒトT細胞の生細胞数。ヒトT細胞を5日間RPMI1640にてアルブミン処理し、ITSEおよび脂質濃縮物、IL-2およびアクチベーター(CD3、CD28、CD2)をサプリメント添加した。

## 用途:動物由来成分フリーMSC培養

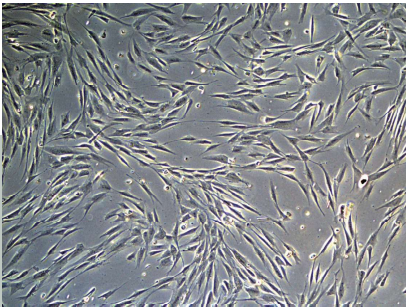


間葉系幹細胞 (MSC) は自己複製能、多分化能、免疫制御性を有するため、いくつかのヒト疾患において細胞療法の候補となっています。

しかし現在でもMSCの性状は由来組織、ドナー、使用する分離技術により大きく左右されます(参考文献12)。MSCの多くは培養皿内で徐々に多能性と増殖能を失っていくため、細胞性状に内在するそのようなばらつきは培養細胞の培養効率および品質、ひいては臨床転帰に大きく影響します。

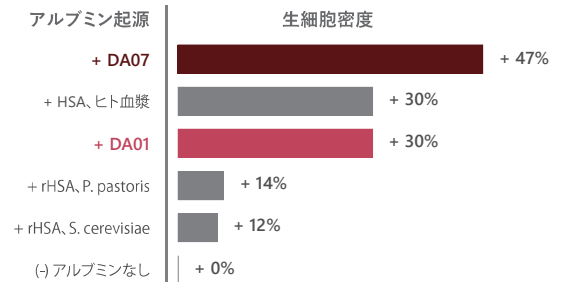
したがって、試験台から病床まで、プロジェクト進展に沿って一貫した培養を実現するには、標準化された培養技術および培地を使用することが必要不可欠です。

現在でも、ウシ胎児血清 (FBS) やヒト血小板溶解物 (hPL) などの未定義成分を、同等のMSC細胞成長能を有する既知成分配合物で代替することは困難な課題となっています。アルブミンはFBSおよびhPLを代替する際にしばしば使用される成分です(参考文献13)。しかし、同時に脂肪酸などアルブミンの不純物によるMSC培養への影響も報告されています(参考文献14)。



当社のアルブミン調製技術により、細胞の高成長を一貫して支える動物由来成分フリー培地の開発をお手伝いします。下図はdeAlbumin™がMSC細胞を30-47%増加させることを示しています。

さらに、当社DA01は再生医療用原材料として日本のPMDA(医薬品医療機器総合機構)により承認され、「再生医療等製品材料適格性確認書」を取得しています。



- Estève, D. et al. *Stem Cells International* **2016**, 1–8 (2016).
- Schnitzler, A. C. et al. *Biochemical Engineering Journal* **108**, 3–13 (2016).
- Fillmore, N. et al. *PLOS ONE* **10**, e0120257 (2015).

図4.様々なアルブミンを用いたヒトMSCの成長 血漿由来HSA、市販遺伝子組み換えHSA、deAlbumin™ (0.5 mg/mL)使用時の脂肪MSCの生細胞密度。血清含有培地(0日目)にて二回継代後、hMSCをさらに7日間既知組成培地でアルブミン処理した後(イスコフ改変ダルベッコ培地(IMDM))を使用し、TGF-β 1、FGF2、インスリン、トランスフェリン、モノチオグリセロール、L-アスコルビン酸、フィブロネクチン、脂質濃縮物を添加した)、生細胞密度を計測した。

## お問い合わせ | Albcura.com

### 拠点

日本オフィス | jp@albcura.com

台湾オフィス | Dr. Poyi Huang  
+886-2-22989221  
info@albcura.com

販売会社 | Nacalai Tesque Inc.  
0120-489-552  
<https://www.nacalai.co.jp/ss/Contact/>

販売会社 | 伊勢久株式会社  
052-962-8318  
yu\_kikuzawa@isekyu.co.jp