

**DPiMS™-2020とeMSTAT Solution™
を用いたiPS細胞の分化/未分化評価**

再生医療分野での研究開発や品質管理において、多能性幹細胞の分化/未分化状態は重要な評価項目です。従来の分化/未分化状態の評価方法では培養細胞の一部を分取・前処理する必要があるため、短時間での評価が困難であり、貴重な培養細胞の一部を使用する必要があります。もし、少量のサンプルから簡便な前処理によって分化/未分化状態のデータを得られれば、細胞の損失を抑えながら短時間で評価が可能になります。

本稿では新規イオン化法である探針エレクトロスプレーイオン化法を利用した質量分析計 DPiMS-2020 (図1) を用いて、iPS細胞の培養液に含まれる成分を迅速・簡便に測定を行った例を紹介いたします。加えて、統計解析ソフトウェアeMSTAT Solutionを用いて、分化/未分化細胞の培養液をグルーピングできた事例も、併せてご紹介します。

N. Sakashita, H. Saiki

■分析試料の調製と分析

分析に使用したiPS細胞は、表1に示す条件で培養しました。各サンプルについて、qPCRを用いて分化/未分化マーカーの相対発現量を表1に示す各培養日数の細胞と比較を行い、未分化スフェロイド、分化スフェロイド、接着分化細胞の順に細胞の分化が進んでいることが確認されました。

各培養液サンプルの上清とエタノールを1：1の割合で混合したものを、DPiMS-2020専用の液体試料用サンプルプレートに10 μL滴下し、スキャンモードにて測定を行いました。図2にマスペクトルの一例を示します。



図1 DPiMS™-2020と探針エレクトロスプレーイオン化法の原理
サンプルプレート上の試料に探針を刺し、探針表面に付着したサンプルに電圧をかけることで分子をイオン化する。

表1 培養液サンプルリスト

培養液サンプル	培地	細胞培養日数	サンプル名
未分化スフェロイド培養液	Essential8™	2days	未分化細胞培養液(D2)
		7days	未分化細胞培養液(D7)
分化スフェロイド培養液	Essential8™+FBS	2days	分化細胞培養液(D2)
		7days	分化細胞培養液(D7)
接着分化細胞培養液	Essential8™+FBS+ゼラチンコート	2days	接着分化細胞培養液(D2)
		7days	接着分化細胞培養液(D7)

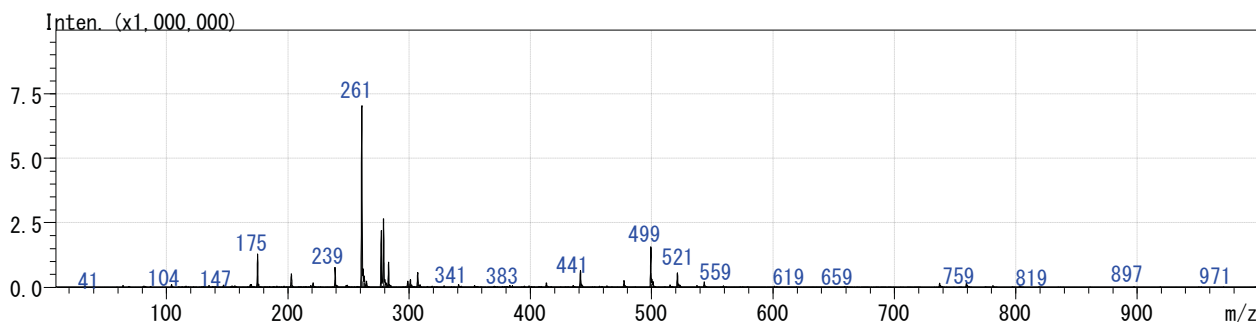


図2 iPS細胞培養液をDPiMS-2020で測定した際のマスペクトルの一例

■eMSTAT Solutionによるグルーピング

分析により得られたマススペクトルデータを、eMSTAT Solutionを用いて多変量解析した結果が図3です。図3aのように培養液に含まれる成分の違いにより、分化細胞培養液と未分化細胞培養液を分けてグルーピングすることができました。

さらに、分化細胞培地のデータのみを用いて多変量解析を行ったところ、図3bのような結果が得られました。接着分化細胞培養液、分化細胞培養液のいずれもD2よりD7の方がより左側にプロットされていることから、分化の進行度合いとプロット位置が連動していることが判ります。また、接着分化細胞培養液のD2と分化細胞培養液のD7のグループが大きく重なっていることから、両グループの細胞の分化の進行度合いが近いことが示唆されました。

■まとめ

DPiMS-2020を用いることで、前処理を含め1サンプル3分程度の時間で多変量解析に必要なデータを得ることができました。加えて、eMSTAT Solutionを用いることにより、細胞の分化/未分化をグルーピングするだけでなく、分化細胞の進行度合いによってもグルーピングすることができました。

これらの結果から、DPiMS-2020とeMSTAT Solutionを組み合わせることで、細胞の分化/未分化状態や分化の進行度合いを迅速かつ簡便に評価できることが示唆されました。このことから、再生医療分野における細胞の品質管理や、研究において有用な分析法となることが期待されます。

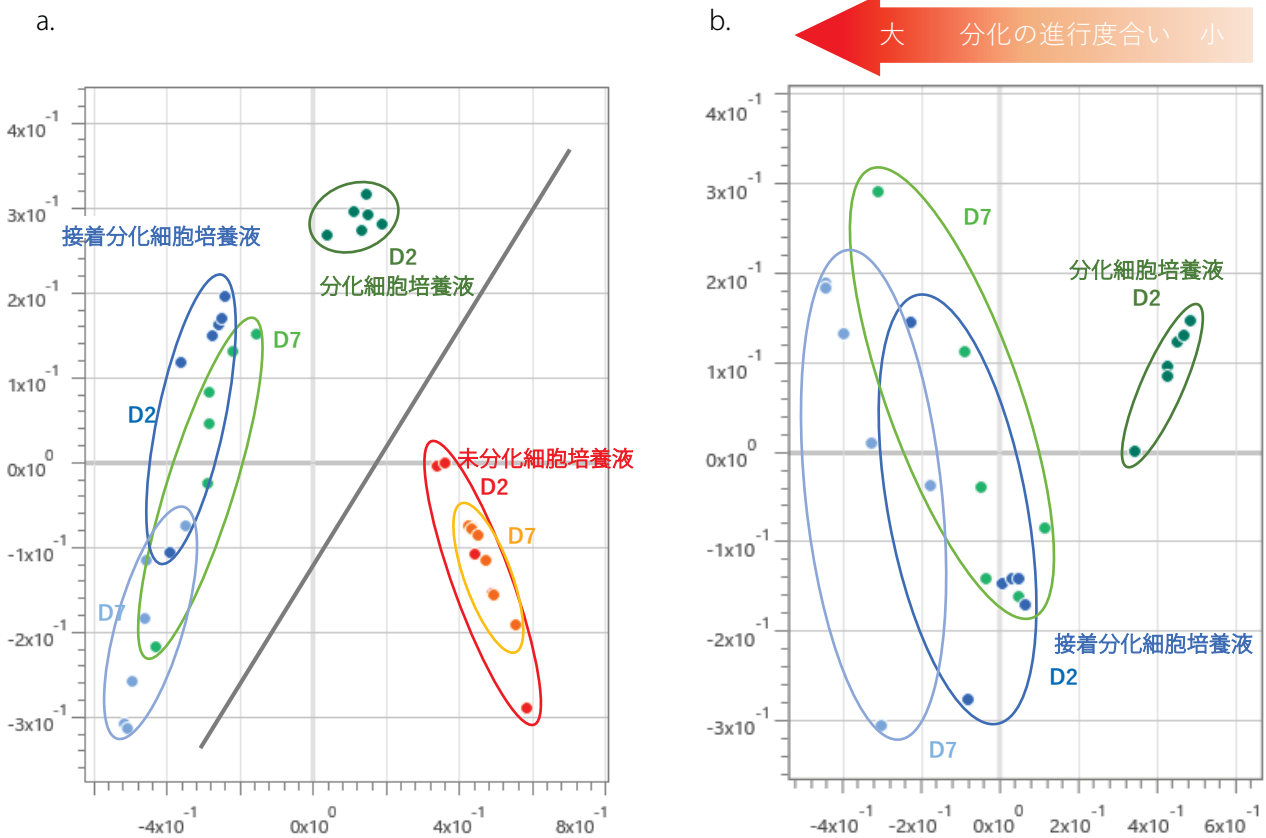


図3 iPS細胞培養培地の多変量解析結果（スコアプロット）

- a. 分化細胞培養液と未分化細胞培養液のグルーピング
- b. 接着分化細胞培養液と分化細胞培養液のグルーピング

本文書に記載されている製品は、医薬品医療機器等法に基づく医療機器として承認・認証等を受けた機器ではありません。
本文書に記載されている分析手法を診断目的で使用することはできません。

DPiMSおよびeMSTAT Solutionは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。
Essential8は、Fujifilm Cellular Dynamics, Inc.の商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年10月

島津コールセンター ☎0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。