

ヒト iPS 細胞由来ヒト脳オルガノイド形成における I 型コラーゲンゲル包埋の影響

(阪公大院理) ○青柿 真由・森 英樹・原 正之

Effect of embedding in a type I collagen gel on the formation of human iPS cell-derived human brain organoid. (*Graduate School of Science, Osaka Metropolitan University*) Mayu Aogaki, Hideki Mori, Masayuki Hara

Cerebral organoids are three-dimensional cell assemblies with brain tissue-like structures that recapitulate the process of human central nervous system development, and are promising tools for the study of early development of the human brain, disease modeling, and drug development. One of the typical methods for producing these brain organoids is to embed embryoid bodies (EBs) induced from pluripotent stem cells in Matrigel containing laminin, type IV collagen, and other substances. However, the effect of type I collagen, the most widely used biomaterial, on cerebral organoids is not yet known. In this study, we investigated the effect of hydrogel-embedding of human iPS cell-derived EBs in porcine type I collagen gels on cerebral organoid formation compared to Matrigel-embedding conditions.

Human iPS cells (201B7) were cultured in StemFit medium and then seeded into round-bottom low-attachment plates to induce EBs. EBs were embedded in Matrigel or type I collagen gel, and cultured in brain organoid induction medium under 5% CO₂ at 37°C with rotation. Under the condition of EBs embedded in type I collagen gels, a lower percentage of the EBs were retained in the gels after 6 weeks of culture than under the Matrigel-embedded condition, and the ratio of astrocytes found in the organoids was higher.

Keywords : *Cerebral organoid; Collagen gel; Matrigel; iPS cell; Embryoid body*

脳オルガノイドは、脳組織様構造を有する 3 次元的な細胞集合体で、ヒトの中枢神経発生過程を再現しており、ヒト脳の初期発生過程の研究、疾患モデルや薬剤開発のための有望なツールとなっている。この脳オルガノイドの代表的な作製方法の 1 つに、多能性幹細胞から誘導した胚様体を、ラミニンやIV型コラーゲン等を含むマトリゲルに包埋して培養する方法がある。しかし、生体材料として最も多く利用される I 型コラーゲンのハイドロゲルが脳オルガノイド形成に与える影響はまだ知られていない。本研究では、ブタ由来 I 型コラーゲンからなるハイドロゲルにヒト iPS 細胞から誘導した胚様体を包埋した時に、マトリゲル包埋条件と比較して脳オルガノイド形成にどのような変化が生じるのかについて調べた。

ヒト iPS 細胞 (201B7) を StemFit 培地で培養した後、丸底型低接着プレートに播種し胚様体を誘導した。胚様体をマトリゲルあるいは I 型コラーゲンゲルに包埋し、脳オルガノイド誘導培地、5%CO₂、37°C 条件下で旋回培養した。I 型コラーゲンゲルに胚様体を包埋した条件では、マトリゲル包埋条件と比較して 6 週間培養後にゲル内に保持されている割合が少なく、オルガノイド中に見られるアストロサイトの割合が多い傾向にあった。