

장기간 배양 시에도 순도 저하가 없는 Human iPS cell 유래의 심근세포

MiraCell™ Cardiomyocytes (from ChiPSC12) Kit (Code Y50015)

- 심근 세포의 순도 95%이상 (cTnT양성률)
- 항생제 선별 과정 없이 심근 세포 선별
- 자율 박동 능력을 보유
- 각종 이온 통로 유전자를 발현(SCN5A, KCNQ1, CACNA1C, KCNH2등)
- 각종 이온 통로 차단제(E-4031, Chromanol 293B, Verapamil, Mexiletine)에 대한 전기 생리학적 반응성

MiraCell Cardiomyocytes (from ChiPSC12)는 hiPS세포에서 유도한 고순도 심근세포로 심근세포의 성장과 기능 해석 뿐만 아니라 MEA (Multi-electrode array)시스템을 이용한 약물 심장 독성 시험 등에도 폭넓게 사용할 수 있다.

본 제품은 심근 특이적 프로모터 (α-MHC)를 이용해 항생제 (예: puromycin 등) 선별 과정 없이 고순도의 심근 세포를 만드는 교토 대학 iPS세포 연구소의 인간 심근 세포의 제작 기술을 Takara Bio Inc.가 iHeart Japan Co.으로부터 도입하여 공동 개발한 제품이다. 이 기술로 만들어진 심근세포는 일반적으로 장기간 배양 시 발생하는 순도의 저하가 일어나지 않는다. 90일간 배양 후에도 순도의 저하가 관찰되지 않았다 (논문 투고 중).

본 제품은 feeder-free 배양 조건인 Cellartis DEF-CS 500 Culture System (Code Y30010)에서 배양된 human iPS cell line ChiPSC12 (Code Y00285)을 사용하였다.

■ MiraCell™ Cardiomyocytes (from ChiPSC12) Kit (Code Y50015) 제품 구성

MiraCell Cardiomyocytes (from ChiPSC12)	1 vial	> 3 x 10 ⁶ cells
MiraCell CM Thawing Medium	1 bottle	20 ml
MiraCell CM Culture Medium	1 bottle	100 ml

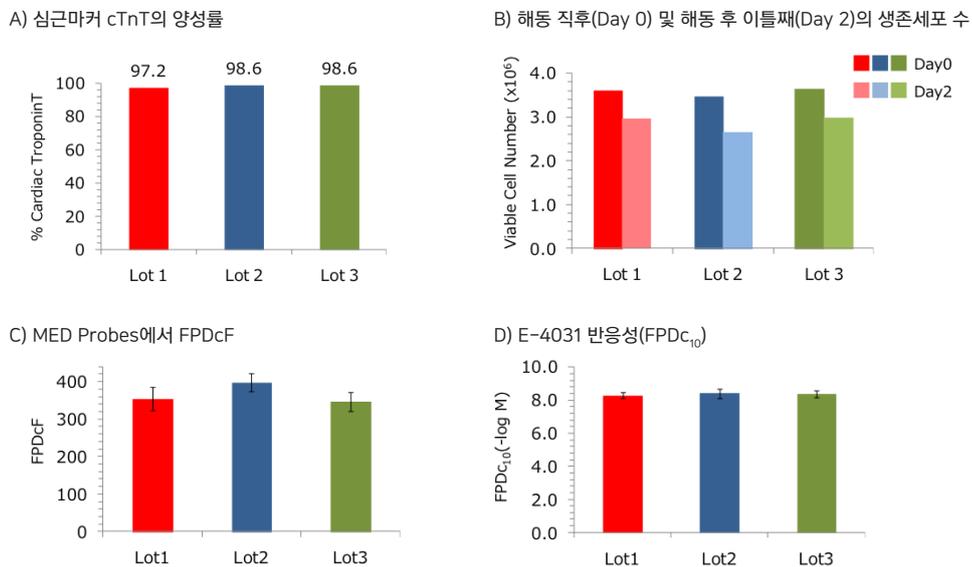
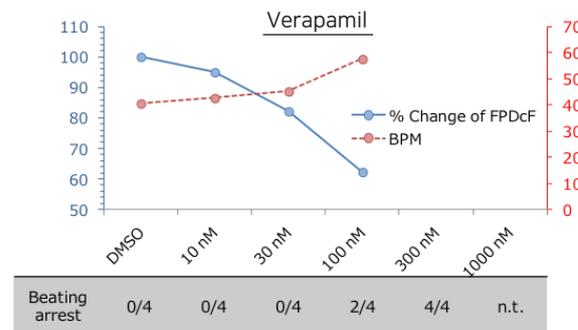
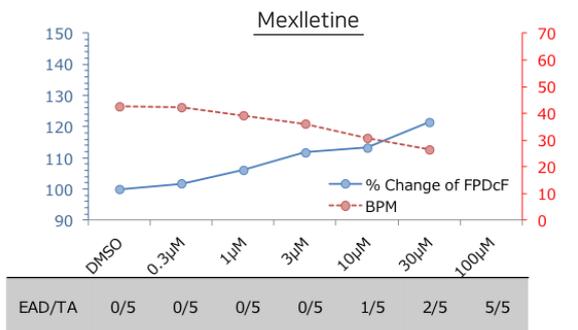
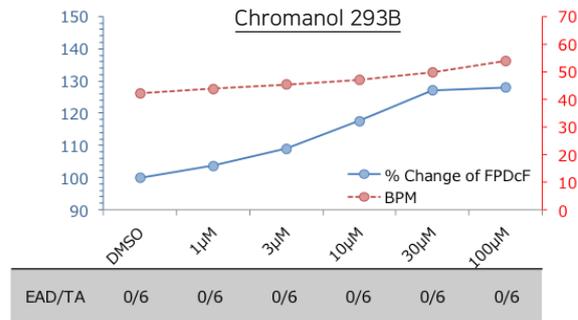
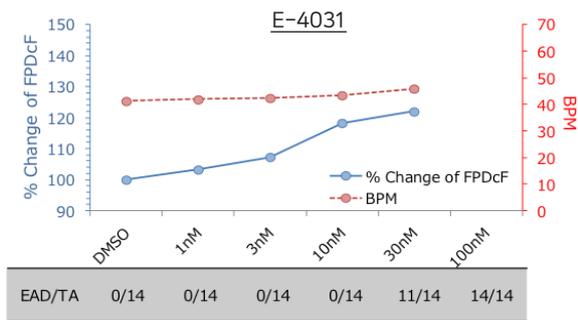


그림 1. MiraCell Cardiomyocytes(from ChiPSC12)의 lot간 차이(3 lot 제품)의 확인

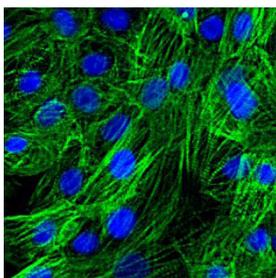
- A) 심근 마커 Cardiac TroponinT (cTnT) 양성률 (해동 2일째)비교
 - B) 해동 직후 및 해동 2일째 생존 세포 수 비교
 - C) MED Probes (Alpha MED Scientific Inc.)에서 FPDcF의 비교 ※ BPM 350이상의 Probe를 사용
 - D) 각 lot의 IKr 저해제(E-4031)에 의한 FPDc10(FPDcF가 10% 더 연장할 때 약물 농도) 비교
- 어느 평가 방법에서도 lot 간 차이는 적은 것으로 확인됐다.



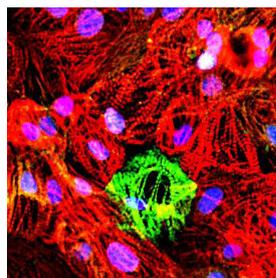
※ 표 안의 값은 [EAD/TA(또는 Beating arrest)이 확인된 Probe 수] / [측정한 Probe 수]를 나타낸다.

그림 2. MiraCell Cardiomyocytes(from ChiPSC12)을 이용한 약제 반응성 시험

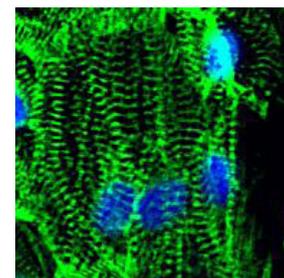
해동한 심근세포를 MED Probes(Alpha MED Scientific Inc.)에 파종 후 4~9일차에 BPM(Beats per Minute)이 35 이상을 나타내는 Probe에 대해 세포외 전위 측정 장치를 이용하여 약제 반응성을 확인했다. IKr저해제(E-4031), IKs억제제(Chromanol 293B), Na채널 및 IKr저해제(Mexiletine)에 대해서는 FPDcF의 연장, Ca채널 저해제인 Verapamil에 대해서는 FPDcF의 단축이 확인됐다. 또한 E-4031 및 Mexiletine에 관해서는 고농도시 부정맥 형태의 파형(EAD/TA; Early after depolarization/Triggered activity)이 관찰됐다.



cTnT
DAPI



MLC2A
MLC2V
DAPI



α-actinin
DAPI

그림 3. MiraCell Cardiomyocytes(from ChiPSC12) 심근 결합 단백질의 발현 해석

Fibronectin으로 코팅된 배양 플레이트로 계대 한 해동 후의 심근 세포를 4% paraformaldehyde로 고정하고 각 단백질에 특이적인 항체를 이용하여 염색했다. 그 결과 거의 모든 세포에서 심근 마커 단백질 cTnT가 발현하는 순도 높은 심근세포임이 확인되었다(좌측). 또 MLC2A와 MLC2V의 염색상에서 MiraCell Cardiomyocytes(-from ChiPSC12)는 대부분의 세포에서 심실 근육 세포 마커인 MLC2V가 발현하는 것을 확인했고(중앙) α-actinin염색으로 특징적 근절 구조가 확인되었다(우측). 그 외 각종 이온 통로 유전자의 발현(SCN5A, KCNQ1, CACNA1C, KCNH2등)에 대해서도 확인했다(데이터 비공개).

MiraCell Cardiomyocytes (from ChiPSC12)Kit는 iHeart Japan Co.로부터 라이선스를 받아 Takara Bio Inc.가 제조, 판매하고 있습니다.