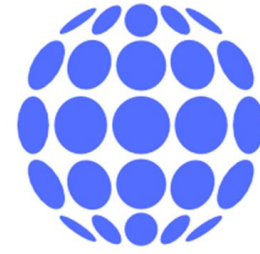


3次元培養装置 ClinoStar2[®] とアプリケーションのご紹介

2025 メドラボグループ MITO KOGYO
Presenter: Dr. Yukiko Kimura

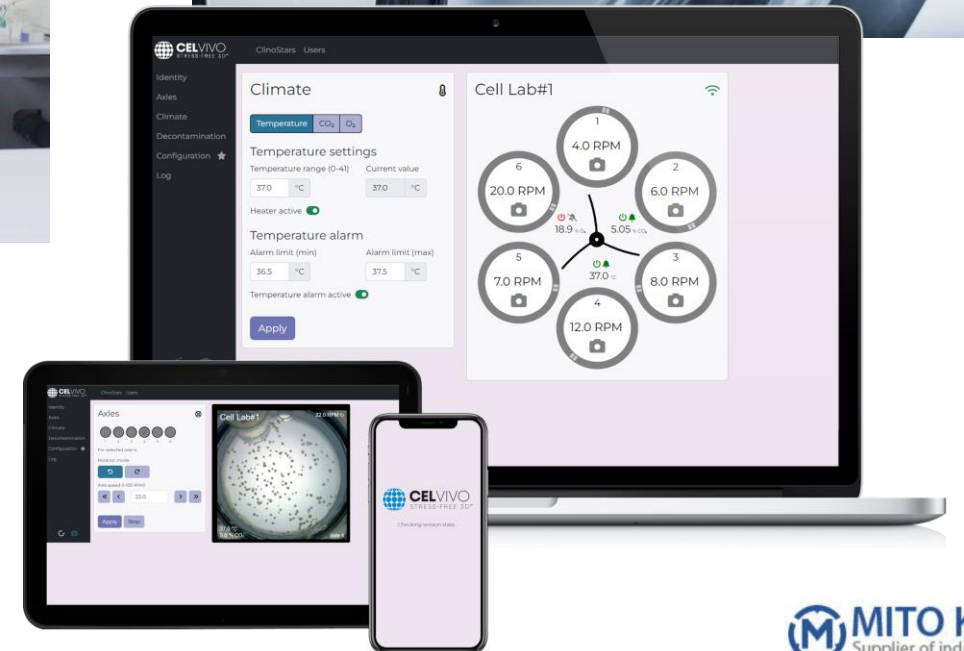
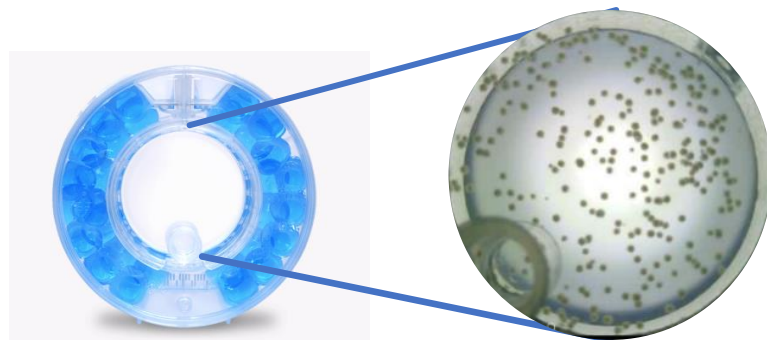
回轉浮遊培養裝置 ClinoStar2®



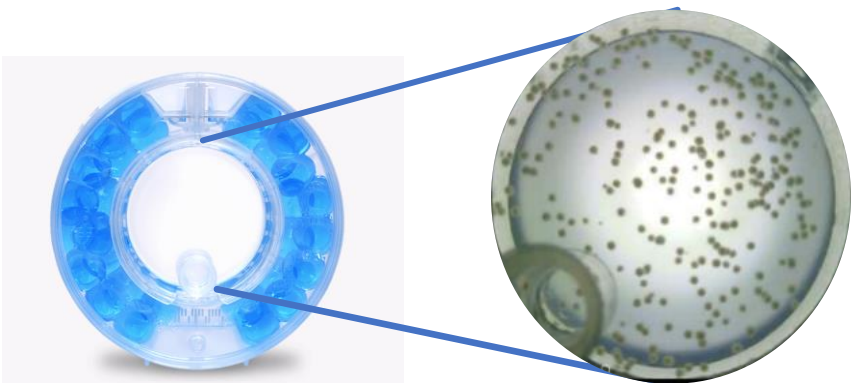
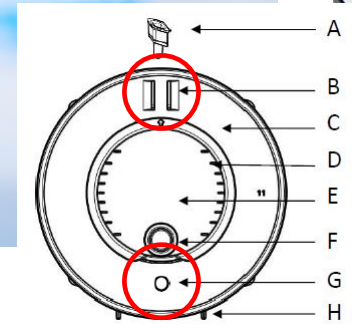
CELVIVO
STRESS-FREE 3D™



回轉浮遊培養裝置 ClinoStar2[®]



回轉浮遊培養裝置 ClinoStar2®

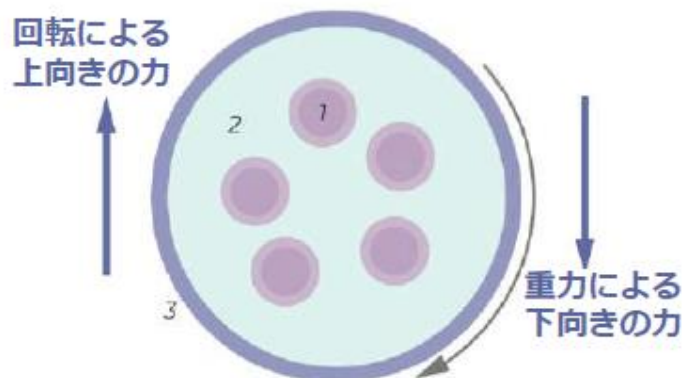
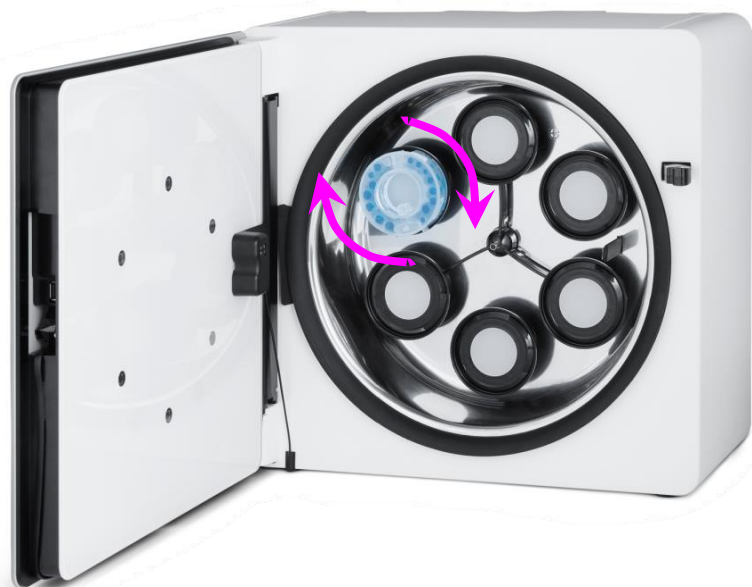


回転浮遊培養装置 ClinoStar2®

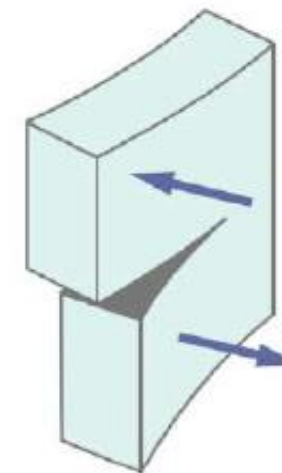
ストレスフリーな環境で、細胞の自己組織化、由来組織と似た機能や構造の再現性などが促進されます

【ClinoStar2®の原理】

【低ストレス環境】



1) 細胞 2) 培養培地 3) 培養容器

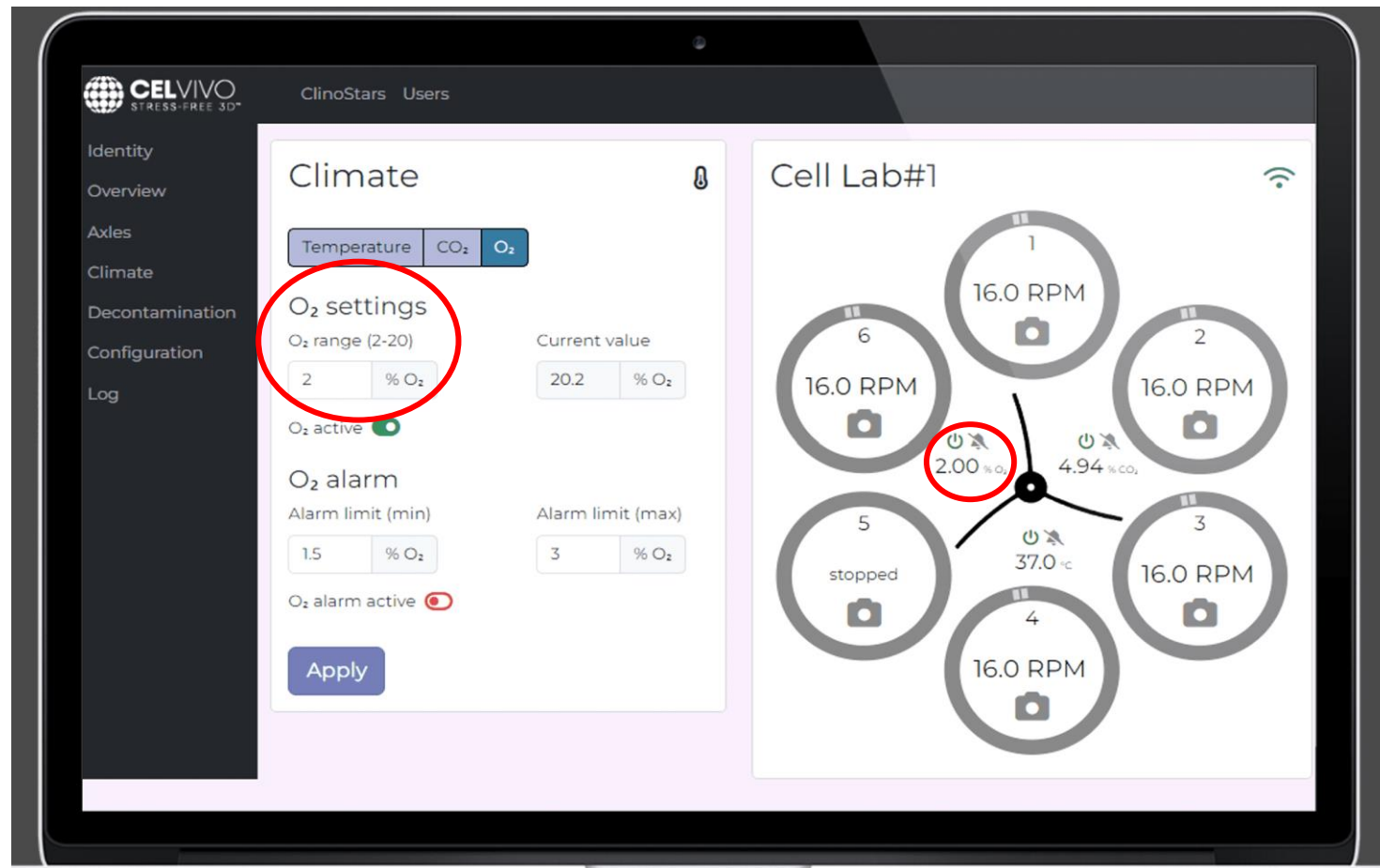


リアクターが回転することで、上向きの力と重力による下向きの力とのバランスで、スフェロイド/オルガノイドが培地中に浮遊する状態を作り、その浮遊環境を長期間保ちます。

スフェロイド/オルガノイドの軌道が静的に保持されるため、発生するせん断応力は非常に小さく、細胞へのストレスは低くなります。

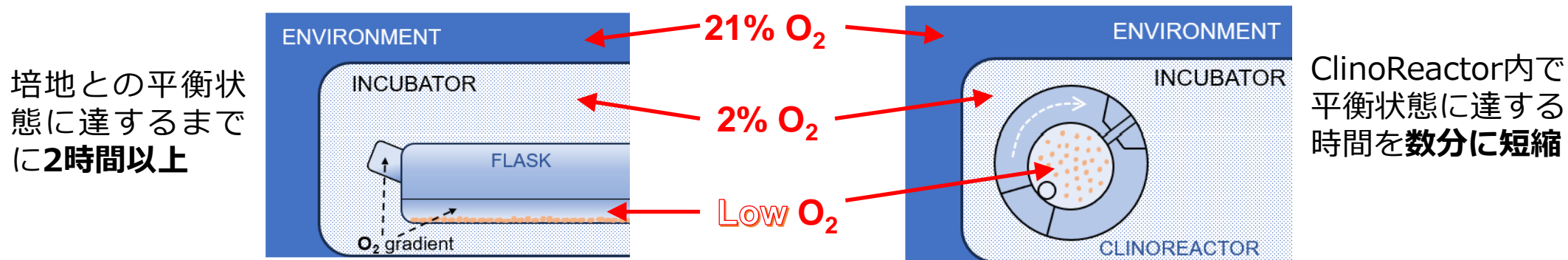
ClinoStar2[®] 低酸素モード

酸素濃度の範囲: 2% ~ 20% ➡ O₂ 濃度 2% の低酸素培養が可能



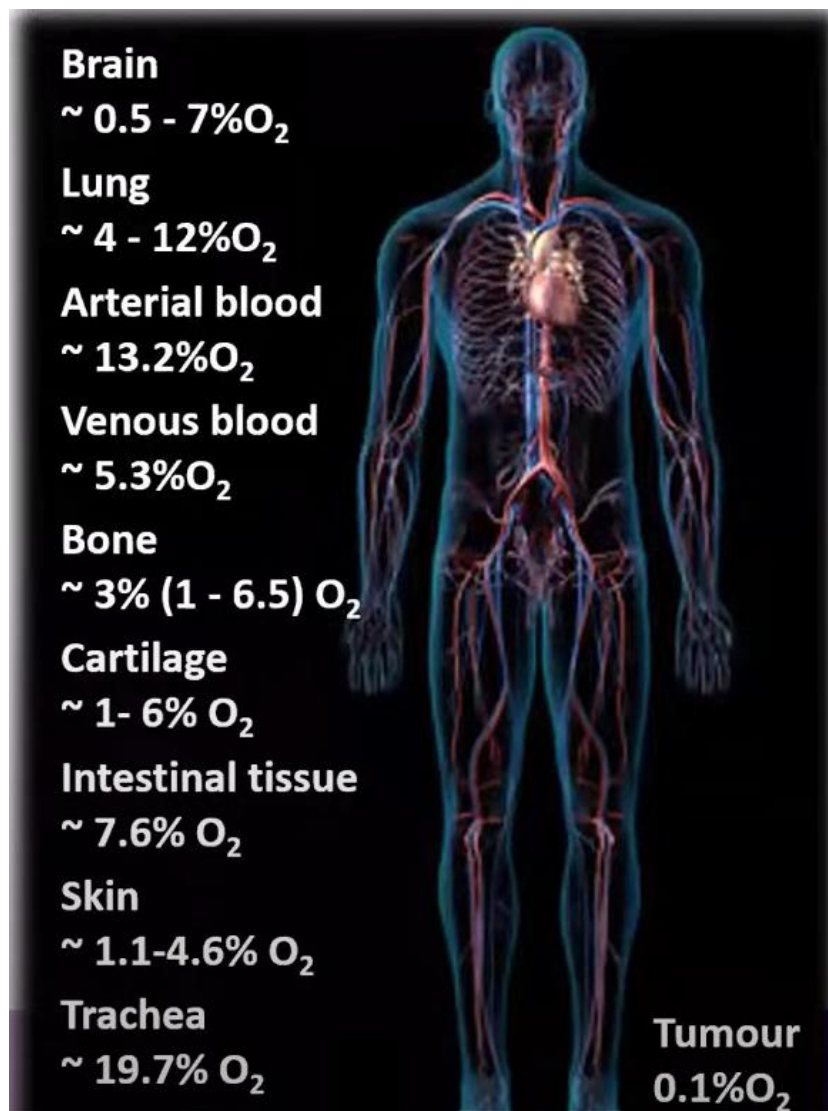
ClinoStar2[®] 低酸素培養の有用性

- ✓ 細胞を親組織と同じ酸素量レベルで確実かつ再現性のある形で曝露させ、培養することが出来る
- ✓ 細胞に有害な影響を及ぼす酸化ストレスの影響を最小限に抑えることが出来る



- ◆ 低酸素環境が*IPS細胞樹立を促進*
- ◆ MSCsの*低酸素プレコンディショニングは移植効果を高める*可能性
- ◆ 低酸素下で*ヒトMSC細胞の培養効率上がる*→ハイスループットへ
- ◆ 体内の組織内環境と同じ低酸素下での*がん細胞に対する薬物のMoA*の研究
- ◆ 低酸素下の*がん細胞の糖代謝&エネルギー産生に関わる転写因子の研究*→創薬へ

ClinoStar2[®] 低酸素培養の有用性



【親組織の酸素量レベル】

ヒトの

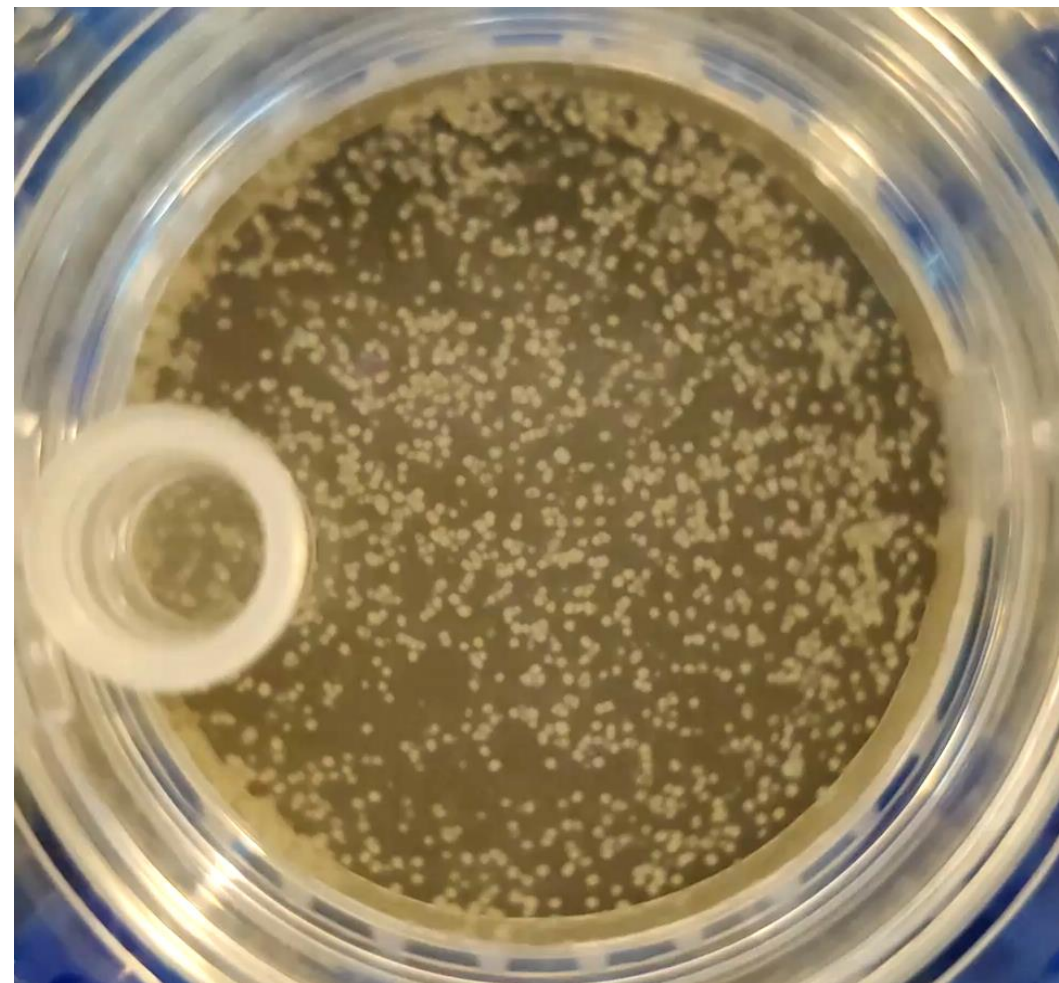
- ◆ 脳 0.5~7% O₂濃度
- ◆ 肺 4~12% O₂濃度
- ◆ 動脈血 ~13.2% O₂濃度
- ◆ 静脈血 ~5.3% O₂濃度
- ◆ 骨 3%(1~6.5%) O₂濃度
- ◆ 軟骨 1~6% O₂濃度
- ◆ 腸管組織 ~7.6% O₂濃度
- ◆ 皮膚 1.1~4.6% O₂濃度
- ◆ 気管 19.7% O₂濃度
- 腫瘍 0.1%

回転浮遊培養装置 ClinoStar2®

👉 優れているところ

- 細胞への低ストレス環境 速やかな成長
- 長期間にわたり安心して培養可能
- リモート操作で観察&速度調整
- リアクターごと顕微鏡で観察が可能
- 培地の交換頻度の軽減
- インキュベータ機能付きのAll-in-One仕様
- 場所を選ばないコンパクトな形状

**手のかからないClinoStar2®で、
新しい3次元培養の研究環境を！**



ClinoStar2[®] Application



Time-course characterization of whole-transcriptome dynamics of HepG2/C3A spheroids and its toxicological implications

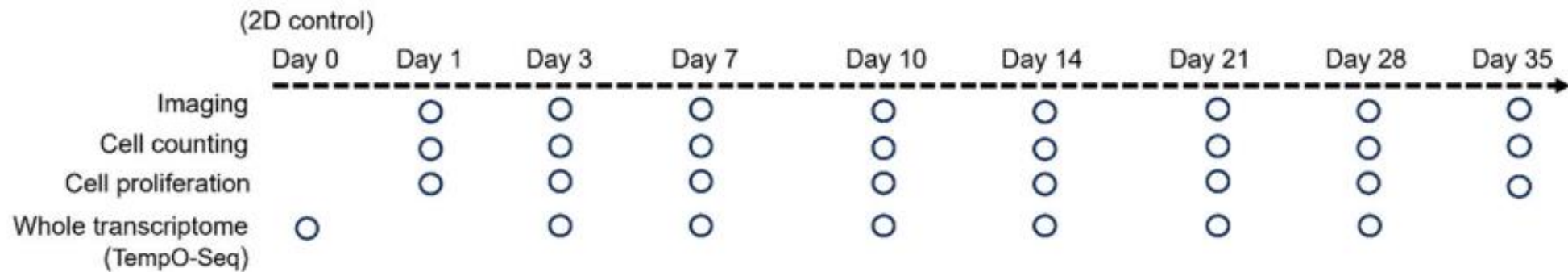
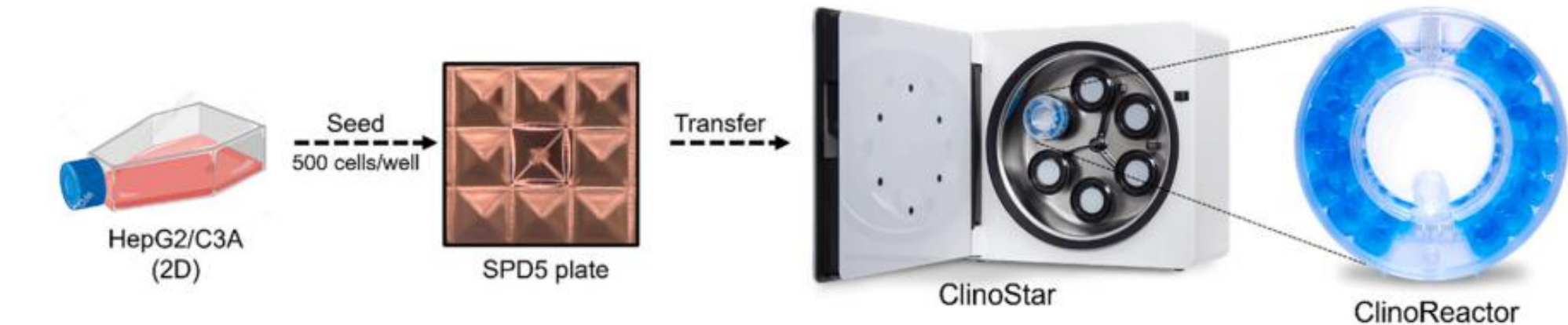
Chanhee Kim a, Zhaohan Zhu b, W. Brad Barbazuk c,d, Rhonda L. Bacher b, Christopher D. Vulpe a,*

Toxicology Letters 401 (2024) 125–138 Available online 3 October 2024

ClinoStar2[®] Application

- ◆ 予測毒性学において、生理学的に関連する*in vitro*モデルは、動物実験を代替または削減することが可能であり、今後の優先課題となっている。現在、多くの不死化ヒト肝臓細胞株がモノレイヤー（単層）で培養された際の代謝能力は、*in vivo*（体内）の代謝と比較して低く、その生理学的関連性には限界がある。
- ◆ 最近の肝細胞を3D環境（スフェロイドなど）で培養する取り組みにより、*in vivo*の条件をより良く模倣することで、ヒト肝細胞株の毒性代謝が向上する可能性がある。
- ◆ スフェロイドサイズと培養期間に応じたこのモデルの代謝能力を理解するため、clinostatシステム（CelVivo）で維持されたHepG2/C3A肝がん細胞スフェロイドのトランスクリプトームの動的変化を調べた；
 - ✓ スフェロイドの初期播種から35日間の連続培養にわたる形態変化（サイズ、コアの壊死）、細胞の健康状態、増殖率を評価し、トランスクリプトーム（TempO-Seq, BioSpyder）のタイムコース（0、3、7、10、14、21、28日）を解析

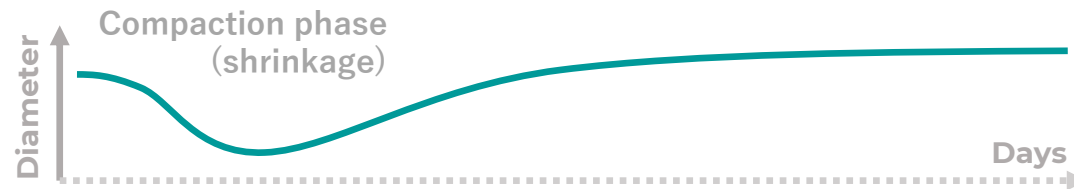
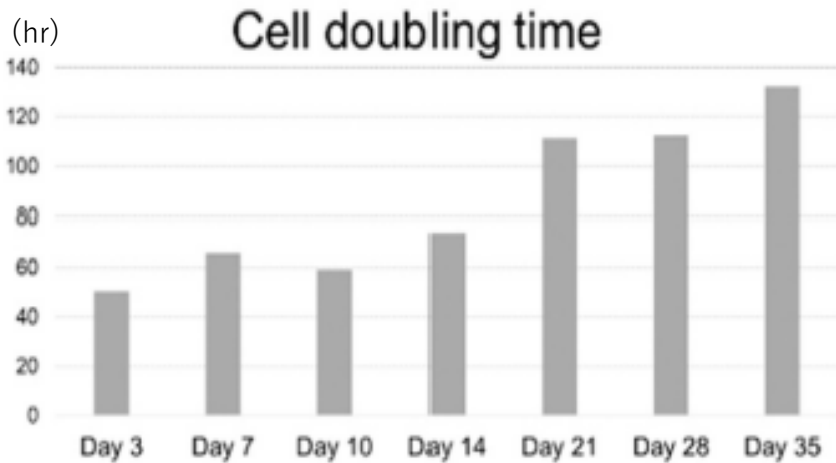
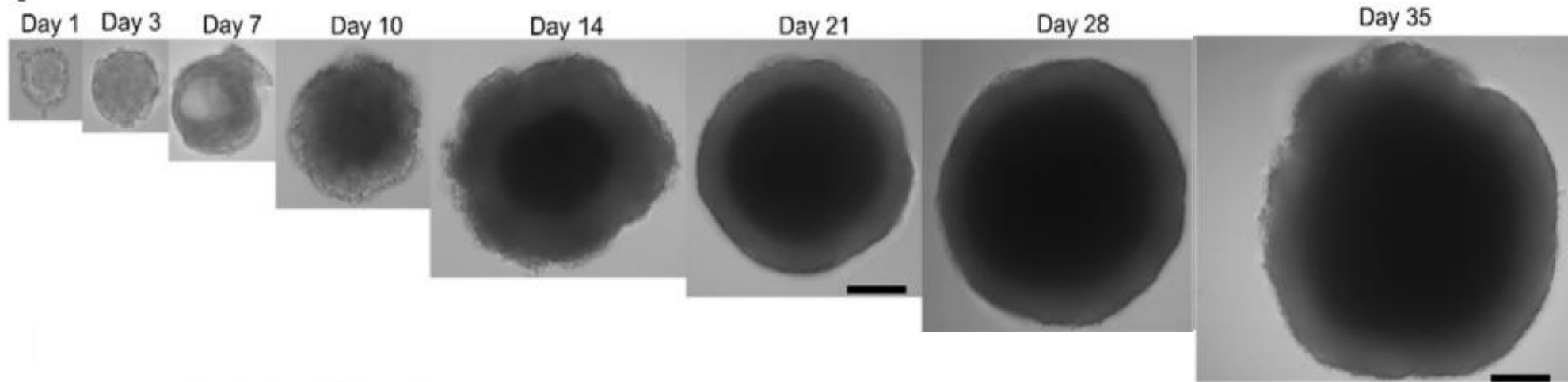
ClinoStar[®] Application



Chanhee Kim, et al., *Toxicology Letters* 401 (2024) 125–138

ClinoStar2® Application

A Cellular phenotypic changes of HepG2/C3A spheroids over the time-course 3D culture

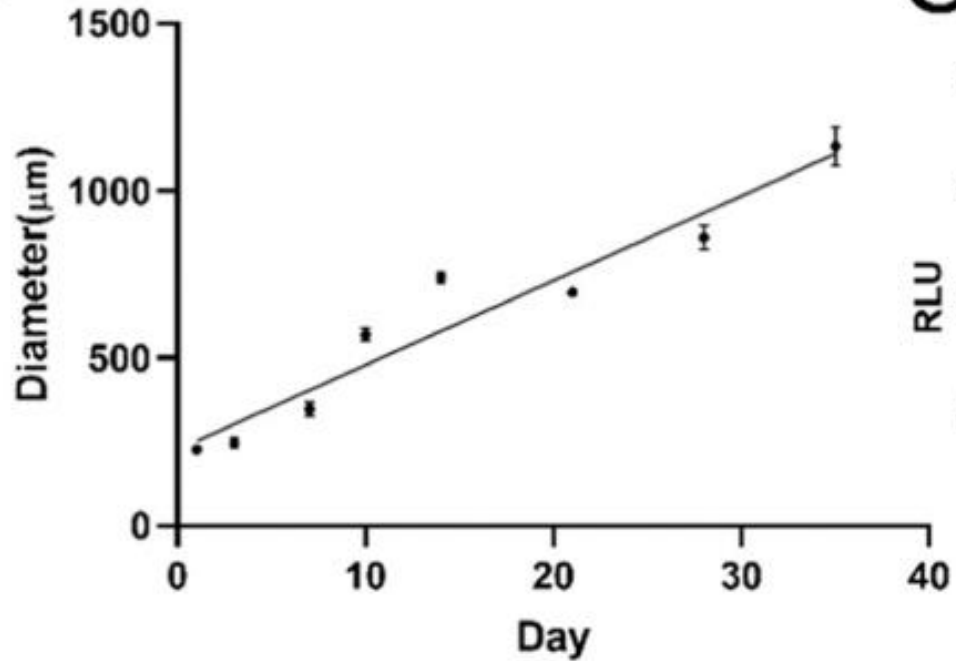


Chanhee Kim, et al., Toxicology Letters 401 (2024) 125–138

Cell doubling times for each time points (x-axis) during 3D spheroid culture are shown as a bar graph. The units on the y-axis are hours.

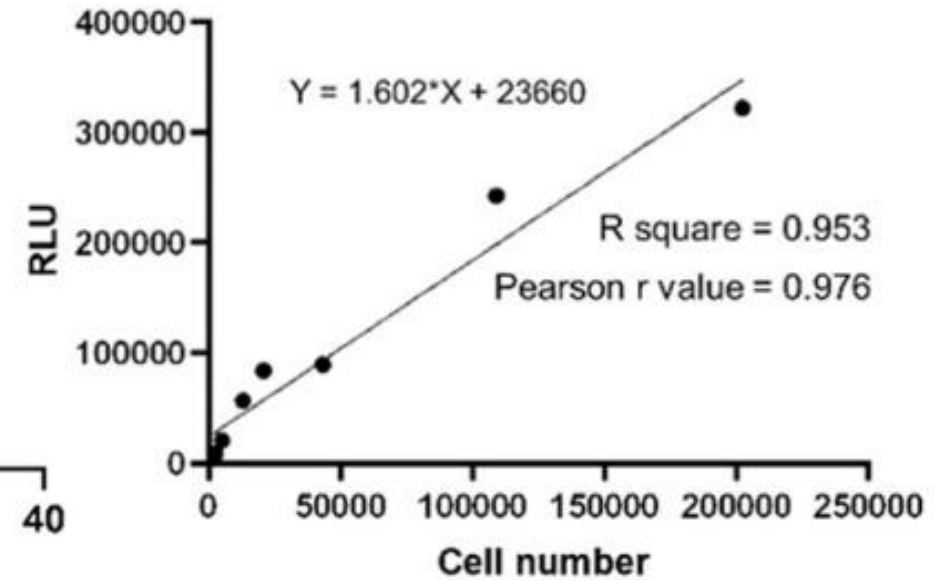
ClinoStar2[®] Application

B



C

Correlation: Cell proliferation parameters

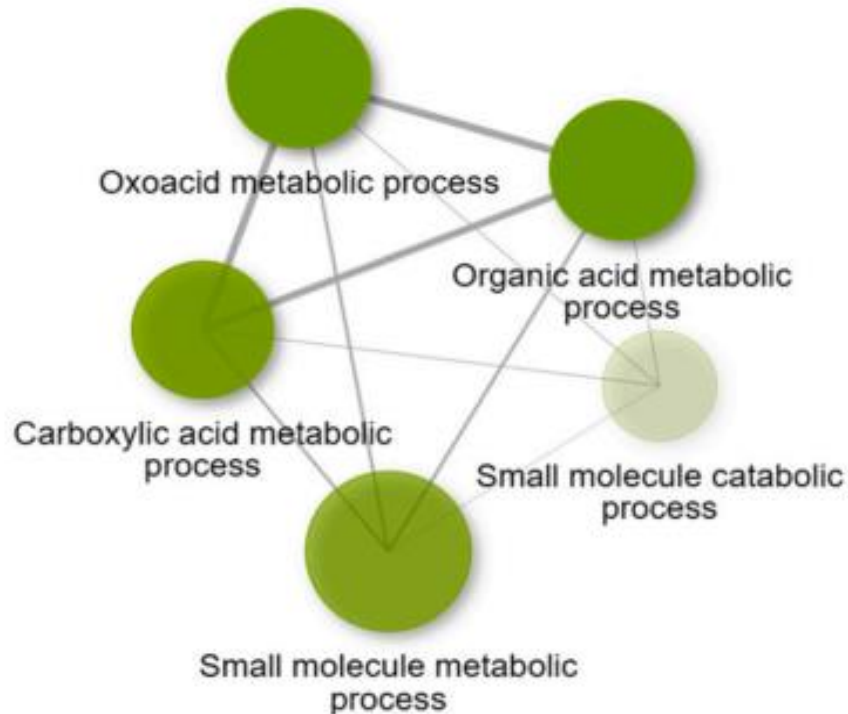


RLU: 相對的發光量

Chanhee Kim, et al., Toxicology Letters 401 (2024) 125–138

ClinoStar2[®] Application

Enriched biological pathways (GO) in days of 3D spheroid culture



1,284 common
up-regulated genes



Metabolism-related pathways are
enriched in HepG2/C3A spheroid
culture compared to 2D culture

Chanhee Kim, et al., Toxicology Letters 401 (2024) 125–138

ClinoStar2[®] Application

- スフェロイド内で成長するHepG2/C3Aの表現型特性は、約12日目（10～14日目）まではモノレイヤーでの成長と同等だったが、細胞倍加率が著しく低下したのはこの期間であり、この期間中に細胞増殖と細胞周期経路のダウンレギュレーションが一致した。
- トランスクリプトームデータの主成分分析では、3日目、7日目、10日目のスフェロイドが14日目、21日目、28日目のスフェロイドと顕著に異なることが示唆され、長期3Dスフェロイド培養中の生物学的転換点が支持された。
- 毒物代謝と輸送に関与する細胞成分をコードする遺伝子の発現は、モノレイヤー培養と比較してスフェロイドの初期段階で急速に増加し、7日目または10日目にピークに達し、その後の培養で徐々に減少した。

これにより、曝露研究に最も適した代謝応答の時間枠が示唆された。

- ✓ 特に細胞の倍加データと薬物代謝酵素の遺伝子発現動態を組み合わせた結果は、HepG2/C3Aで増殖ベースの3DスフェロイドCRISPRスクリーンを行う際、3日目から10日目までの期間が適切な曝露期間である
- ✓ HepG2/C3Aスフェロイドが、CeVivoバイオリアクターシステムを使用して、35日間（5週間）にわたり正常に生成および培養が出来た
- ✓ 特に細胞成長および代謝能力（薬物代謝酵素をコードする遺伝子の発現）に焦点を当て、解析が可能となった

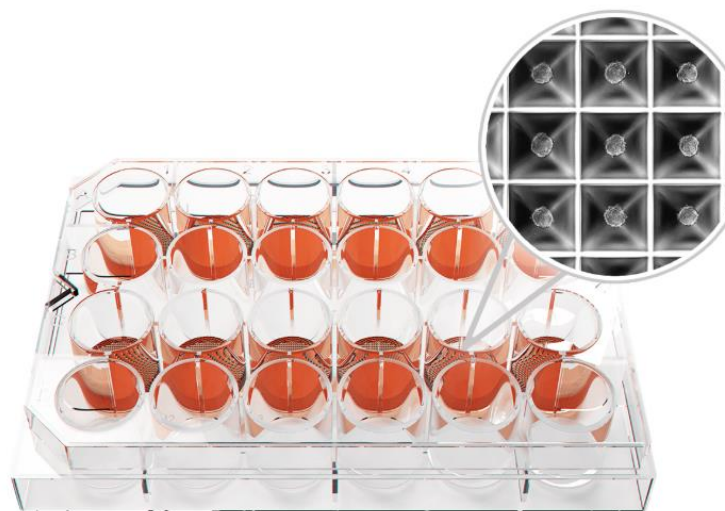
Chanhee Kim, et al., Toxicology Letters 401 (2024) 125–138

Sphericalplate 5 D

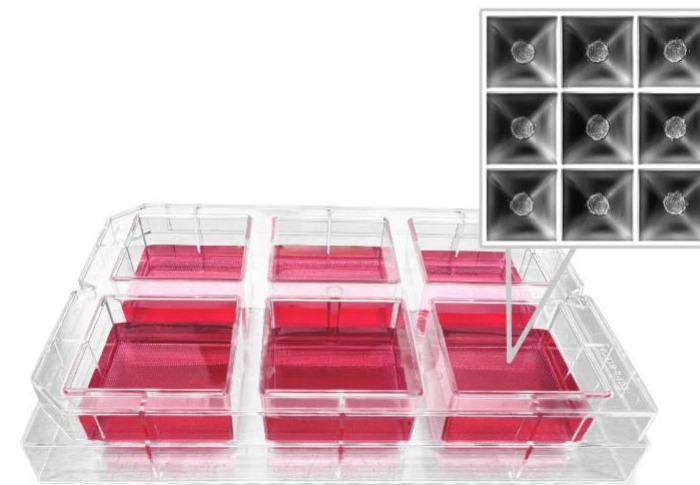
均一性に優れたスフェロイド/オルガノイドの大量作製が可能なプレート



96 ウェルストリップタイプ
2400個のスフェロイド/plate



24 ウェルタイプ
9000個のスフェロイド/plate

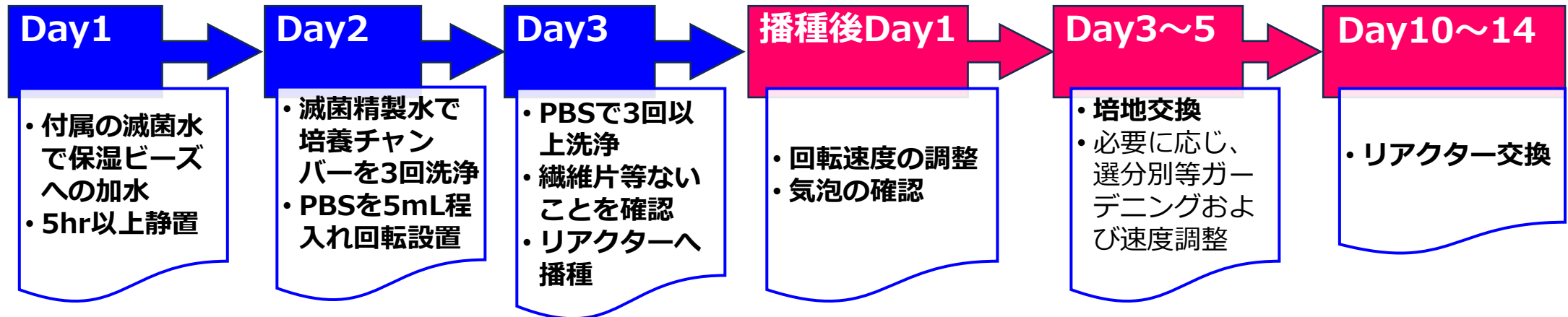


6 ウェルタイプ
20,184個のスフェロイド/plate
*受注文ごとのお取り寄せ

3次元培養の流れ



【3D培養プレートからClinoStar2®導入のフロー】



3次元培養の流れ

iPS細胞

[Demo] Cultivation of human induced pluripotent stem cells using ClinoReactor and ClinoStar.

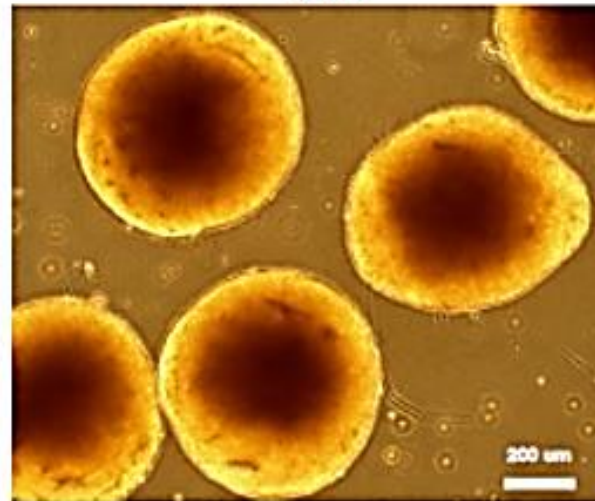
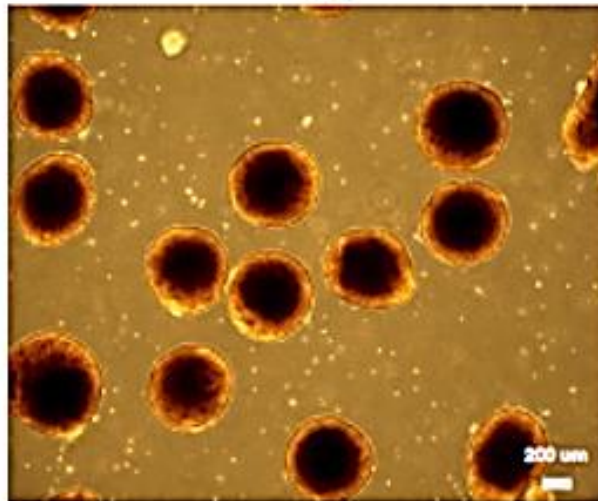
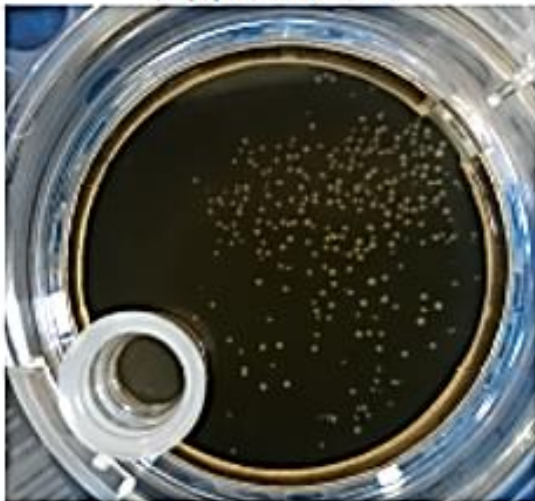
Day7

SP5D

Appearance

x4

x10





MITO KOGYO
Supplier of industrial products

メディカルラボ機器事業グループ

<https://mitokogyo-medlab.com/>



最適な再生医療 & 創薬の研究・開発を全力でサポート

✉ med_lab@mitokogyo.co.jp



質量密度 測定・分取装置
W8 Physical cytometer



3次元培養プレート



SPHERICAL PLATE 5D



高速微量分注装置
I.DOT



3D 回転浮遊培養装置
ClinoStar



マイクロバイオリアクター
C.NEST



マイクロプレートウォッシャー
C.WASH



シングルセル分注装置
UP.SIGHT

最適な再生医療 & 創薬の研究・開発を全力でサポート



メディカルラボ機器事業グループ

✉ med_lab@mitokogyo.co.jp

☎ 03-3252-1230



展示ブース **B129**



ご清聴ありがとうございました

