

<https://doi.org/10.3390/nu12030721>

Prunellae Spica Extract Suppresses Teratoma Formation of Pluripotent Stem Cells through p53-Mediated Apoptosis

Aeyung Kim, Seo-Young Lee, Chang-Seob Seo, Sun-Ku Chung

아래 내용은 다카라코리아에서 직접 번역한 내용으로, 해석하는 과정에서 원작자의 의도와 상이한 내용이 포함되어 있을 수 있습니다. 학술 정보를 목적으로 하는 경우 원문을 참고하여 주시기를 바랍니다.

Abstract 미리보기

Induced pluripotent stem cells (iPSCs)는 무한한 self-renewal과 분화 능력 등 배아줄기세포와 유사한 특성을 보인다. *In-vitro* 상에서 분화된 iPSCs는 undifferentiated iPSCs (USCs)가 세포치료제 내에 존재할 수 있고, *in-vivo*로 이식 후 teratoma를 형성할 수 있다. 따라서 남아있는 USC를 선택적으로 제거하는 것이 매우 중요하다. Prunellae Spica (PS)는 전통 약용식물로, 항암, 항산화제, 항염 작용을 하는 것으로 알려져 있지만, iPSC에서의 작용은 연구된 바 없었다. 본 연구에서는 에탄올로 추출한 PS (Extract of PS, EPS)가 G2/M 세포 주기 정지, 세포 내 활성 산소 생성, 미토콘드리아 막 전위 변경 및 USC의 caspase 활성화를 통해 USC의 세포 사멸 (apoptotic cell death)을 효과적으로 유도한다는 것을 확인하였다. 또한, EPS는 p53 축적과 downstream 유전자 발현을 증가시켰으나, p53 knockout (KO) USC에서는 EPS가 세포 사멸을 유도하지 않았으며, 이로써 EPS로 인한 USC 사멸은 p53-dependent함을 확인하였다. 게다가, iPSCs 유래 분화 세포에서 EPS는 유전 독성을 유발하지 않았다. Injection 전 EPS를 처리했을 때, p53 WT의 iPSC에서는 ovo teratoma 형성을 효과적으로 방지하였으나, p53 KO iPSC에서는 방지하지 못했다. 이를 종합했을 때, 본 연구 결과는 EPS는 teratoma 형성을 강하게 억제하는 활성을 가지고, 분화된 세포에서는 유전 독성을 나타내지 않았으므로, 안전하고 효율적인 iPSC 기반의 세포 치료제 개발에 활용될 수 있을 것으로 보인다.

Takara 제품을 이용한 method 미리보기

p53 WT hiPSC, p53 KO hiPSC를 definitive endoderm (DE)을 거쳐 hepatocyte로 분화 유도하여 실험을 진행하였다. 각 hiPSC는 [Cellartis® DE Differentiation Kit with DEF-CS Culture System \(Code Y30035\)](#)를 이용해 definitive endoderm으로 분화하였다. DE로 분화를 유도하기 전, 각 hiPSC는 Cellartis® DEF-CS Culture System을 이용해 5 차례의 계대로 확대 배양하였다. DE로의 분화 7일차에 각 세포를 TrypLE™ Select 효소로 detach한 후, [Cellartis® iPS Cell to Hepatocyte Differentiation System \(Code Y30055\)](#)를 이용해 hepatocyte로 분화 유도하였다. 분화 9, 11일차에는 hepatocyte progenitor medium으로 배지를 교체하였으며, 분화 14, 16일차에는 hepatocyte maturation medium으로 배지를 교체하였다. 분화 18일차부터는 2일마다 hepatocyte maintenance medium으로 배지를 교체하였다. 분화된 세포는 hepatocyte marker인 CYP34A, alpha-fetoprotein (AFP), albumin 발현이 증가하였고, Oct4 발현이 감소하였다.

논문에서 사용된 Takara 관련 제품 알아보기

[Cellartis® iPS Cell to Hepatocyte Differentiation System \(Code Y30055\)](#)

- hiPSC의 definitive endoderm (DE) 분화 후, DE의 hepatocyte 분화 유도하는 전 과정 지원
- 25개 hiPS 세포주에서 적용성이 확인되었으며, 하나의 프로토콜로 다양한 hiPS 세포주에 적용 가능
- 90% 이상의 효율로 기능적인 간세포 분화 및 장기 배양 (분화 후 14일 이상) 가능
- 활용 예: 다양한 유전적 정보를 가지는 질병 모델 연구, 특정 질환/환자를 위한 맞춤 의학 상용화

An antibody against L1 cell adhesion molecule inhibits cardiotoxicity by regulating persistent DNA damage

Jae-Kyung Nam, A-Ram Kim, Seo-Hyun Choi, Ji-Hee Kim, Kyu Jin Choi, Seulki Cho, Jae Won Lee, Hyun-Jai Cho, Yoo-Wook Kwon, Jaeho Cho, Kwang Seok Kim, Joon Kim, Hae-June Lee, Tae Sup Lee, Sangwoo Bae, Hyo Jeong Hong & Yoon-Jin Lee

아래 내용은 다카라코리아에서 직접 번역한 내용으로, 해석하는 과정에서 원작자의 의도와 상이한 내용이 포함되어 있을 수 있습니다. 학술 정보를 목적으로 하는 경우 원문을 참고하여 주시기를 바랍니다.

Abstract 미리보기

흉부 방사선 조사와 doxorubicin (Dox)로 인해 유발되는 심장 독성 기전에 대한 연구는 항암 치료로 인한 심장독성의 발병률과 사망률을 감소시킬 수 있다. 본 연구에서 방사선 조사 및 Dox 치료로 인해 DNA가 손상된 심혈관 내피세포 (vascular endothelial cells, ECs)에서는 L1CAM과 DNA가 손상된 foci와의 colocalization하는 것과 연관된 fibrotic phenotype (endothelial-mesenchymal transition, EndMT)를 보인다는 것을 확인하였다. 본 논문의 저자들은 anti-L1CAM 항체인 Ab417을 처리하면, L1CAM 과발현, 핵의 전위, 지속적으로 DNA가 손상된 foci를 감소시킨다는 것을 증명하였다. 또한, 심장 전체에 방사선이 조사된 mouse에서 EC-specific p53의 결실은 혈관 섬유증, L1CAM과 DNA 손상 foci의 colocalization을 증가시키는 반면, Ab417은 이러한 영향을 감소시킨다는 것을 확인하였다. 이와 함께, Ab417이 fractional shortening 감소와 관련된 심장 기능 장애를 예방하고, 방사선 조사와 Dox 치료 이후의 생존을 연장한다는 것을 입증하였다. 심근병증 환자로부터 유래한 DNA가 손상된 심혈관 내피 세포에서는 L1CAM과 EndMT가 upregulation 되므로, 이를 통해 Ab417의 임상 적용에 대한 가능성을 보여준다. 결론적으로, nuclear L1CAM의 전위를 억제하여 심혈관 DNA가 손상되는 것을 조절하는 것이 항암 치료로 인한 심장 독성에 대한 효과적인 예방법이 될 수 있음을 확인하였다.

Takara 제품을 이용한 method 미리보기

hiPSC 유래 심근세포와 함께 내피세포 (방사선 조사된 군, 방사선이 조사되지 않은 군)를 배양하여, 방사선 조사된 내피세포와 endothelial L1CAM이 심근 세포 손상에 영향을 미칠 수 있는지 확인하고자 했다. hiPSC 유래 심근세포는 [MiraCell® Cardiomyocytes v2 \(from ChiPSC12\) Kit \(Code Y50025\)](#)를 사용했으며, 제조사의 프로토콜에 따라 50 µg/ml 농도의 fibronectin 코팅 플레이트에서 배양하였다. HUVEC 세포주는 control 혹은 L1CAM을 타겟으로 하는 siRNA를 transfection 하였다. Seeding 48시간 후, 각 군의 HUVEC 세포는 35 mm confocal dish에서 hiPSC 유래 심근세포 (4 x 10⁵ cells/dish)와 함께 5일 간 배양하였으며, seeding 비율은 80:1이었다 (HUVEC : hiPSC 유래 심근세포 = 80 : 1). 세포는 37°C, 5% CO₂의 조건에서 배양 되었으며, hiPSC 유래 심근세포는 전용 배지인 [MiraCell® CM Culture Medium v2 \(Code Y50023\)](#)를 이용하였다. 매 2일마다 배지를 교환하고, hiPSC 유래 심근세포의 박동은 1분 간 현미경을 통해 관찰 및 측정하였다.

논문에서 사용된 Takara 관련 제품 알아보기

[MiraCell® Cardiomyocytes v2 \(from ChiPSC12\) Kit \(Code Y50025\)](#)

- 항생제를 이용한 선별 과정 없이, 95% 이상의 고순도로 분화된 hiPSC 유래 심근세포
- 다양한 심근세포 기능 확인
 - : 자율 박동 능력, 이온 통로 유전자 발현, 이온 통로 차단제에 대한 전기 생리학적 반응성 보유
- 90일간 순도 저하 없이 장기 배양 테스트 완료

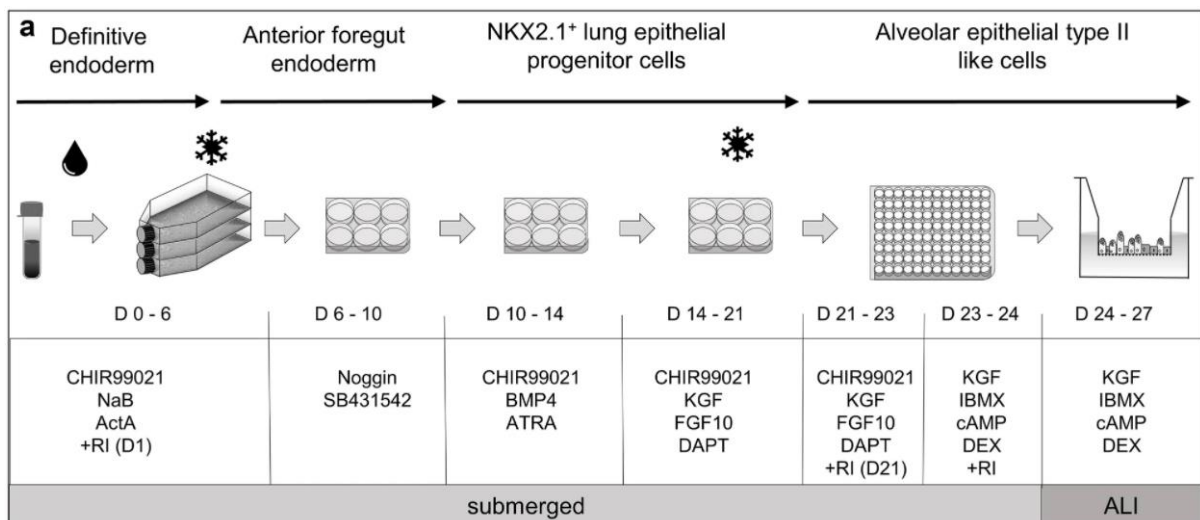
Functional human iPSC-derived alveolar-like cells cultured in a miniaturized 96-Transwell air-liquid interface model

Teresa Bluhmki, Stefanie Traub, Ann-Kathrin Müller, Sarah Bitzer, Eva Schruf, Marie-Therese Bammert, Marcel Leist, Florian Gantner, James P Garnett & Ralf Heilker

아래 내용은 다카라코리아에서 직접 번역한 내용으로, 해석하는 과정에서 원작자의 의도와 상이한 내용이 포함되어 있을 수 있습니다. 학술 정보를 목적으로 하는 경우 원문을 참고하여 주시기를 바랍니다.

Abstract 미리보기

Human induced pluripotent stem cell (hiPSC)에서 분화된 alveolar-like cell은 공급이 한정적이며 donor variability를 갖는 human primary alveolar cell의 한계 없이, 호흡기 질환 모델과 신약 개발 과정을 위한 유망한 도구로 활용될 수 있다. 본 논문에서는 96-Transwell microplate 시스템에서의 hiPSC 유래 alveolar-like cell을 배양하는 air-liquid interface (ALI) 배양법을 소개한다. hiPSC로부터 lung epithelial progenitor cell (LPCs)로 최종 분화된 세포는 monolayer와 같은 형태를 보이며, 기능적으로 성숙한 alveolar type 2 (AT2)와 같은 상피 세포로 유도되었다. 생리학적 ALI 조건에서 배양된 AT2-like cell은 전형적으로 보이는 alveolar surfactant 단백질 발현과 lamellar-body와 같은 구조를 형성하는 등의 특징을 보였다. AT2-like cell 간 형성된 epithelial barrier의 완성도는 custom으로 제작된 96-parallelized transepithelial electric resistance (TEER) 측정 기기를 통해 확인되었다. *In vitro*에서 IPF 질병과 유사한 표현형을 나타내기 위해, IPF 환자의 alveolar 조직으로부터 얻은 cytokine과 growth factor를 이용해 기능적 AT2-like cell을 자극하였다. Cytokine은 pro-fibrotic biomarker의 mRNA 레벨과 단백질 레벨 모두에서 분비 되도록 자극하였다. 따라서, hiPSC 유래의 세포 모델 시스템은 특정한 IPF의 특징을 잘 재현할 수 있음과 동시에, 신약 개발을 위한 miniaturized medium throughput의 방식을 지원할 수 있다.



논문에서 사용된 Takara 관련 제품 알아보기

다양한 유래의 [Cellartis® human iPS cell line 7/12/18/22 Kit \(Code Y00275/Y00285/Y00305/Y00325\)](#)
[Cellartis® DEF-CS 500 Culture System \(Code Y30010\)](#)

- All-in-one system의 hPSC (hESC, hiPSC) 배양 배지
: 배양 배지, Additives, Coating Reagent 포함
- Feeder-free, serum-free 배양으로, 동물 유래 성분 혼입 최소화
- Monolayer 배양을 통한 균일한 세포 상태 유지 및 자연 분화 최소화

Analysis of the behavior of 2D monolayers and 3D spheroid human pancreatic beta cells derived from induced pluripotent stem cells in a microfluidic environment

Amal Essaouiba, Rachid Jellali, Marie Shinohara, Benedikt Scheidecker, Cécile Legallais, Yasuyuki Sakai, Eric Leclerc

아래 내용은 다카라코리아에서 직접 번역한 내용으로, 해석하는 과정에서 원작자의 의도와 상이한 내용이 포함되어 있을 수 있습니다. 학술 정보를 목적으로 하는 경우 원문을 참고하여 주시기를 바랍니다.

Abstract 미리보기

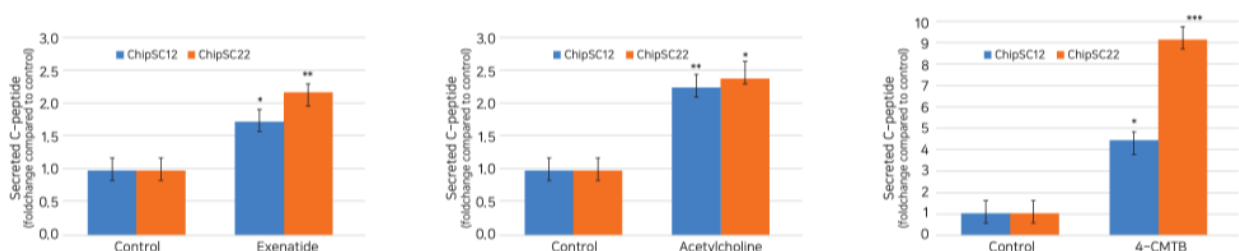
Primary human β -cells/islet은 한정적인 적응성과 donor diversity로 인한 발현 차이가 있어 당뇨병 연구를 위한 *in vitro* 모델로는 한계가 있다. Human induced pluripotent stem cell (hiPSC)는 당뇨병 연구, 항 당뇨병 약물 스크리닝 및 개인별 맞춤 치료제를 위한 유망한 세포 공급원으로 주목 받고 있지만, *in vivo*의 maturity와 기능을 재현하기는 아직 어려움이 있다. 본 논문은 hiPSC 유래 β -cells을 microfluidic biochip에서 배양하는 2가지 방법을 비교 분석하였다. 첫 번째는 기존에 많이 활용되고 있는 petri-dish에서 2D, monolayer 배양 방식을 이용하였고, 이 방식으로 배양된 세포는 인슐린, PDX1, MAFA positive staining, C-Peptide 생산, 농도 별 포도당 (glucose)과 GLP1 노출에 특이적으로 반응함을 확인하였다. 하지만, 첫 번째 방식으로 배양된 세포는 배양 조건 (extracellular matrix coating, 세포 접착 시간, cell inoculation density, flow rate)의 변경 및 2D biochip로의 적용이 어려웠다. 두 번째는 honeycomb static culture를 통해 3D spheroid로 세포를 배양하였다. 총 14일간 배양된 spheroid는 2D 세포보다 더 높은 수준의 β -cells marker (*INS* mRNA)와 α -cell marker (*GCG* mRNA, glucagon positive staining) 발현을 보였으며, 농도 별 포도당, GLP1 노출에서 모두 인슐린을 특이적으로 분비하였다. 이 spheroid는 3D biochip에서 10일간 성공적으로 배양되었으며, *GCG*의 mRNA 발현이 증가했을 뿐 아니라 β -cells marker의 고발현과 농도 별 포도당, GLP1 노출에 대한 반응을 잘 유지하였다. 게다가, C-Peptide와 인슐린의 분비는 static culture로 배양된 spheroid보다 3D biochip에서 배양했을 때 더 높게 관찰되었다. 이 결과는 hiPSC 유래 β -cells과 biochip에서 배양한 spheroid가 췌장 질환 및 당뇨병의 모델과 항당뇨병 약물 스크리닝에 유망함을 보여주었다.

논문에서 사용된 Takara 관련 제품 알아보기

[Cellartis® hiPS Beta Cells \(from ChiPSC12\) Kit \(Code Y10100\)](#) --- 정상유전자

[Cellartis® hiPS Beta Cells \(from ChiPSC22\) Kit \(Code Y10106\)](#) --- 당뇨병 취약 대립유전자 HLA-A*0201 보유

- hiPSC로부터 분화된 췌장 β 세포 (hiPSC \rightarrow definitive endoderm \rightarrow pancreatic endoderm \rightarrow endocrine progenitor \rightarrow β cell)
- 성숙한 췌장 β 세포 마커 발현: Insulin, C-peptide, MAFA, UCN3, NKX6.1, PDX1 등
- Glucose나 incretin 의존적인 인슐린 분비 능력 보유
- 활용 예: 췌장 β 세포 기능 해석, 당뇨병/질병모델, 인슐린 분비와 조절에 관여하는 물질 screening
- 신약 개발 모델로의 활용 예 - GPCR 조절 약물 개발
: 대립 유전 형질의 차이에 따른 GPCR 조절 약물 (Exenatide, Acetylcholine, 4-CMTB) 반응성 차이



L Takara 제품을 이용한 method 미리보기

- Cell source

ChiPSC12로부터 분화된 stage 1의 췌장 β 세포를 다카라바이오(주)로부터 제공 받았다. hiPSC 유래 β -cells 은 제조사가 제공하는 Cellartis® hiPS Beta Cell Media Kit (Code Y10108)로 배양해 인슐린을 생산하는 세포로 분화시켰다.

- 2D Petri pancreatic β -cell culture protocol

Cellartis® Beta Cell Coating (Code Y10103)을 이용해 24 well plate를 코팅한 후, 37 °C에서 보관하였다. 1시간 후 코팅 용액을 제거하고, 500 μ l의 배양 배지 (Cellartis® Beta Cell Basal Medium; Code Y10104), Cellartis® Beta Cell Basal Medium; Code Y10105)를 각 well에 분주했다. 각 세포는 2×10^5 cells/cm²의 density로 seeding되었으며, 5% CO₂, 37 °C 조건에서 배양되었다. 배양 배지는 총 12일 간 매일 교체하였으며, 배양 12일 차부터 15일 차에는 assay용 배양 배지 (Cellartis® Beta Cell Supplement; Code Y10102), Cellartis® Beta Cell Basal Medium; Code Y10105)로 교체하였다.

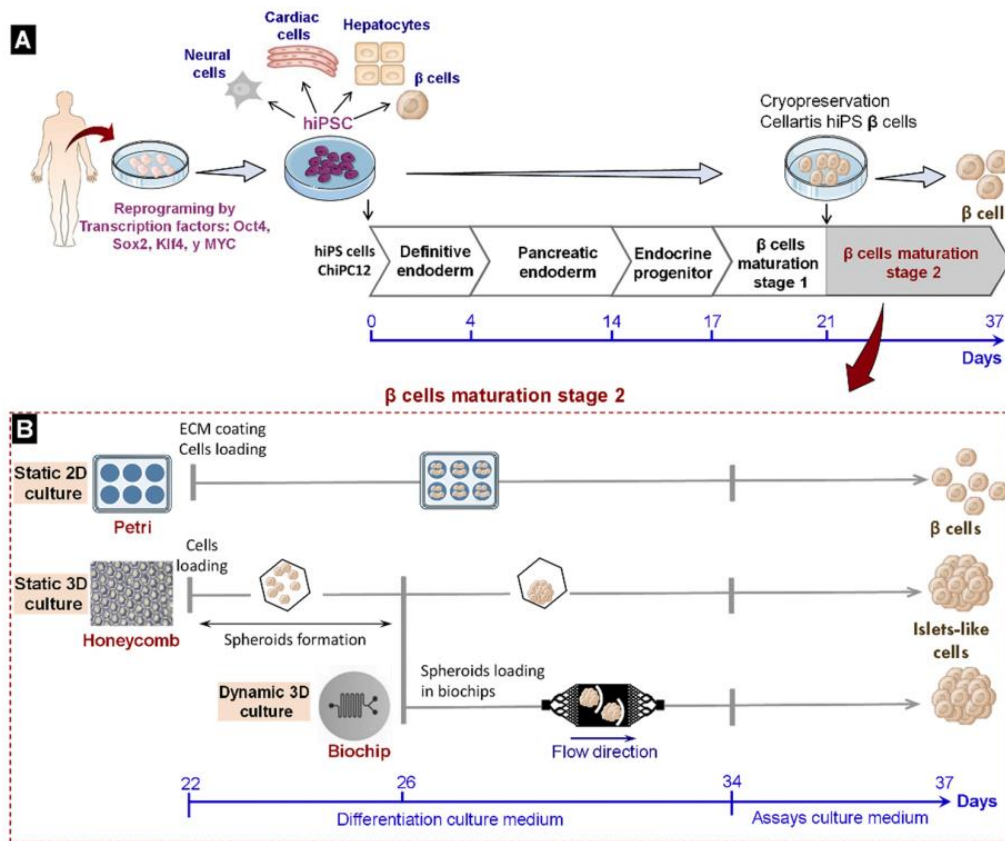


Fig. 1. (A) Schematic of differentiation process from hiPSC to beta cells; (B) experimental procedures used for stage 2 of β -cells maturation.