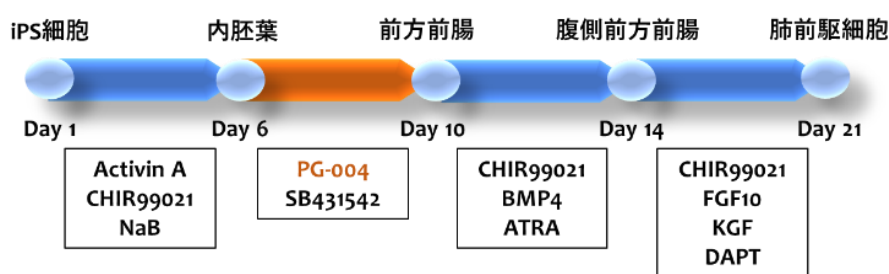


# Application Note: Noggin-likeペプチド

## <ヒトiPS細胞からの肺前駆細胞の誘導および肺泡オルガノイドの形成>

**背景**：ペプチグロース社では、Bone morphogenetic protein (BMP) のアンタゴニストとして知られるNogginと同等の活性を有するNoggin-likeペプチド（製品コード：PG-004）を創製し、2022年6月に販売を開始しました。本製品を使用したヒトiPS細胞からの肺前駆細胞の誘導、さらにその細胞による肺泡オルガノイドの形成を確認しました。

**概要**：ヒトiPS細胞から肺前駆細胞を分化誘導する工程のうちNogginを使用する前方前腸の誘導工程において、Nogginの代替としてPG-004を使用し、前方前腸およびその後誘導される腹側前方前腸細胞および肺前駆細胞の分化誘導効率を比較しました。その結果、PG-004では濃度依存的に各細胞の誘導効率の上昇が見られ、特に腹側前方前腸および肺前駆細胞の誘導効率においてNogginと同等の結果が得られました。更に、PG-004を用いた分化誘導工程を経て作成された肺前駆細胞を用いて肺泡オルガノイドの形成も確認しました。

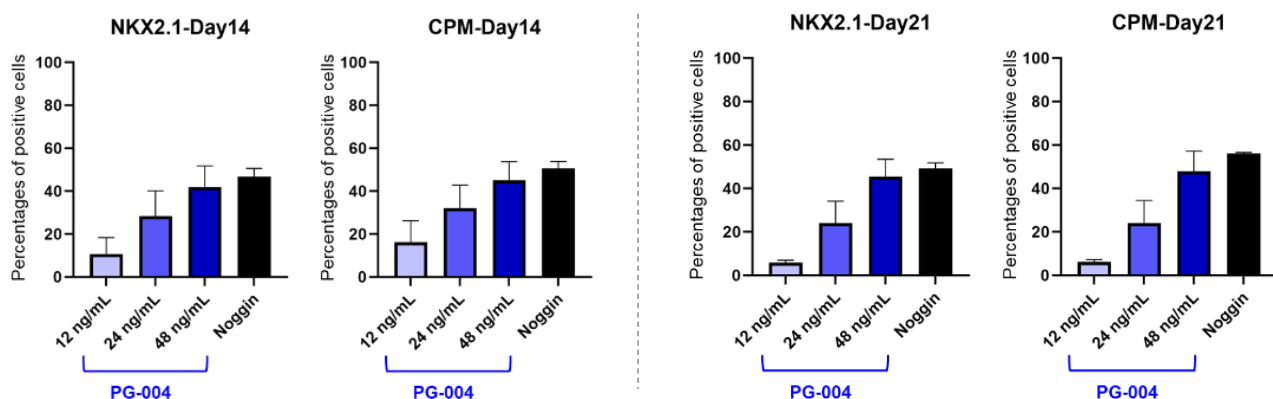


No.	添加因子	濃度 (ng/mL)
1	Noggin	100
2		12
3	PG-004	24
4		48

### 未分化iPS細胞からの肺前駆細胞までの段階的誘導プロセスと添加因子(上表)

ヒトiPS細胞 (HILC01株)を市販培地(mTeSR Plus-cGMP)にて未分化維持および増殖させた後、回収した未分化iPS細胞を用いて段階的な分化誘導を実施。(参考文献：Nature Methods. 2017, 14(11): 1097-1106)

- ① Activin A、CHIR99021および酪酸ナトリウム(NaB)添加培地による6日間処理にて、内胚葉細胞を分化誘導
- ② SB431542および上表に示す添加因子を各濃度で添加した培地による4日間処理にて、前方前腸細胞を分化誘導
- ③ CHIR99021、BMP4およびレチノイン酸(ATRA)添加培地による4日間処理にて、腹側前方前腸細胞を分化誘導
- ④ CHIR99021、FGF10、KGFおよびDAPT(γ-セクターゼ阻害剤)添加培地による7日間処理にて肺前駆細胞を分化誘導



### 腹側前方前腸細胞の誘導効率 [Day 14] (左上図) と肺前駆細胞の誘導効率 [Day 21] (右上図)

分化マーカーであるNKX2.1 (Homeobox protein Nkx-2.1、肺の初期転写因子)とCPM (Carboxypeptidase M) に対する各特異抗体によるフローサイトメトリー解析を実施し、全細胞中の陽性細胞率 (%)を示した。腹側前方前腸、およびその後分化誘導された肺前駆細胞のいずれにおいても、NKX2.1およびCPM陽性細胞率はPG-004処理による濃度依的な上昇を認め、48 ng/mL処理群ではNoggin(処理濃度100 ng/mL)と同等の結果が得られた (各グラフは3回の独立した実験における平均値と標準誤差を示す) [次頁に続く]。

(データ提供：HiLung 株式会社)





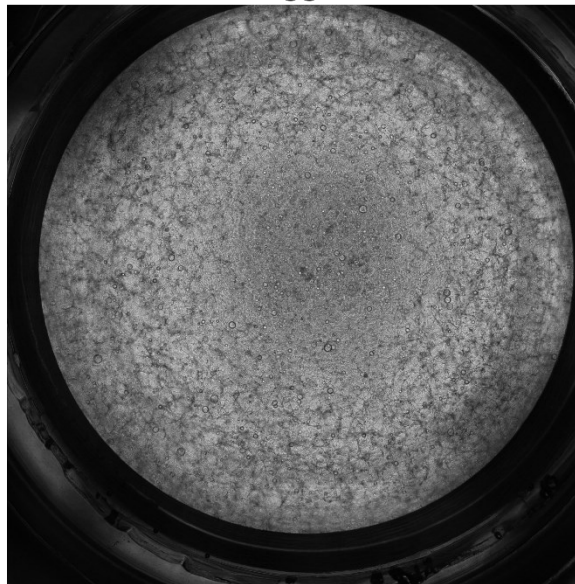
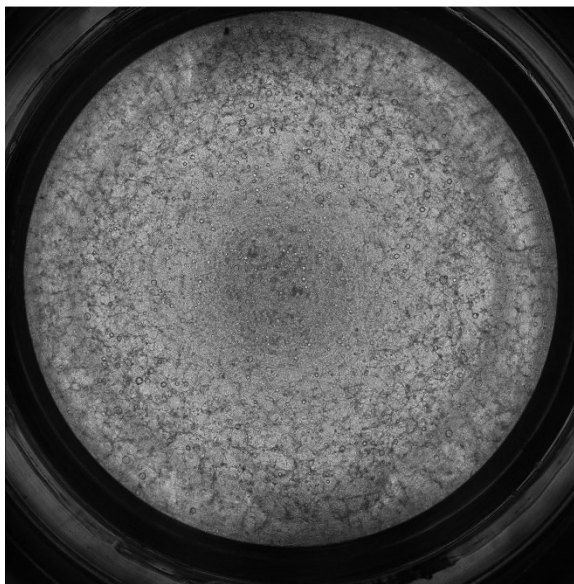
# Application Note: Noggin-likeペプチド

<Noggin-likeペプチドにより誘導された肺前駆細胞を用いた肺泡オルガノイド形成>

PG-004

Noggin

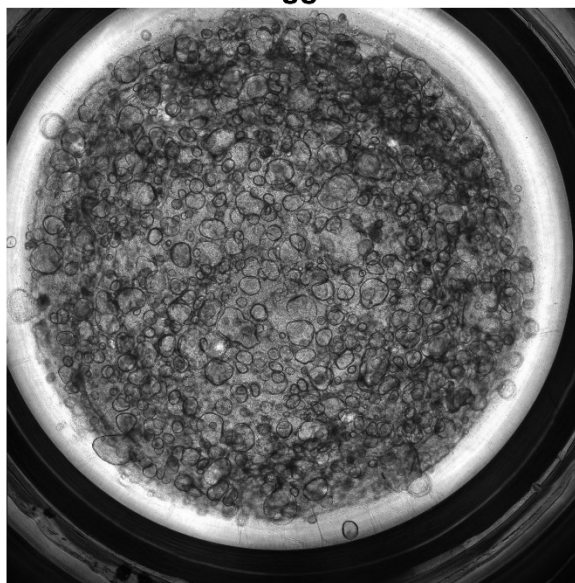
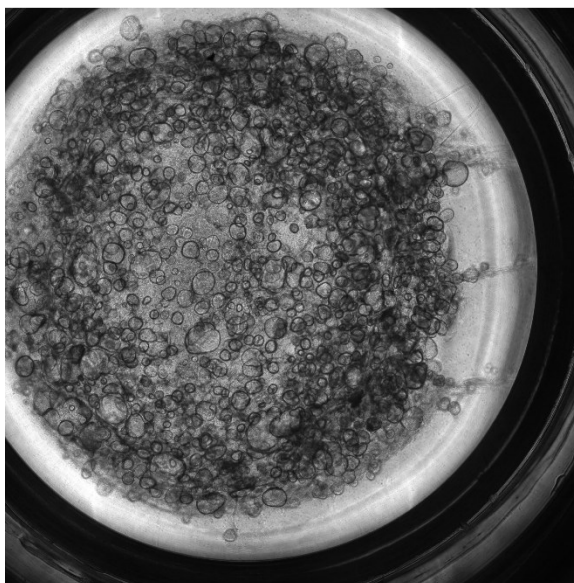
Day 6



PG-004

Noggin

Day 14



**iPS細胞から分化誘導した肺前駆細胞により形成された肺泡オルガノイド (Day 6; 上画像: Day 14; 下画像)**

前頁に記載した要領にて、PG-004を48 ng/mL濃度で使用して前腸前方細胞から最終的に肺前駆細胞まで分化させ、特異的表面抗原CPMを用いて単離精製した肺前駆細胞から肺泡オルガノイドを形成した。その形状等は組換え体Nogginの使用下に誘導された肺前駆細胞由来のものとは同等であった。

(データ提供: HiLung 株式会社)

