再生医療

再生医療や創薬研究を支援する 高純度分化細胞選択法の開発

医学医療系 准教授

再生医療や創薬研究に有用な、高純度な分化細胞を単離するために、 目的分化細胞特異的なmiRNAの機能を利用することによって、我々独自 の自動除去型SeVdpベクターシステムを用いた細胞選択方法を開発。

背景

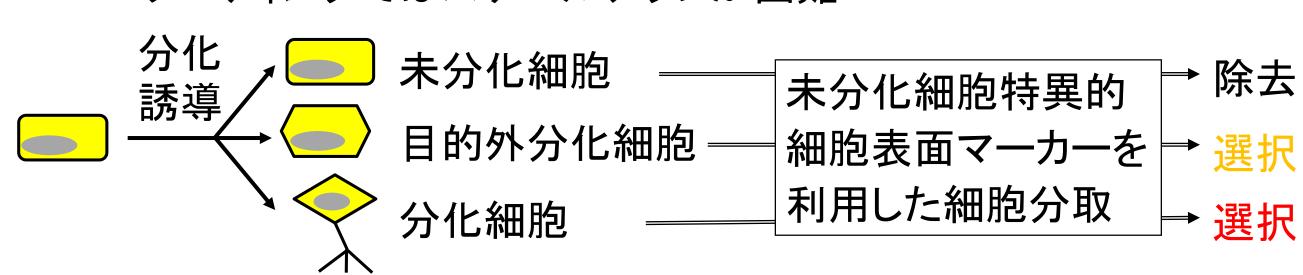
iPS細胞等から分化誘導した細胞の再生医療や創薬研究への実用化の課題

- •iPS細胞誘導や維持培養において多能性が低い幹細胞が混入
- 多能性が低い幹細胞は分化能が劣る
- ・残存未分化細胞等の混入は腫瘍形成のリスクや薬物試験への影響有り

従来法の問題点

未分化細胞特異的マーカーを用いた細胞分取方法等が開発されている

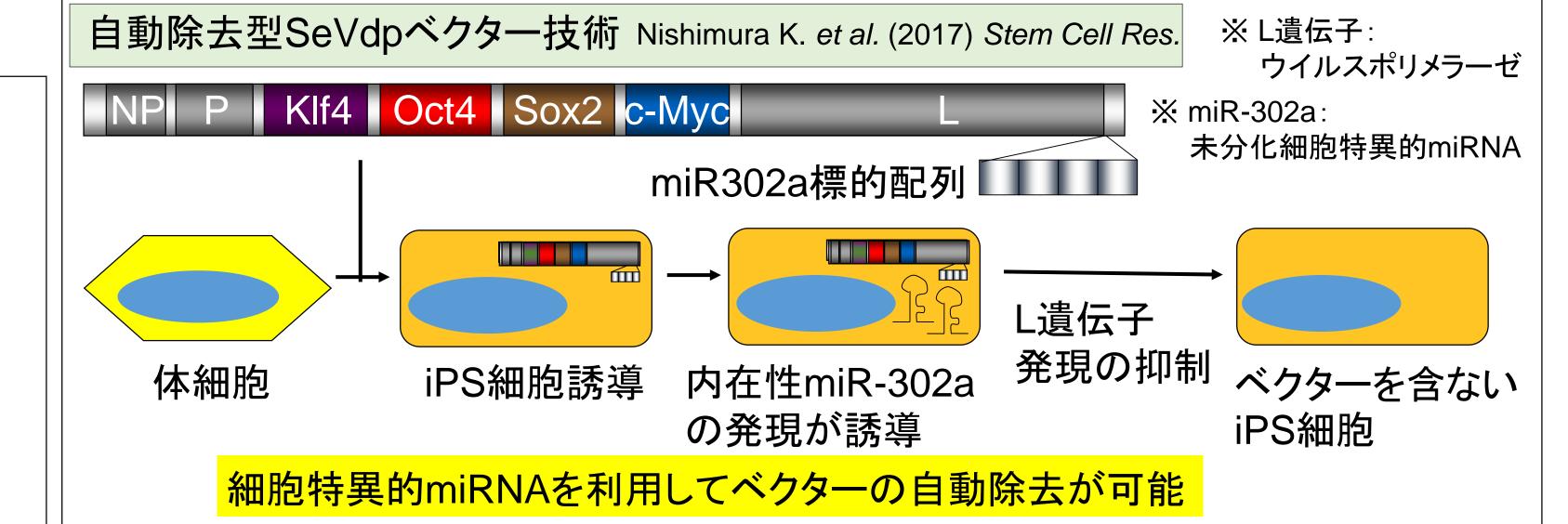
問題点 目的外の細胞に分化したものを取り除けない ソーティングではスケールアップが困難



問題解決のための技術

持続型センダイウイルスベクター(SeVdpベクター) Nishimura K. et al. (2011) J. Biol. Chem.

- ■一度感染させるのみで、複数の遺伝子を持続的に発現可能
- ・染色体へのベクターゲノムの挿入が起きないため、安全性が高い
- ・L遺伝子の発現抑制により、持続感染しているベクターの人為的除去可能

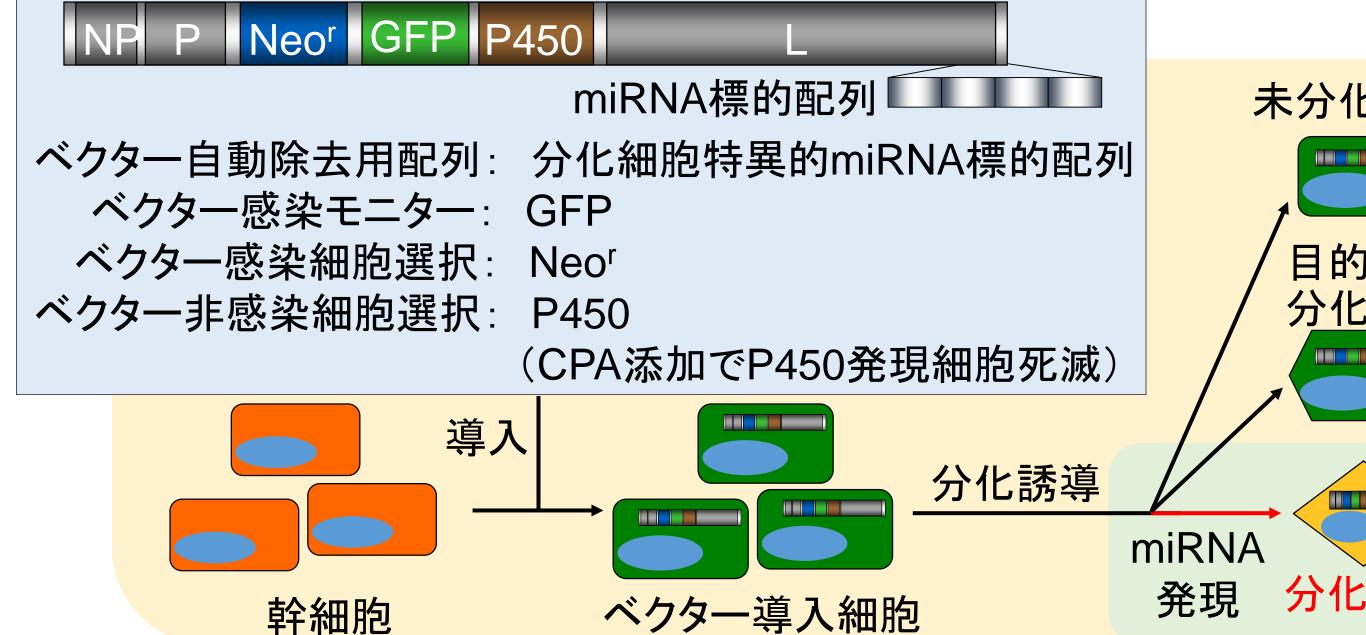


目的

持続感染しつつ細胞特異的に 自動除去できる、我々の自動除 去型SeVdpベクターシステムを 生かし、高純度な分化細胞を容 易に分取する方法を確立する

安全な分化細胞を再生医療、 創薬研究に提供

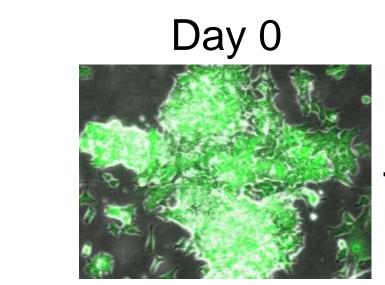
方法



未分化細胞 P 未分化細胞、 目的外 目的外分化 分化細胞 細胞は死滅 胞 目的分化 細胞の単離 発現 自動的なベクターの除去

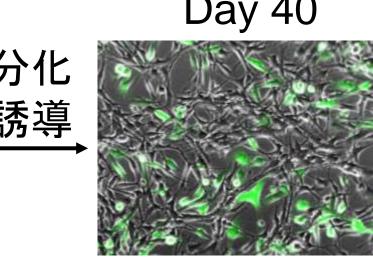
結果

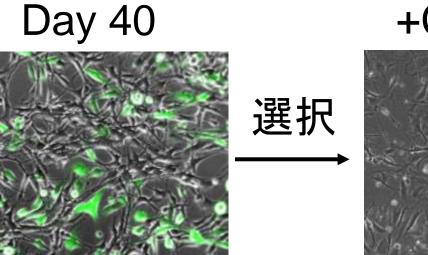
iPS細胞から神経幹細胞を誘導する系をモデルにして、分化細胞選択系を構築

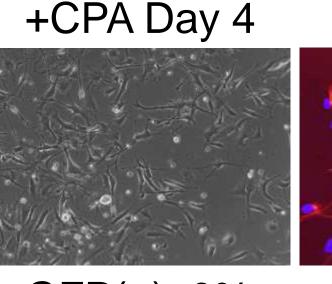


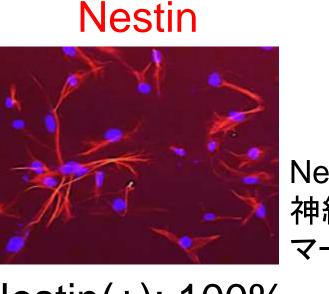
GFP(+): 100%

分化 誘導









Nestin: 神経幹細胞 マーカータンパク質

GFP(+): 25%

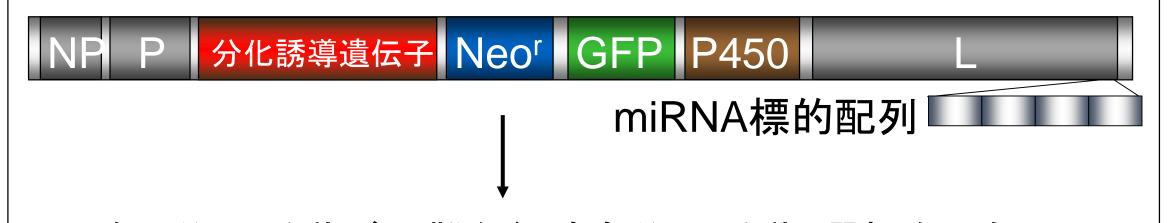
GFP(+): 0% Nestin(+): 100%

神経系細胞(神経細胞、アストロサイト等)へ分化 腫瘍原性 マウスの脳内等に移植しても腫瘍形成無し

神経幹細胞特異的miRNAを利用した自動除去型SeVdpベクターによって神経幹細胞の選択に成功

今後の展開

- ・miRNA標的配列を変えるのみで、あらゆる分化誘導に 応用可能
- 分化誘導遺伝子の追加搭載により、分化誘導効率の 向上と細胞選択を、一つのベクターを一度感染させる のみで可能に



現在、分化誘導が困難な細胞も分化誘導・選択を可能に

Advantages

- ・ベクターをすべての細胞に導入できるので、分化細胞のみを確実に選択
- ・薬剤添加のみで細胞を選択するので、安価でスケールアップが可能
- 選択されてきた細胞からはベクターが自動除去されているので、安全性が高い

連絡先 ①研究代表者:西村健 ken-nishimura@md.tsukuba.ac.jp ②産学連携:山本信行

③事務局:產学連携企画課 tlo@ilc.tsukuba.ac.jp