

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：多能性幹細胞から多種類の分化細胞を、最短時間、高効率、高品質、大量、自在に生産するための基盤技術開発と産業化応用
2. 研究開発代表者：洪 実（慶應義塾大学医学部）
3. 研究開発の成果：

遺伝子強制発現系を用いた転写因子遺伝子の機能予測マトリックス

本再生医療実現拠点ネットワークプログラムプロジェクト（以下本プロジェクト）のゴールは、ヒトの多能性幹細胞（ES, iPS 細胞）を、転写因子合成 mRNA カクテルによって望みの細胞に自在に分化させる系の開発が目標である。細胞の分化状態は、その細胞に特異的に発現する転写因子の遺伝子発現調節ネットワークの構造と動態により規定されており、単独、または複数の転写因子を細胞内に導入することで特定の細胞系譜への分化転換が可能である。しかしながら、どのような転写因子がその細胞のアイデンティティを決定しているのかは、過去に良く研究された限られた細胞でのみ解明されているだけで、多くの細胞（特にヒトの分化細胞）のアイデンティティを決定する転写因子は殆どブラックボックスの中であると言っても過言ではない。

本プロジェクトでは、我々の研究室で行われているヒト ES 細胞における転写因子のネットワーク構造とその動態を解析する大規模プロジェクト（JST/CREST 生命動態「動的遺伝子ネットワークの多次元構造解析による高精度な細胞分化制御技術の開発」）のデータを活用することで、遺伝子発現解析マトリックスよりヒト転写因子遺伝子の細胞分化誘導傾向を予測することで、ヒト多能性幹細胞から高効率に分化細胞を産生する技術を開発している。

転写因子修飾合成 mRNA 導入による多能性幹細胞分化誘導技術開発

本プロジェクトでは、CREST プロジェクトから同定されてくる細胞のアイデンティティを決定する転写因子遺伝子を、修飾合成 mRNA としてヒト多能性幹細胞に導入することで、目的の細胞に分化誘導する技術開発を行なっている。平成 27 年度は、転写因子合成修飾 mRNA を用いたヒト多能性幹細胞分化誘導系のモデル系として、①神経細胞及び②骨格筋細胞、③肝芽細胞への細胞分化系の開発を行なった。

A：運動神経細胞

数種類の転写因子遺伝子をヒト多能性幹細胞に導入することで、成熟した神経様細胞が形成されることを確認した。更に平成 27 年度の成果として、多能性幹細胞から分化誘導されたこれらの神経様細胞の生理学的な解析を行い、神経細胞としての機能を認めるかどうかについて慶應義塾大学医学部生理学講座 柚崎研究室との共同でパッチクランプ法を用いた電気生理学的解析や蛍光タンパクによる顕微蛍光測光法により、神経細胞であることが確認された。これらの転写因子セットは、運動神経分化誘導キットとして完成した。平成 28 年度中には、キットとして販売を予定している。

B：骨格筋細胞

骨格筋細胞については、2 つの因子を組み合わせることで ES、iPS 細胞へ導入することで、短期間に高効率な骨格筋様細胞への分化が得られる技術が開発できた。現在刺激により細胞収縮が確認されるかどうか、検討中である。また、これらの因子は、骨格筋細胞分化誘導キットとして完成しており、平成 28 年度中にはキットとして市販する予定である。