

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム 技術開発個別課題
(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine,
Projects for Technological Development

研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Development and commercialization of technologies for rapid,
efficient, high-quality, and large-scale production of a variety
of differentiated cells from pluripotent stem cells

研究開発担当者 (日本語) 慶應義塾大学医学部 教授 洪 実

所属 役職 氏名： (英語) Minoru Ko, Professor, Keio University School of Medicine

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語)

開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語)

所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要（総括研究報告）

細胞の運命を決定づける転写因子の同定

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由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ことが示されている。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、多くの細胞のアイデンティティを決定する転写因子は同定されておらず、ブラックボックスであると言っても過言ではない。我々の研究室では、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プロジェクト（JST/CREST 生命動態）を行っており、そのデータを活用することで、細胞の分化方向を規定する転写因子がある程度までの絞り込みが可能となっている。本プロジェクトでは、CREST プロジェクトから得られたデータをインフォマティクス解析することで、細胞分化誘導傾向をある程度予測可能な遺伝子群を発見した。

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た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 の形で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っている。平成 28 年度終了時点で、転写因子合成 mRNA を用いたヒト多能性幹細胞分化誘導技術として、平成 27 年度に引き続き①神経細胞（特にコリン作動性神経）及び②高効率な骨格筋細胞への細胞分化を確立した。

さらに、当研究室で確立した細胞分化誘導技術は、米国籍の企業（Elixirgen Scientific, LLC, Maryland, USA）に知財を導出し、日本ではプロメガ株式会社より細胞分化誘導キットとして販売を開始した。

Identification of transcription factors that determine cell fate

The goal of this project is to develop a technology that is able to differentiate human pluripotent stem cells (ES, iPS cells) into desired cell types by a cocktail of transcription factor mRNAs. The state of differentiated cell is defined by the static structure of regulatory gene expression networks of transcription factors in the cells. It is shown that introducing transcription factors into pluripotent stem cells cause differentiate of cells into a specific types of cells. However, transcription factor(s) that determines the identity of the cell was determined only in a limited number of cell types.

Development of pluripotent stem cell differentiation induction technology by introduction of transcription factor modified synthetic mRNA

In this project, we aimed to develop methods to induce differentiation into target cells by introducing a cocktail of mRNAs of transcription factors that determine the identity of cells. Two protocols for human pluripotent cell differentiation using transcription factor synthetic mRNAs were already established (cholinergic neurons and skeletal muscle). In addition, the differentiation technologies established in our laboratory are already on the market as cell differentiation kits from Promega Corporation of Japan .

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

1. Akiyama T, et al., Transient ectopic expression of the histone demethylase JMJD3 accelerates the differentiation of human pluripotent stem cells. *Development*. 2016 Oct 15;143(20):3674-3685.
2. Masatoshi Hirayama, et al., Identification of transcription factors that promote the differentiation of human pluripotent stem cells into lacrimal gland epithelium-like cells, *Aging and Mechanisms of diseases*, Article number: 1 (2017) doi:10.1038/s41514-016-0001-8
3. Goparaju SK, et al., Rapid differentiation of human pluripotent stem cells into functional neurons by mRNAs encoding transcription factors. *Sci Rep*. 2017 Feb 13;7:42367.
4. Akiyama T, et al., Epigenetic Manipulation Facilitates the Generation of Skeletal Muscle Cells from Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells Int*. 2017;2017:7215010. doi: 10.1155/2017/7215010. Epub 2017 Apr 9. Review.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願