

ヒトiPS細胞を生きたまま可視化

細胞の状態を確認しながらの効率的な培養が可能に



伊藤 弓弦

いとう ゆずる (右)
yuzu-itou@aist.go.jp
幹細胞工学研究センター
器官発生研究チーム
研究チーム長
(つくばセンター)

平林 淳

ひらばやし じゅん (左)
jun-hirabayashi@aist.go.jp
幹細胞工学研究センター
首席研究員
糖鎖レクチン工学研究チーム
研究チーム長
(つくばセンター)

iPS細胞等幹細胞を用いた「再生医療」「創薬」「病因解明」実現への社会的ニーズが高まるにつれ、ソースである幹細胞の規格化/標準化は喫緊の課題となっています。私たちは、幹細胞の遺伝子発現や糖鎖修飾に関する網羅的情報と増殖能/分化能との関連を統合的に解析することにより、幹細胞の状態を正確に規定(標準化)するための評価方法を確立し、幹細胞の産業応用化を目指しています。

関連情報:

● 共同研究者

本多 進、藁科 雅岐、福田 雅和 (和光純薬工業株式会社)、小沼 泰子、館野 浩章 (産総研)

● 参考文献

Tateno H. et al.: *Stem Cells Transl. Med.*, 2, 265-273 (2013).

Onuma Y. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 431, 524-529 (2013).

● プレス発表

2013年3月19日「ヒトiPS細胞を生きたまま可視化できるプローブを開発」

●この研究開発は、独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) の助成事業 (平成21~22年度)、および和光純薬工業からの資金提供型共同研究 (平成23年度~) の支援を受けて行っています。

iPS細胞の実用化における課題

近年、iPS細胞などのヒト幹細胞を用いた再生医療に大きな期待が寄せられており、iPS細胞を分化させて神経細胞や網膜細胞などさまざまな細胞を作り出し、細胞治療に用いる試みが世界中で精力的に進められています。しかし一方で、iPS細胞から分化し移植される細胞の中に残存した未分化のiPS細胞が腫瘍化することが問題となっています。このことがiPS細胞を再生医療に応用する上での大きな障壁となっており、残存iPS細胞を効率良く除くための新しいプローブ (ある特定の分子や細胞を検出する際に用いる物質) が切望されていました。

iPS細胞に特異的に結合するレクチン

私たちはこれまでに、レクチンの一種であるrBC2LCNが、iPS細胞に特異的に結合するプローブであることを発見しています。今回の研究でrBC2LCNがiPS細胞上のどんな分子に結合するかを調べたところ、ポドカリキシンという高度に糖鎖修飾された膜タンパク質上のO型糖鎖に結合することがわかりました。さらに、rBC2LCNは細胞に対する結合力がとても強く、iPS細胞の生体染色に有効であることを見出しました。図1にrBC2LCNによるiPS細胞の生体染色の結果を示します。培養中のiPS細胞の培養液に、赤色蛍光物質で標識した

rBC2LCNを添加したところ、iPS細胞を生きたまま蛍光染色できました。このプローブは毒性がほとんどなく、培養液中に入れたままにしておくため、常に品質管理しながらiPS細胞を培養できます。また、このプローブはES細胞も生きたまま染色でき、幅広く幹細胞の品質管理に使用できます。

iPS細胞と分化細胞が混じった細胞集団に、蛍光標識したrBC2LCNを加えて、フローサイトメーターによる分離実験を行ったところ、分化細胞とiPS細胞を分離できました (図2)。再生医療に用いる移植用の細胞にiPS細胞が混入していても、この技術を活用してiPS細胞を分離除去することによって、腫瘍化を防げると期待されます。

rBC2LCNは大腸菌を用いて大量 (>80 mg/L) に調製できることから、これまでの抗体にかわる、iPS細胞を評価するための新しいプローブとして、コストの面からも期待できます。

今後の予定

rBC2LCNを用いて混入しているiPS細胞を取り除いた細胞源が、本当に腫瘍化を引き起こさないか、などの安全性を確認する予定です。また産学官連携により、rBC2LCNを用いた技術に関して、5年後の医療現場での実用化を目指します。

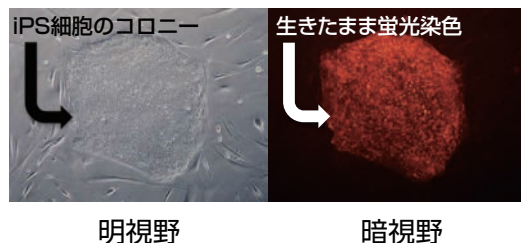


図1 生きたまま染色したiPS細胞の光学顕微鏡像

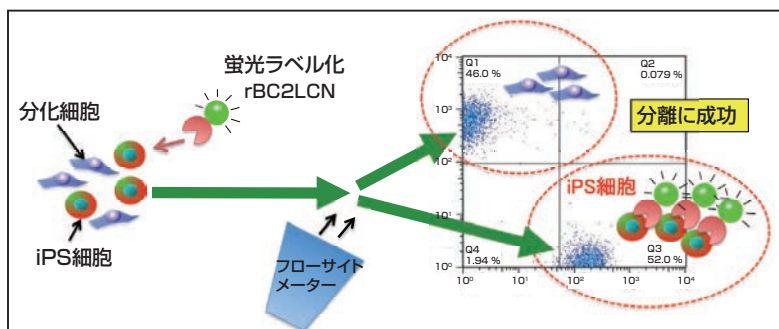


図2 rBC2LCNを用いたiPS細胞の分離実験