

安全なiPS細胞を高効率に作製

転写因子 Glis 1 の導入でiPS細胞の樹立効率が大幅に改善



五島 直樹

ごしま なおき
n-goshima@aist.go.jp

バイオメディカル情報研究センター
細胞システム制御解析チーム
主任研究員
(臨海副都心センター)

ヒト遺伝子の 80 % をカバーするヒトタンパク質発現リソース、発現タンパク質、データベース HGPD を利用し、1) 細胞システム制御因子の探索、2) 創薬スクリーニング、3) プロテインアレイと免疫モニタリング、4) 標準タンパク質と定量プロテオミクスを目指しています。

関連情報：

● 参考文献

[1] M.Maekawa *et al.*: *Nature*, 474, 225-229 (2011).

● 共同研究者

山中伸弥、前川桃子(京都大学 CiRA)、河村義史、望月宏美、山口圭(JBIC)

● プレス発表

2011年6月9日「転写因子 Glis1 により安全なiPS細胞の高効率作製に成功」

● 用語説明

* cDNA：相補的 DNA とも言う。ゲノム DNA のうちタンパク質合成の際に遺伝子として働く部分だけをコピーした mRNA の塩基配列情報を写し取った相補鎖 DNA のこと。

● この研究開発は、JST「山中iPS細胞特別プロジェクト」、NEDO「iPS細胞等幹細胞産業応用促進基盤技術開発」などの支援を受けて行っています。

研究の経緯

私たちは、京都大学iPS細胞研究所の山中教授の研究グループとの共同研究で、転写因子 Glis1 を、山中3因子 (Oct3/4、Sox2、Klf4) あるいは山中4因子 (Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc) と一緒にマウスやヒトの線維芽細胞に導入すると、安全なiPS細胞をととも効率よく作製できることを見いだしました。

これまでに山中教授らのグループは、線維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いて、山中4因子を導入してiPS細胞の作製に成功しています。しかし、導入したc-Mycの影響と思われる腫瘍形成のリスクや、c-MycなしではiPS細胞の樹立効率が極端に低いことが示されています。そこで、臨床応用に使用できるiPS細胞を効率よく作製する方法の確立のために、より安全でより効率の良い新規因子の探索を行ってきました。その過程で、私たちが構築してきたヒト cDNA *ライブラリー (ヒトタンパク質発現リソース、HUPEX) に含まれる転写因子1,437遺伝子の中から新規iPS細胞誘導因子 Glis1 を発見しました^[1]。

研究の内容

Glis1 を山中3因子あるいは山中4因子と同時にマウスやヒトの線維芽細胞に導入したところ、ES細胞 (胚性幹細胞) と同様の多能性マーカー

遺伝子を発現し、形態も類似したiPS細胞を効率よく誘導することができました。また、Glis1 は、c-Mycによって誘導される初期化が不完全な細胞や形質転換された細胞の増殖を抑制していることがわかりました。

Glis1 と山中3因子で誘導したiPS細胞は、奇形腫を形成 (三胚葉への分化能を証明) し (図1)、さらに、iPS細胞由来キメラマウスは生殖系譜にも寄与できることがわかりました (図2)。また Glis1 から作成されたキメラマウスでは、c-Myc を用いて作製された場合のような顕著な腫瘍発生や短命化は認められませんでした。

また、マウスES細胞に Glis1 を強制発現したところ、ES細胞の増殖が抑制されました。このことから、iPS細胞誘導過程において、細胞に導入された因子の発現が抑制されない初期化不完全細胞では、Glis1 の発現が継続し、細胞の増殖が抑制されていることを示唆しています。言い換えれば、増殖している細胞は完全に初期化されたiPS細胞となります。

今後の予定

今回の研究から、Glis1 を用いることにより、安全性の高いiPS細胞を効率よく作製できる可能性が示されたので、臨床応用に使用可能なiPS細胞作製方法の確立に大きく貢献することが期待されます。

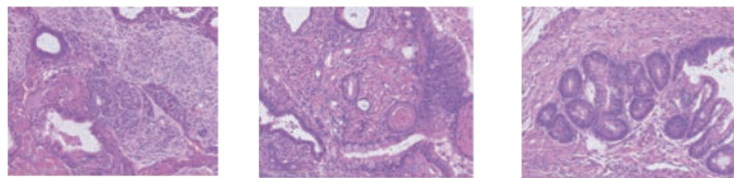


図1 Oct3/4、Sox2、Klf4、Glis1 を導入して作製されたiPS細胞由来の奇形腫(マウス) 左から、神経細胞、平滑筋、円柱上皮



図2 Oct3/4、Sox2、Klf4、Glis1 を用いて樹立されたiPS細胞由来のキメラマウス(左) F1 の体毛色から生殖系譜への寄与が確認できた(右)