

平成25年度 新産業創出研究会「研究成果報告書」

「iPS細胞誘導等に用いる人工染色体ベクターの効率的導入技術の開発」

[鳥取大学染色体工学研究センター ・ 教授] [押村 光雄]

1. はじめに

人工染色体ベクターには、従来のプラスミドやウイルスベクターに比べ、Mb単位の遥かに大きな遺伝子(群)が導入可能(従来型ベクターの遺伝子導入サイズ:プラスミド~20kb、ウイルス~150kb、BAC/PAC~300kb、YAC~1Mb)で、宿主となる細胞の染色体に組み込まれない(すなわち、宿主細胞の遺伝子を壊さず、隣接する宿主遺伝子の影響を受けない)為、「がん」になる恐れを排除でき、導入遺伝子の発現が安定している等の利点がある。一方、人工染色体ベクターを細胞に導入するためには高度な技術と特殊な機器が必要であることから、有用性は認識されつつも多くの研究者が利用するには至っていない。そこで、本研究会では「微小核細胞」を効率的に濃縮し、参画企業との連携によって「染色体導入キット」の商品開発のための基盤研究、情報交換を行った。

2. 概要

鳥取大学が開発した人工染色体ベクターは、天然の染色体を短小化したもので、搭載遺伝子長に制限が無く、細胞内で安定に独立して存在するという、従来のプラスミドベクター等にはない特徴を持つ。しかし、染色体は常に細胞の中での維持が必要であり、別の細胞に染色体を移す場合、特殊な技術(微小核細胞融合法)、設備、労力が必要となる。

本研究では、鳥取大学が開発した「微小核細胞融合法」を応用し、微小核を用いた汎用性のある染色体導入技術を開発するための基盤研究を行った。人工染色体ベクターは、DNAとタンパク質の複合体であるためにプラスミドのようなベクターと同様には扱えないのが現状である。常に染色体は細胞内で維持する必要があり、染色体提供細胞(ドナー細胞)から別の細胞(レシピエント細胞)に染色体を移す場合、ドナー細胞から各々の染色体を包む微小核細胞の回収の工程が必要となる。本研究ではドナー細胞の染色体が大きく、染色体数が少なければ、人工染色体を保持した微小核細胞を濃縮できるのではいかと考え、以下の研究を行った。

3. 研究成果および今後の課題

これまでドナー細胞としてハムスター細胞やマウス細胞が用いられてきたが、本研究では染色体数が6本という少ない染色体数のインドホエジカ細胞をドナー細胞とするため、まず通常の微小核細胞融合法にてインドホエジカ細胞をレシピエント細胞として人工染色体ベクターを導入した。次にインドホエジカ細胞からの人工染色体導入はこれまで実施されることがなかったので、ヒト細胞への微小核細胞融合法を試みたところ、効率は低かったものの人工染色体を導入することが可能であることが確かめられた。今後は研究資材が整ったので、インドホエジカ細胞からの人工染色体を濃縮する技術開発を行う予定である。

4. おわりに

がん化のリスクが低いiPS細胞への誘導や遺伝子治療を可能とする人工染色体ベクターおよびその導入キットは、iPS細胞を取り巻く創薬、再生医療などへの発展に大きく寄与でき、人工染色体ベクター、及びこれを利用する技術には、大きな市場の形成が期待される。

5. 本研究の今後の計画

人工染色体ベクターを用い、山中4因子の導入によるiPS細胞への誘導や、筋ジストロフィー

遺伝子治療を目的としたジストロフィン遺伝子(2.4Mb)導入は、培養細胞レベル又は実験動物レベルで成功している。今後、ヒトへの適用や安全性を検討していく予定であるが、人工染色体導入頻度が低いことが課題であるので、今回開発した方法やその他の方法を組み合わせることにより、多くの研究者が利用できる染色体導入キット開発を企業と連携して行っていく予定である。具体的には微小核細胞の作製法、細胞に合わせた染色体導入試薬の最適条件の検討、品質管理を定めたマニュアルの作製、凍結微小核細胞と試薬をセットにした「人工染色体ベクター導入キット」の作製を行う予定である。

6. その他

(1) 出願特許(タイトル・出願番号・発明者・特許権者など)

該当なし

(2) 投稿論文(タイトル・学会名等)

該当なし

(3) 本研究会の参加企業・団体名

クロモセンター

GPC 研究所

タカラバイオ