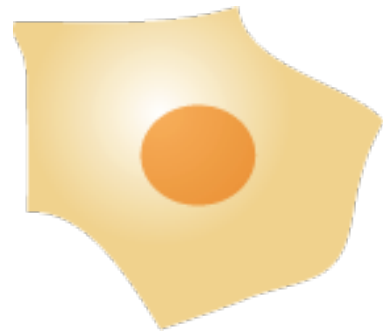


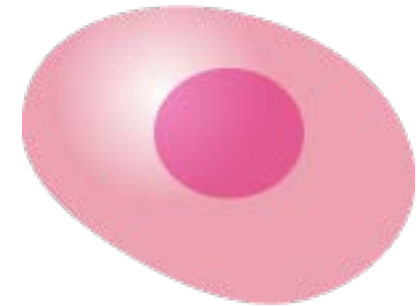
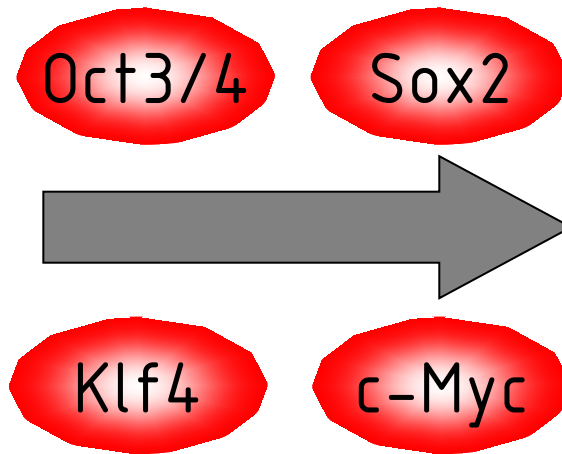
ヒト末梢血や線維芽細胞から iPS細胞をつくる技術

京都大学 iPS細胞研究所 初期化機構研究部門
講師 沖田 圭介

iPS細胞とは？



線維芽細胞



iPS細胞

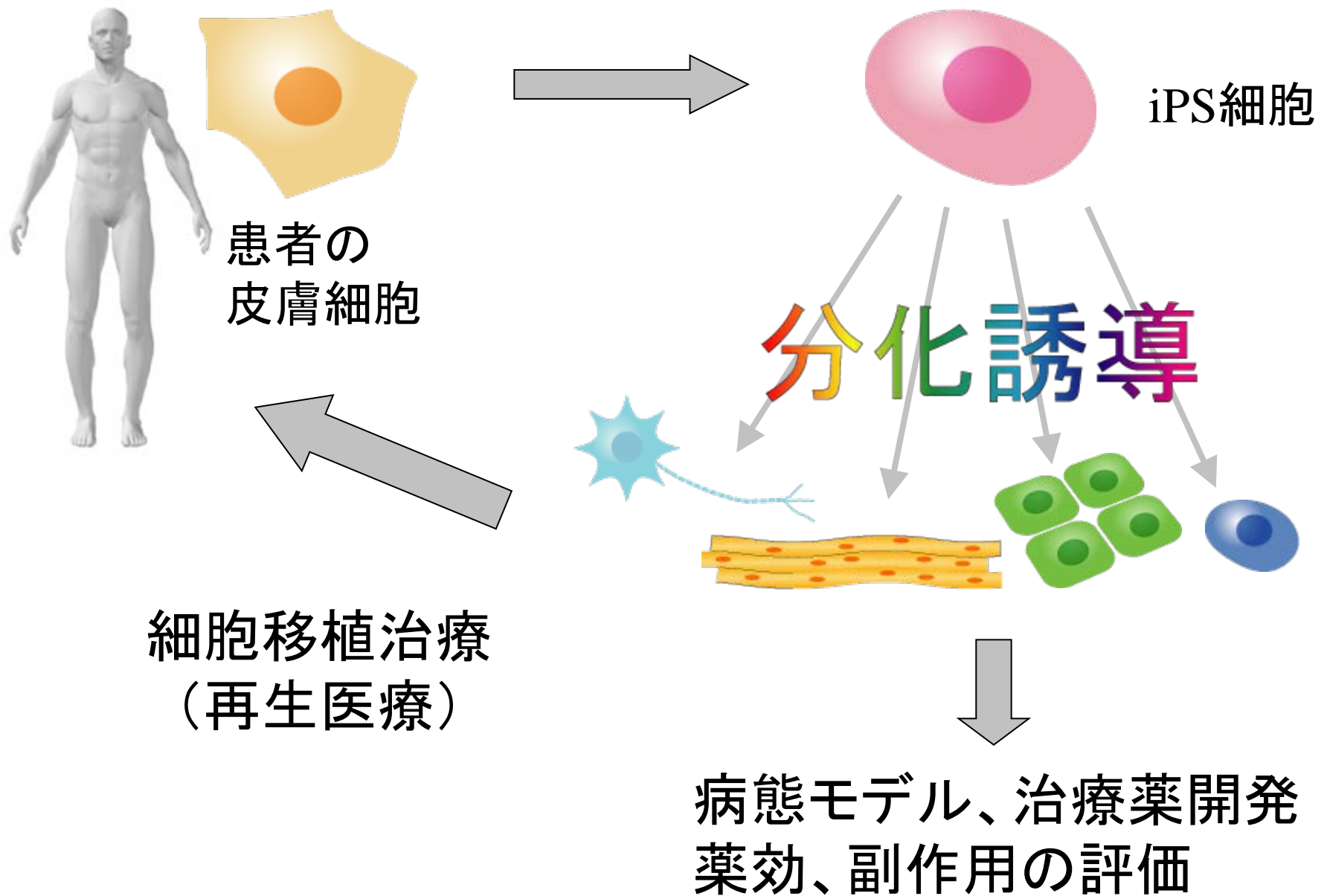
マウス（2006年）

ヒト（2007年）

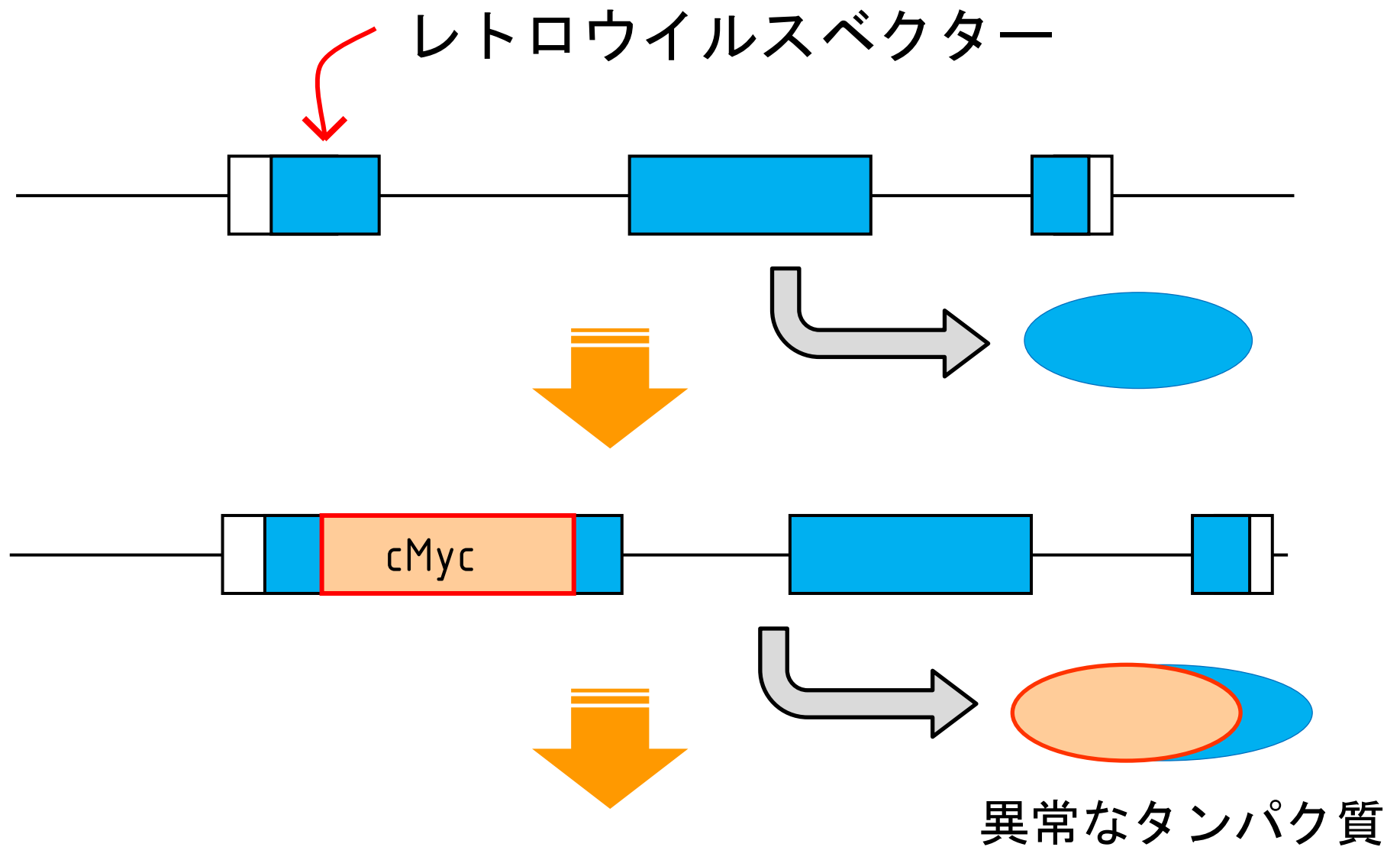
Induced pluripotent stem cell

（人工多能性幹細胞）

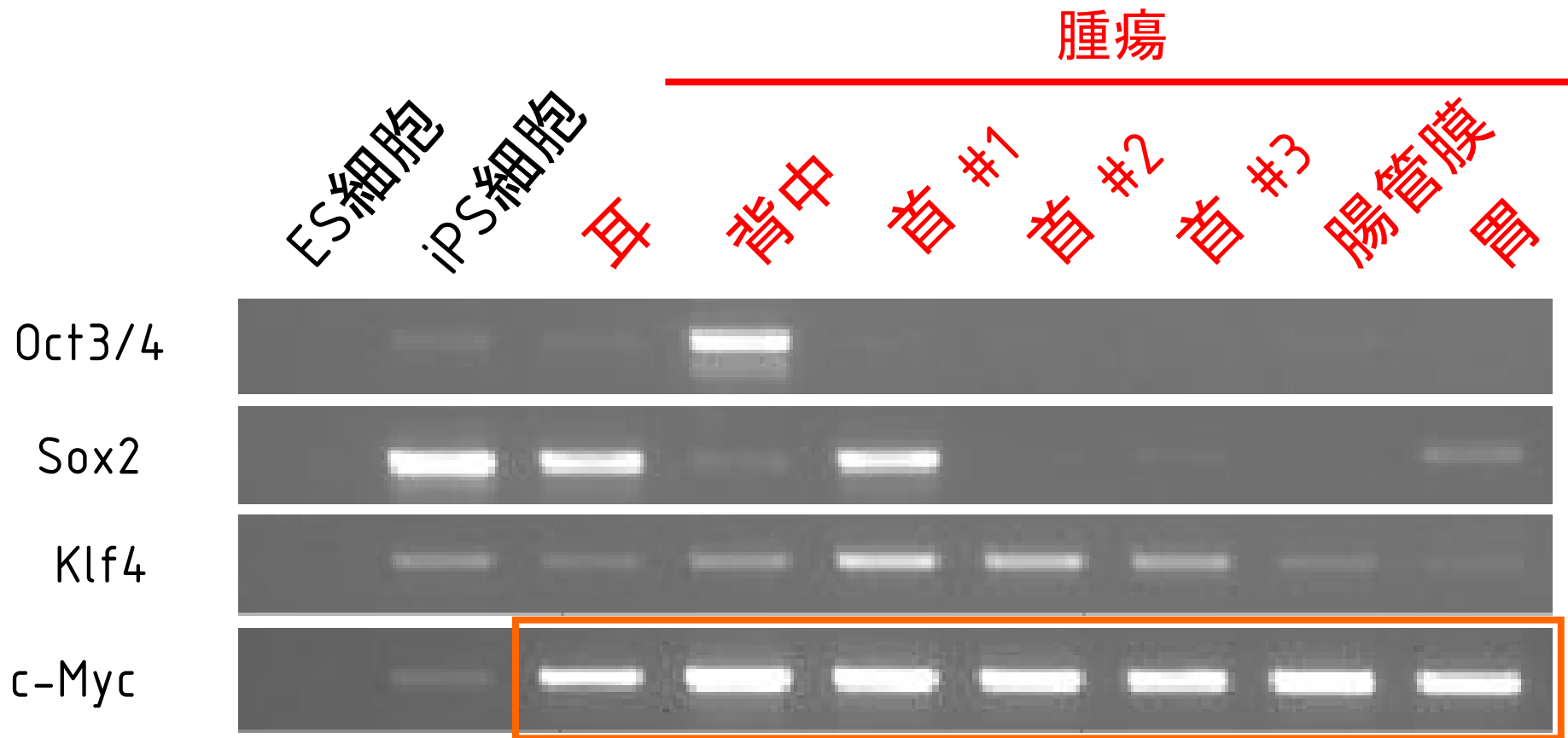
iPS細胞：予想される利用法



染色体への挿入による問題



ゲノムに挿入された遺伝子の再発現

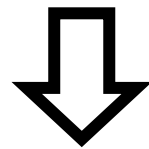


分化細胞の表現型に影響を与える可能性がある

従来技術とその問題点

既に実用化されているものには、レトロウイルスやレンチウイルスベクターを使用した方法があるが、以下の問題がある。

- ・ ゲノム挿入に起因する発現リーク
- ・ ウイルス利用による作業者の安全性の問題



プラスミドによる
一過的な発現でiPSを作る

染色体を傷つけないベクター

ウイルス

アデノウイルス

センダイウイルス

DNA

プラスミド

エピソーマルベクター

トランスポゾン

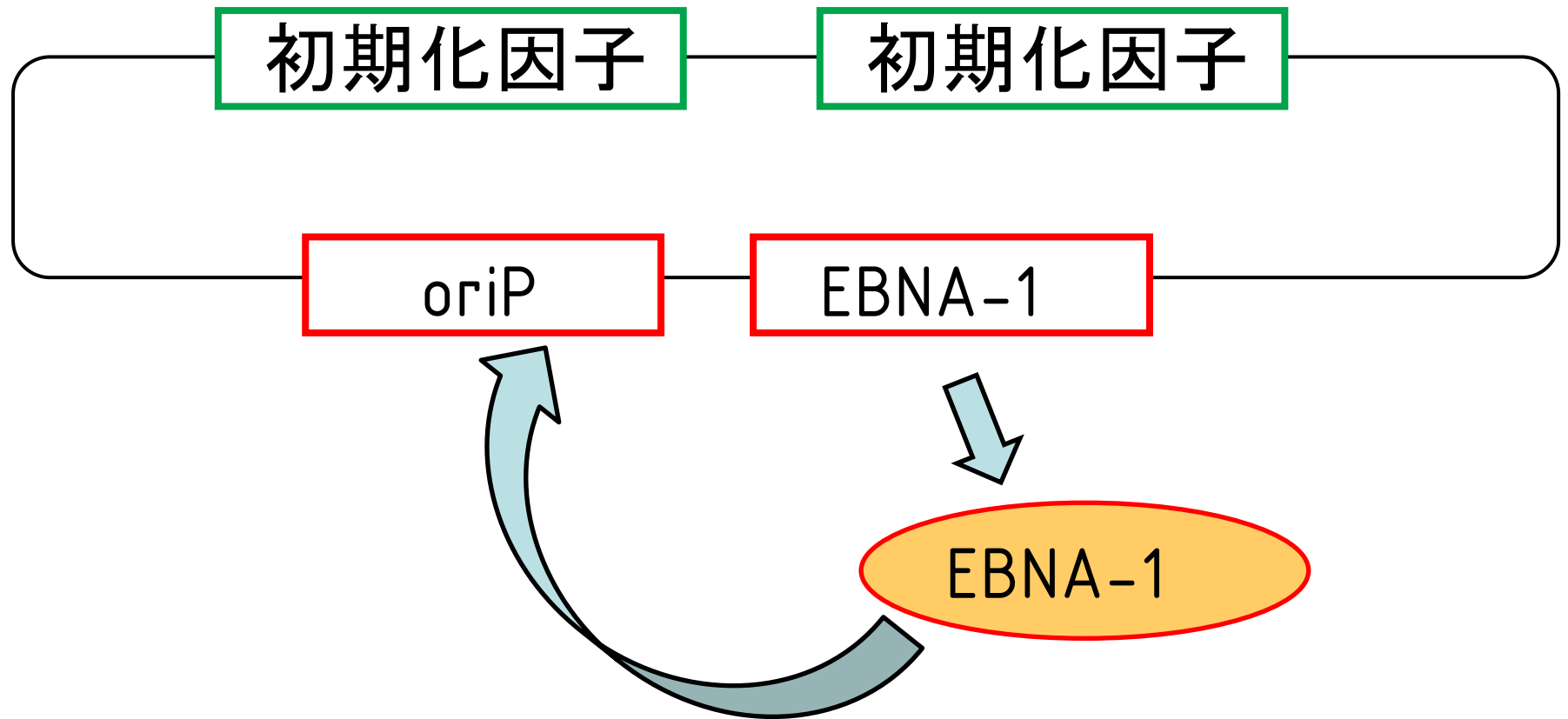
タンパク質

膜透過型タンパク質

RNA

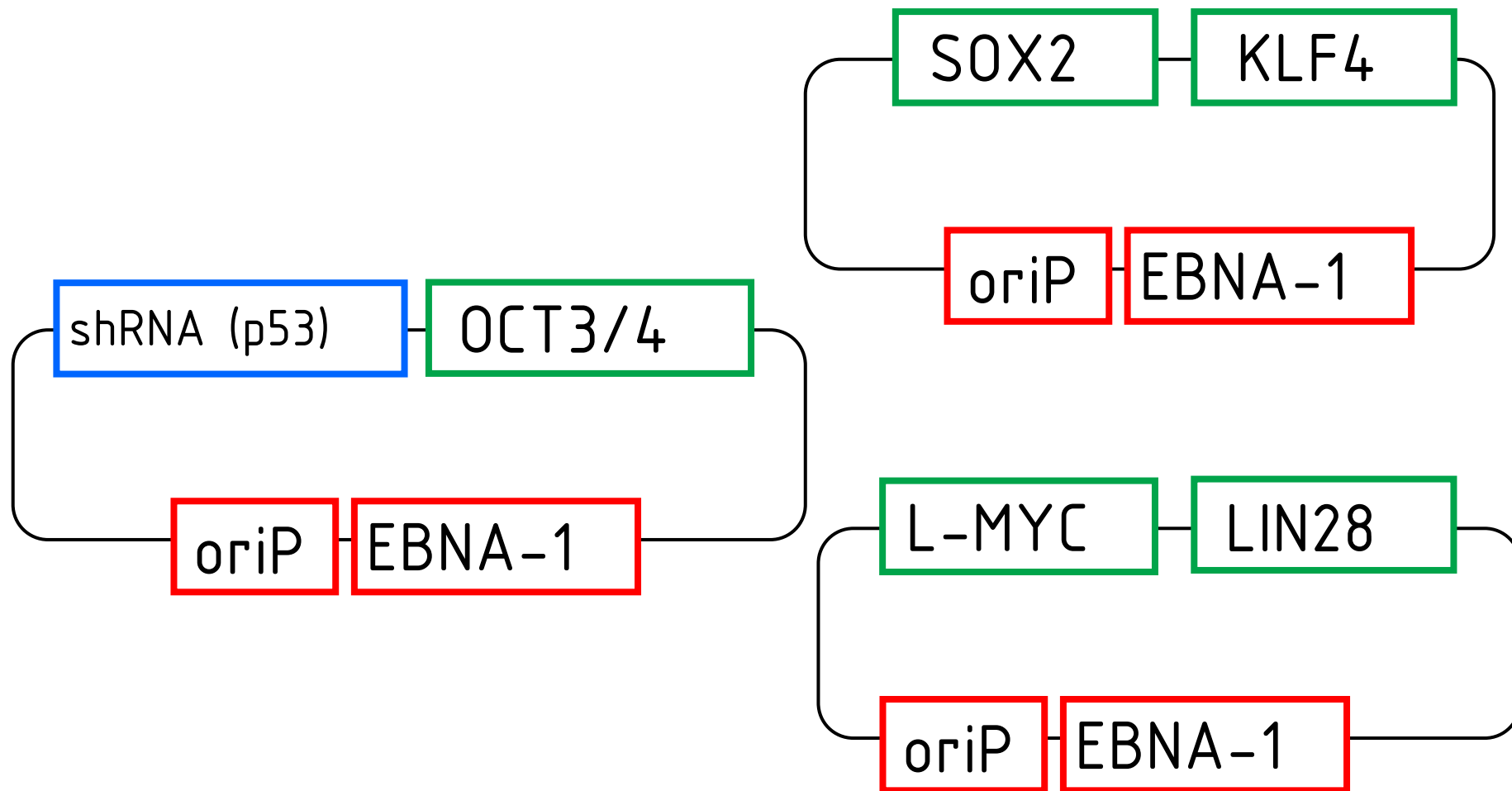
合成RNA

エピソーマルプラスミド



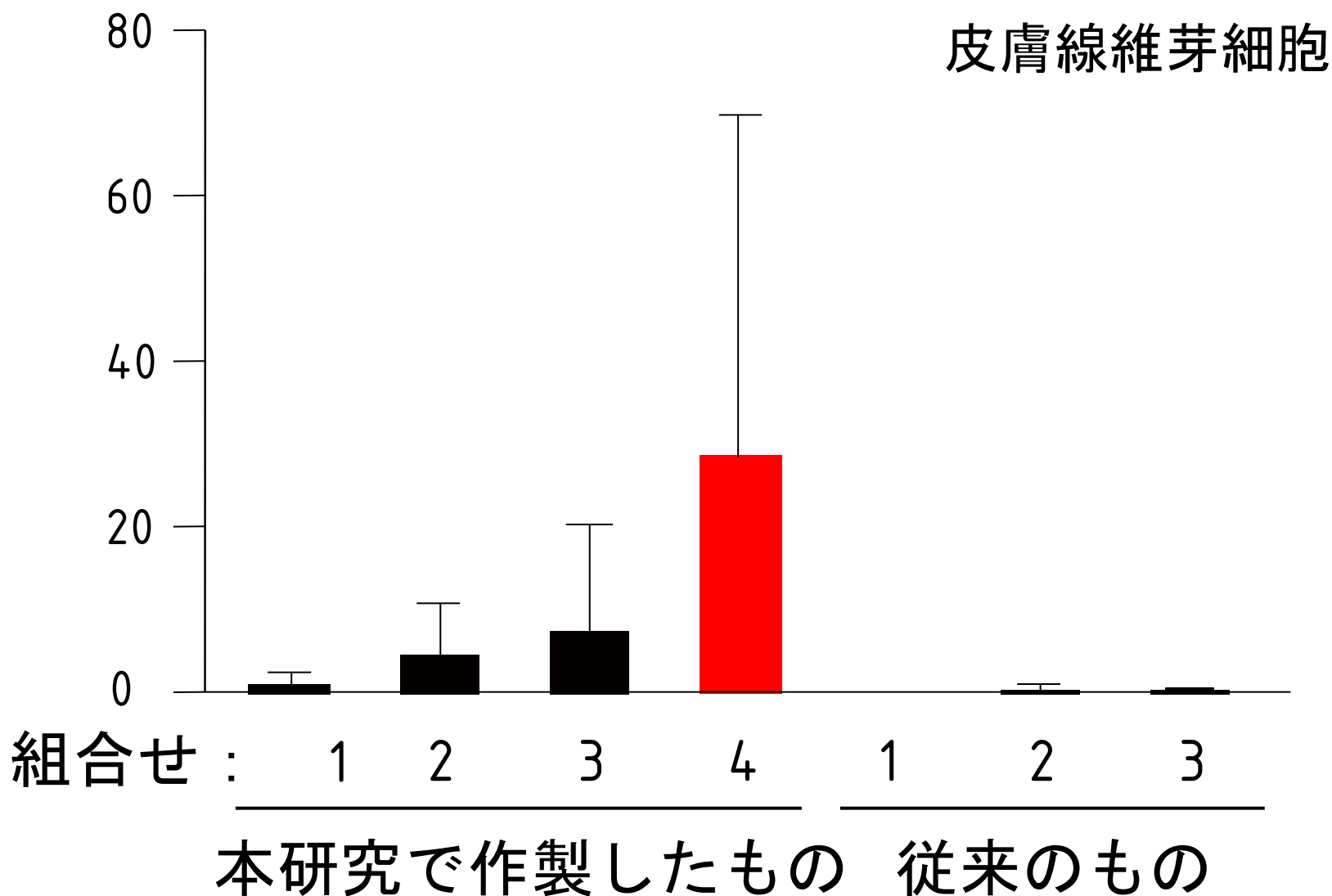
染色体外で、自律的に複製
初期化遺伝子を長期間、多量に発現
培養を続けると、消失していく

新しくベクターを作製した



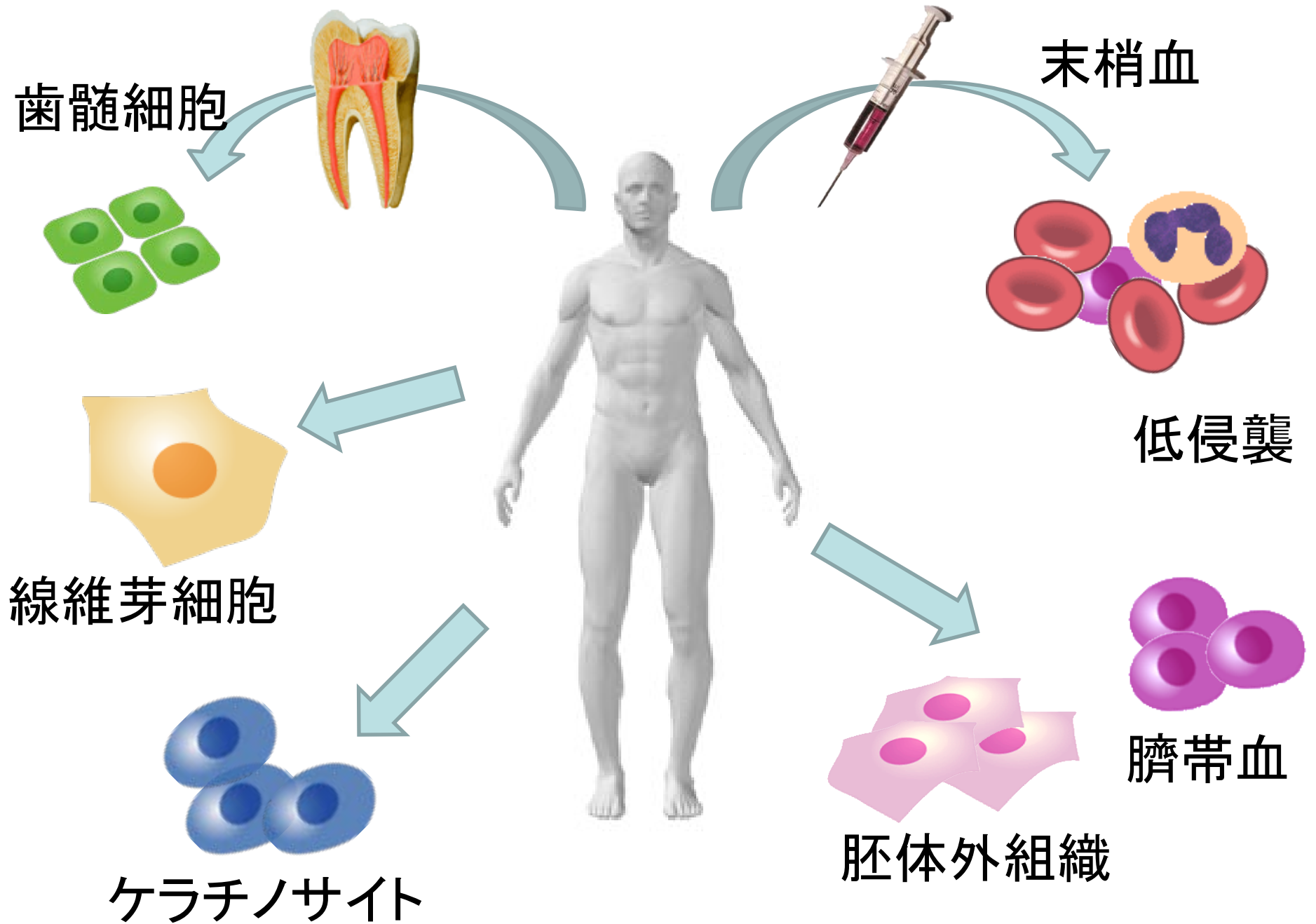
この3つを組み合わせる

新しいベクターは樹立効率が高い



35種類以上の線維芽細胞からiPS細胞を樹立

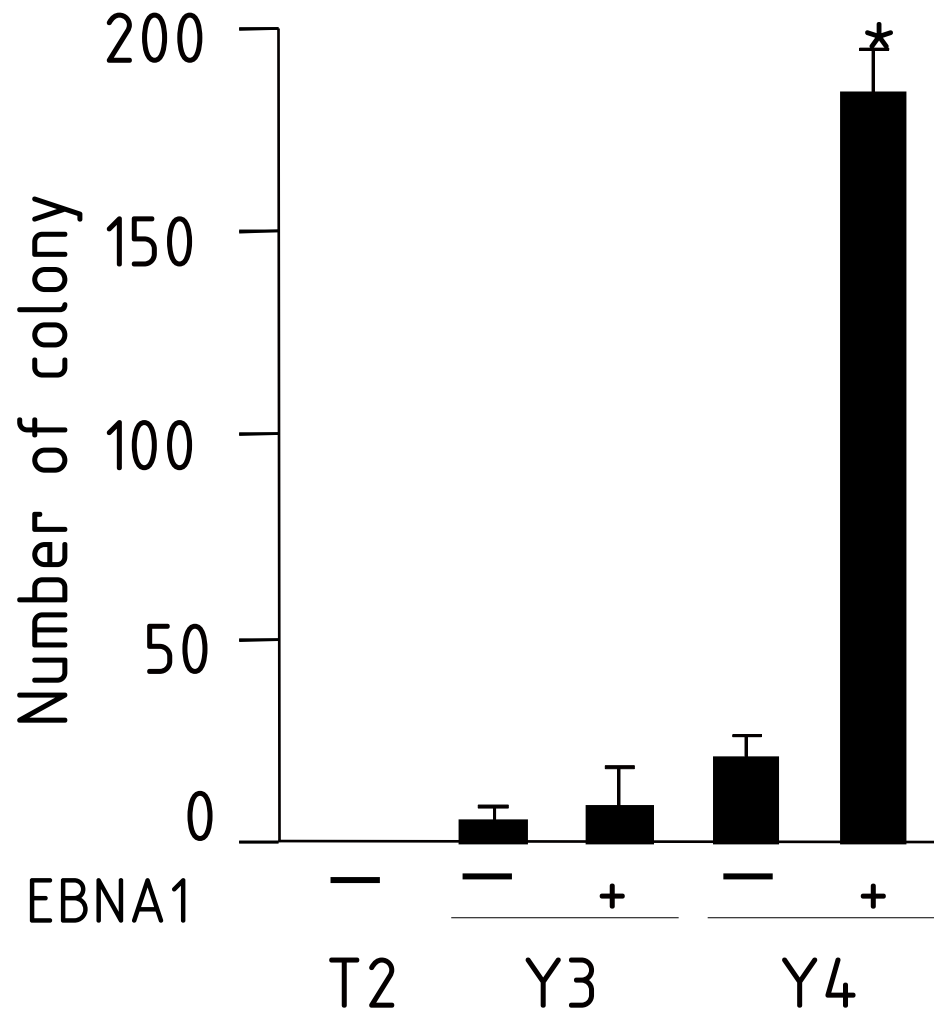
ドナー体細胞



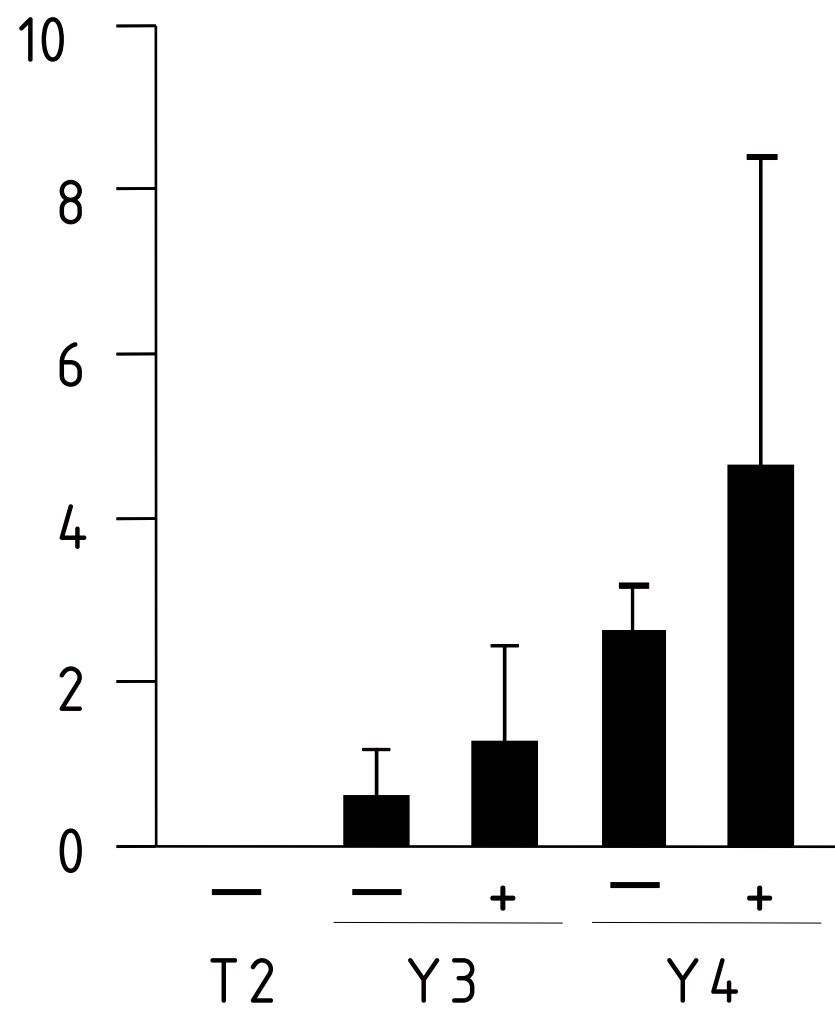
末梢血を使ってiPS細胞を作る

日本人男性(30代)の血液2 mLより

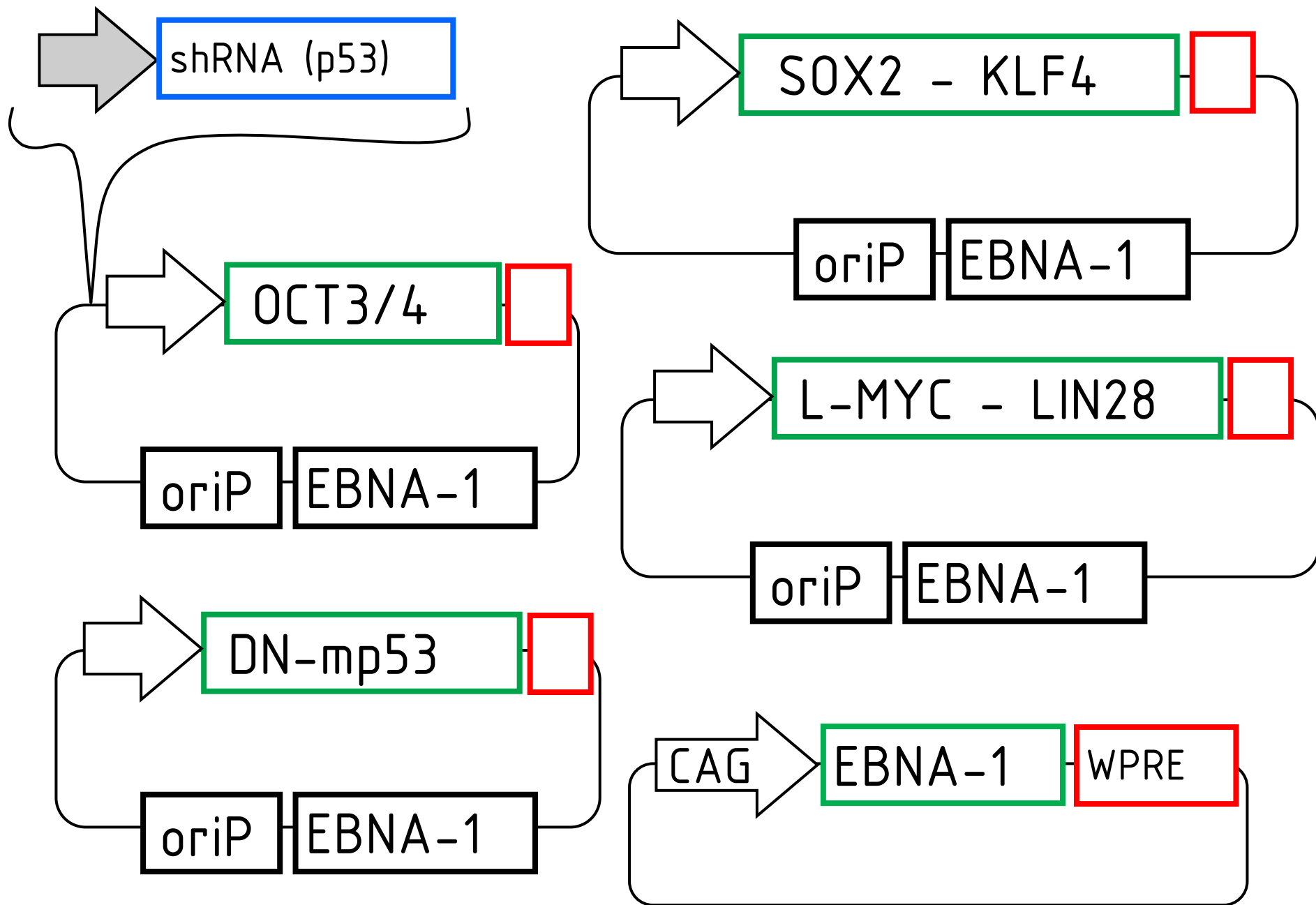
T細胞を標的として



幹・前駆細胞を標的として



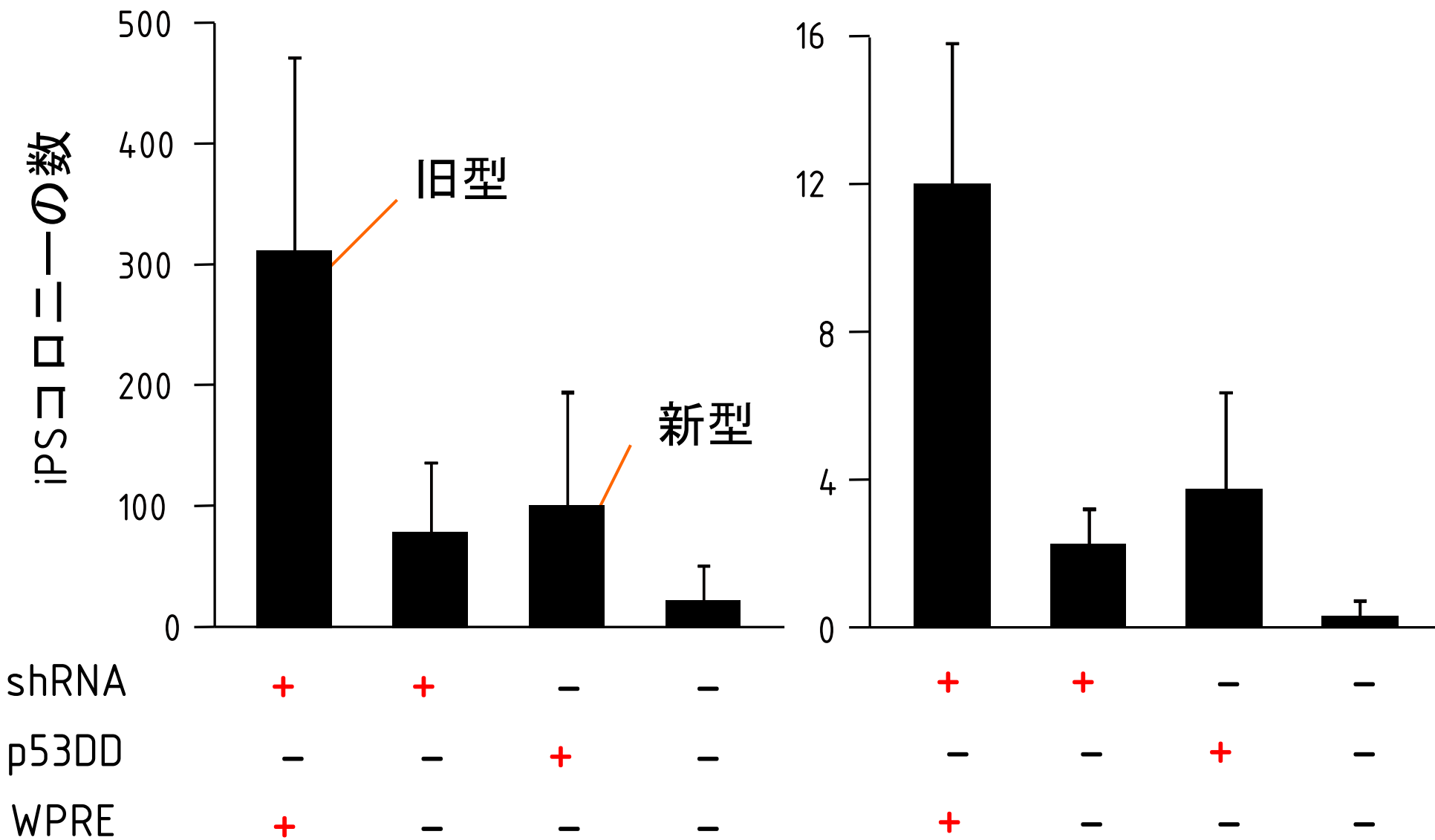
プラスミドの改変



新型ベクターによるiPS誘導

T細胞を標的として

幹・前駆細胞を標的として



使用プラスミド

エピソーマルプラスミド

旧型

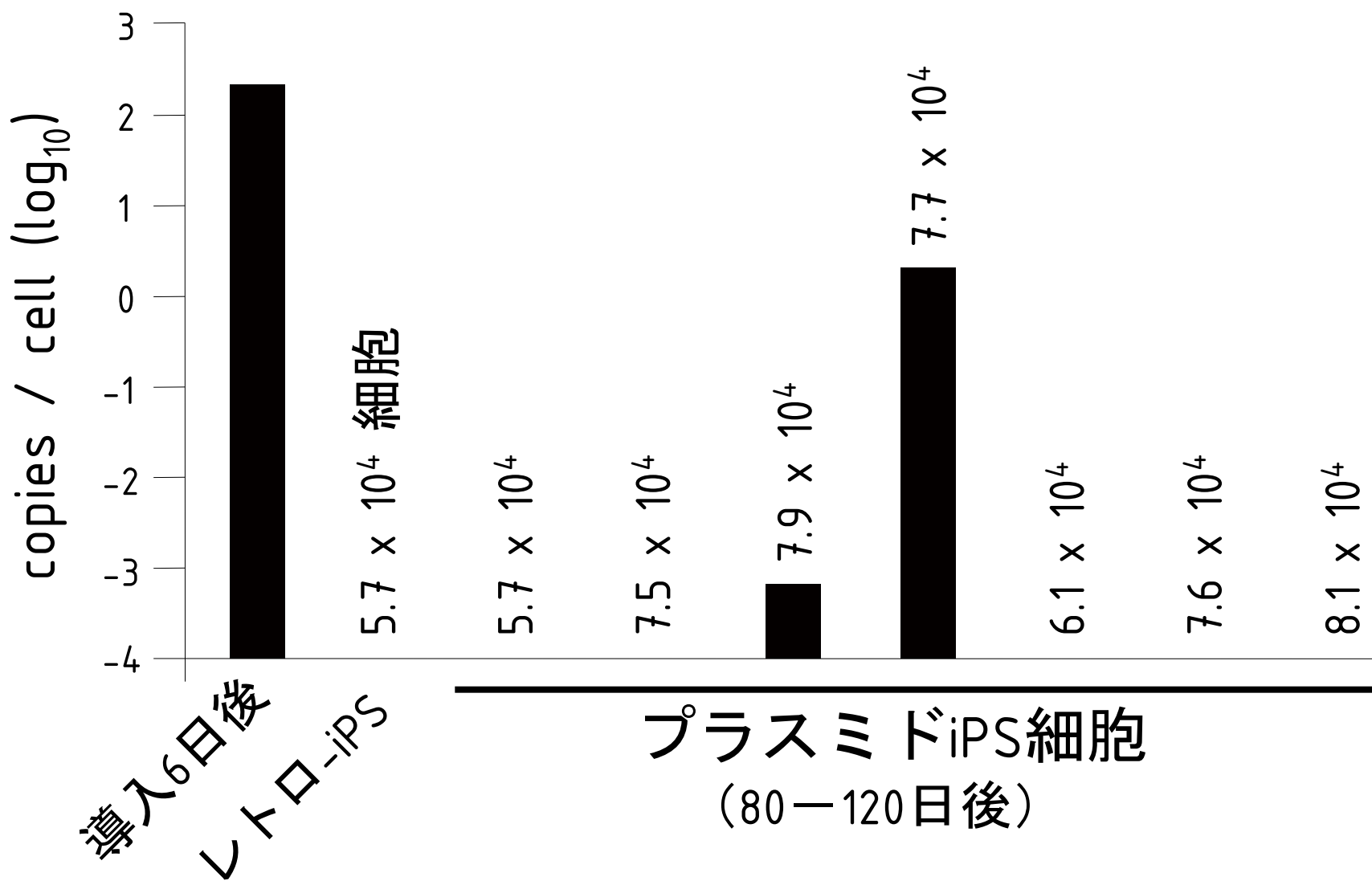
- 樹立効率が低い
- 特許上の問題あり
(shRNAとWPRE配列を含む)



新型

- 樹立効率はpCXLEより低い
- 特許上の問題が少ない
(shRNAとWPRE配列を含まない)
- 今年、50ドナー以上からiPS樹立済み

iPS細胞中での残存



ほとんどのクローンで自然に無くなっていく

新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった、ウイルスの利用を改良した。
- 従来はゲノムの挿入による影響が無視できなかったが、ほとんどの影響をなくした。
- 本技術の適用により、iPS細胞の樹立効率が高くなり、末梢血などから自らの施設で樹立も可能となると期待される。

想定される用途

- 疾患ドナーより検体を採取することで、任意の疾患特異的iPS細胞を作製できる。
- 再生医療用iPS細胞へ応用する可能性もある。
- また、作製したプラスミドに着目すると、ヒト細胞における簡便な遺伝子発現ツールとして利用することも可能と思われる。

今後の課題

- 低い確率でゲノムへの挿入がある。これを検出する系の簡便化。
- iPS細胞の誘導方法をより簡便にする。
- 現在も新たな初期化遺伝子の報告が相次いでいる。これらの遺伝子の検証を進める。

企業への期待

- iPS細胞を使っての社会貢献
- 製薬や病態解明等の技術を持つ企業との共同研究もしくは技術移転を希望

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：
効率的な人工多能性幹細胞の樹立方法
- 出願番号：特願2012-523493
- 出願人：京都大学
- 発明者：沖田圭介/中川誠人/山中伸弥

他、関連特許あり

産学連携の現状

・ 2012年

Life technologies社より販売開始

Epi5 Episomal iPSC Reprogramming Kit (A15960)



お問い合わせ先

京都大学 **IPS**細胞研究所

知財管理室 高尾幸成 (たかお ゆきなり)

TEL 075-366-7006

FAX 075-366-7180

e-mail ytakao@cira.kyoto-u.ac.jp