

効率的なニューロン作製法

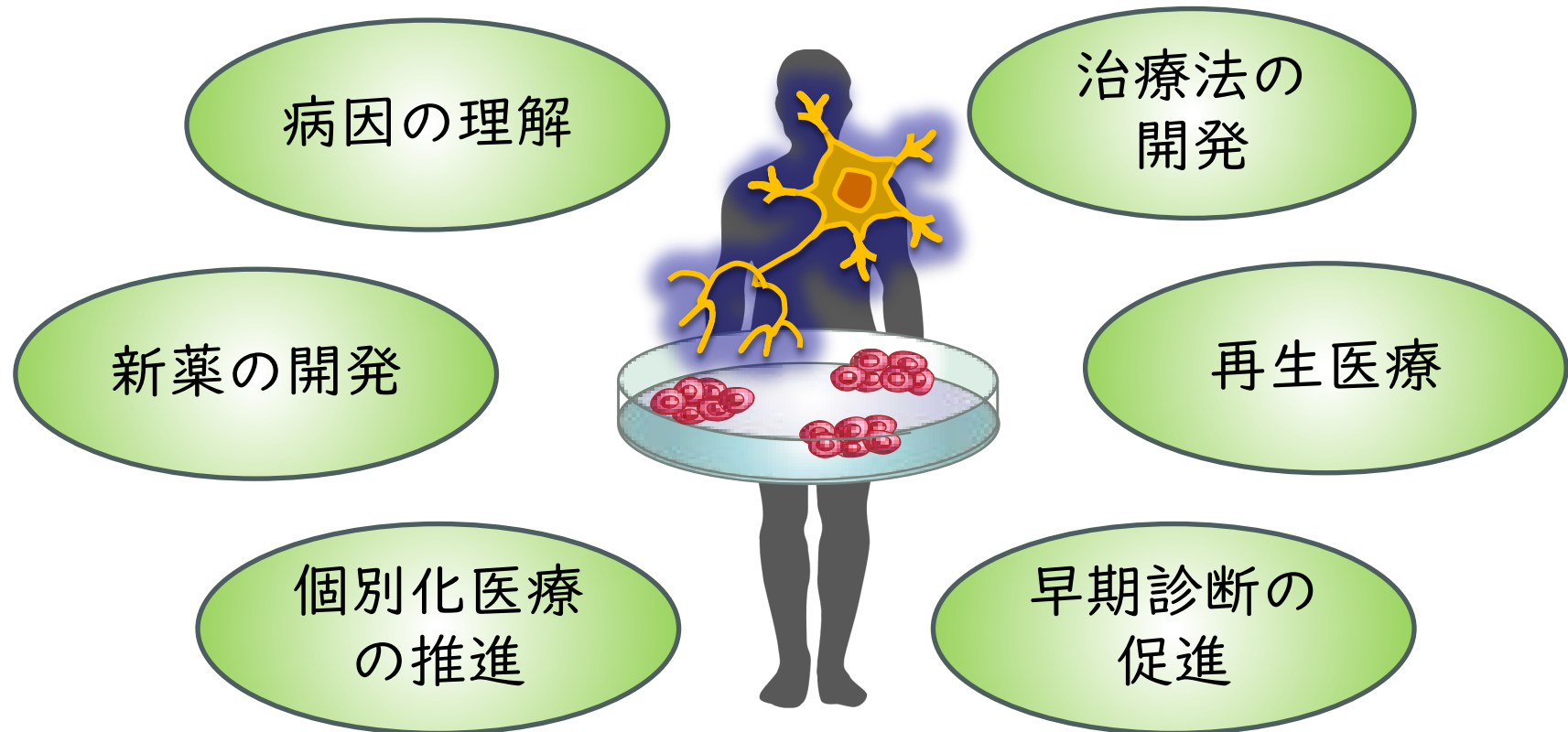
横浜市立大学 医学部 分子生物学
助教 秋山 智彦

2024年10月29日

【目的】

難治性神経疾患克服への挑戦

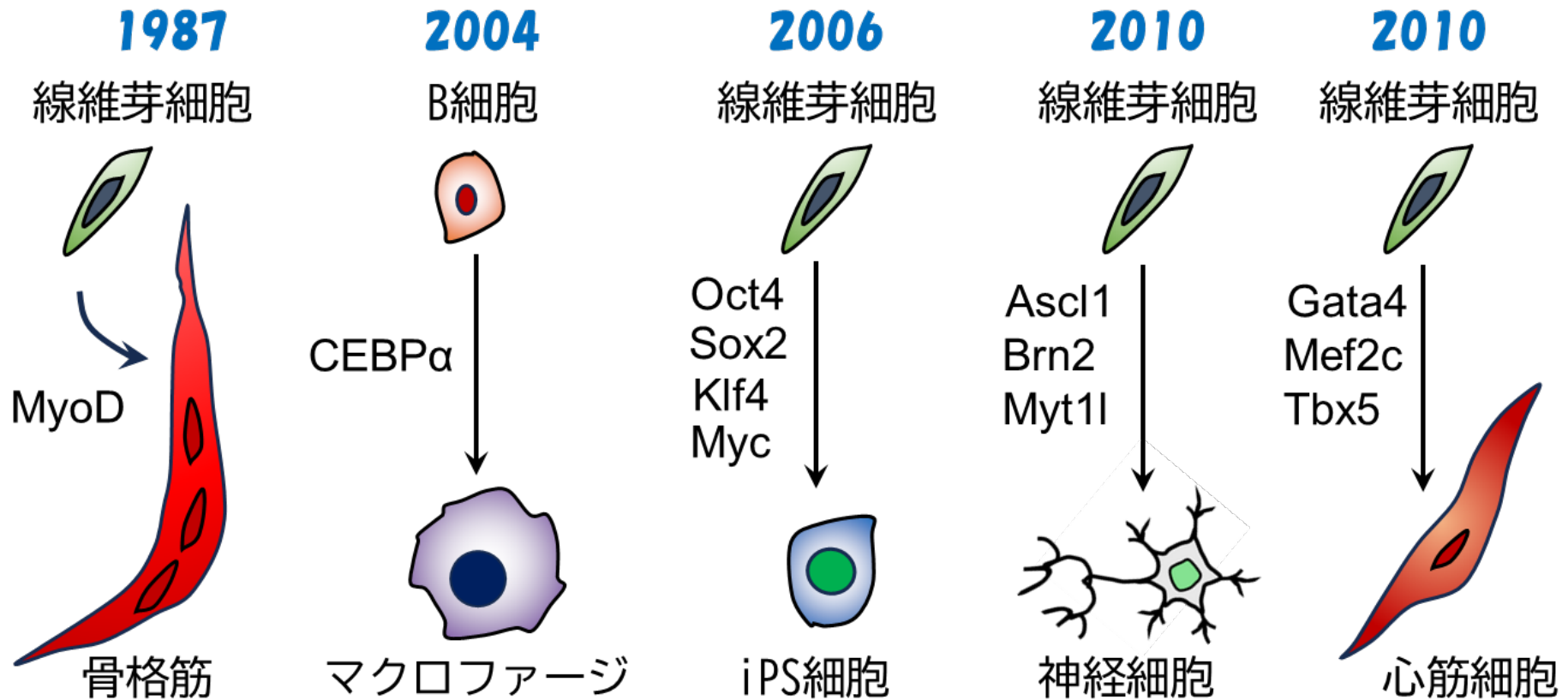
アルツハイマー病/約5,000万人以上、パーキンソン病/約1,000万人以上、
筋萎縮性側索硬化症(ALS)/約20万人以上、ハンチントン病/約7万人



疾患モデル細胞の効率的な作製法は
難病の克服に向けた重要なツールとなる

【背景技術】

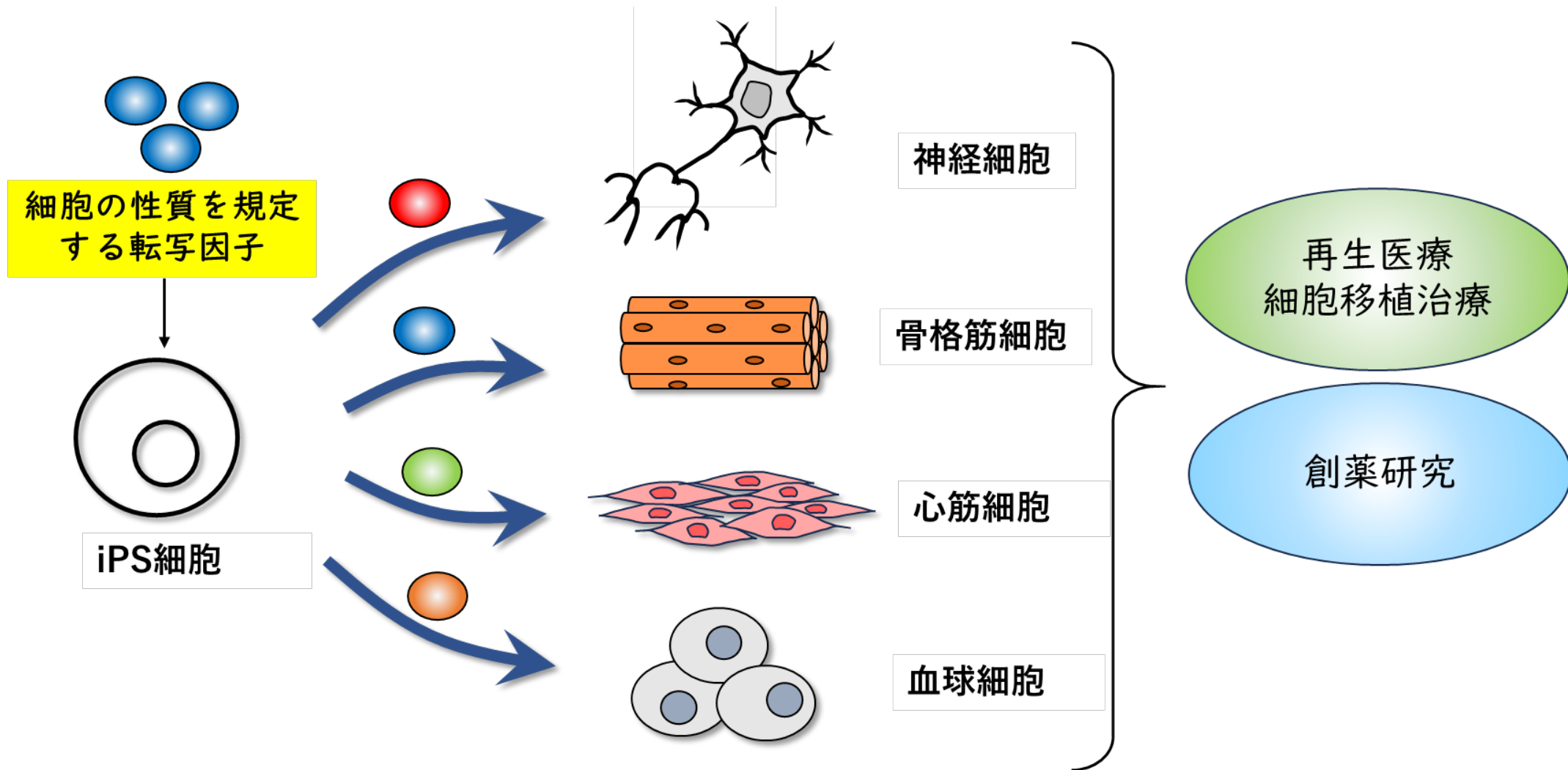
転写因子の導入による細胞の変換法



転写因子: DNAに結合するタンパク質
細胞の性質を規定する遺伝子発現を誘導する

【背景技術】

iPS細胞に転写因子を導入すると 所望の細胞を迅速に作ることができる



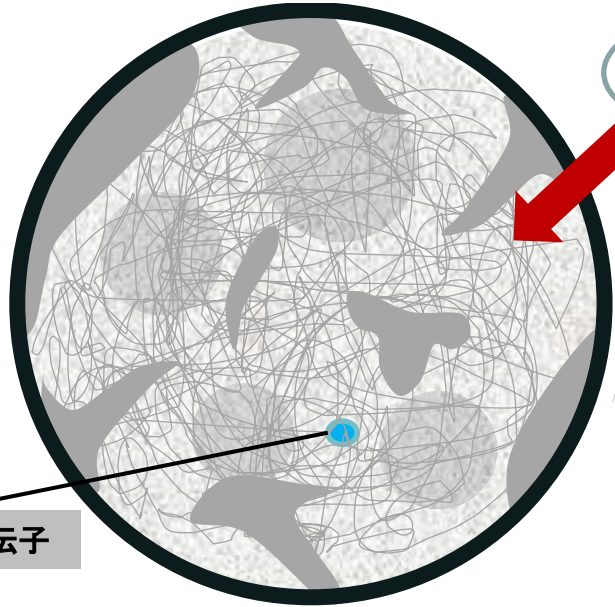
【問題点】

複雑な遺伝子導入技術や低い誘導効率のため
時間とコストがかかるうえ、
習熟した研究者のみが使用できる

【解決するためのアイデア】

これまでの技術

iPS細胞の核



ターゲット遺伝子

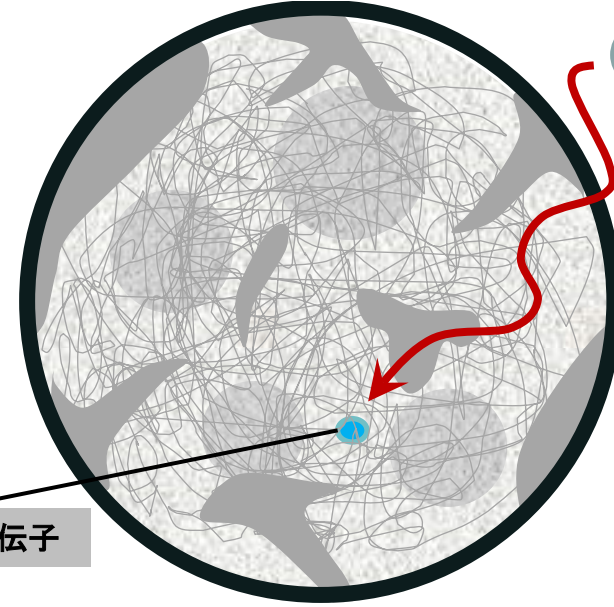
転写因子

転写因子

転写因子

新たな技術

iPS細胞の核



転写因子

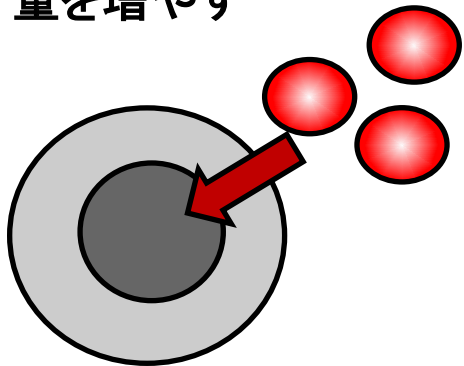
ターゲット遺伝子

効果的に機能を発揮できる
転写因子の開発が必要

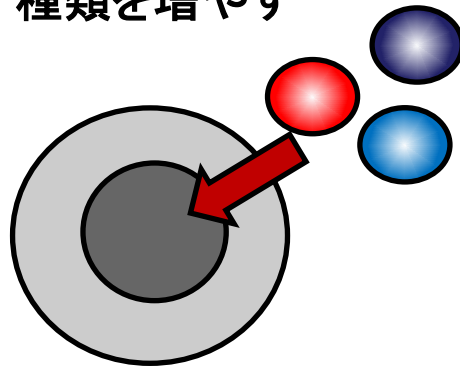
【従来法との違い】

これまでの方法

マスター転写因子の
量を増やす

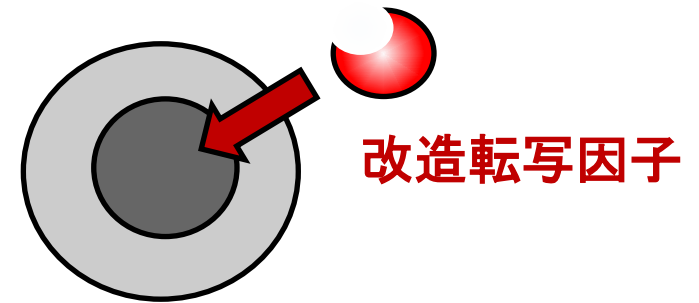


マスター転写因子の
種類を増やす



今回の方法

転写因子の内部の構造を
改造する

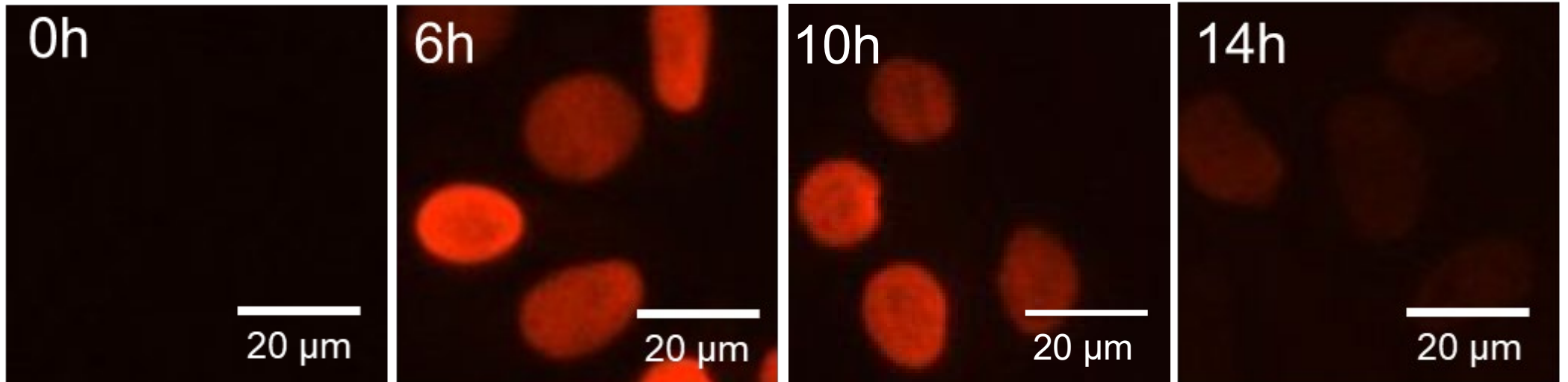
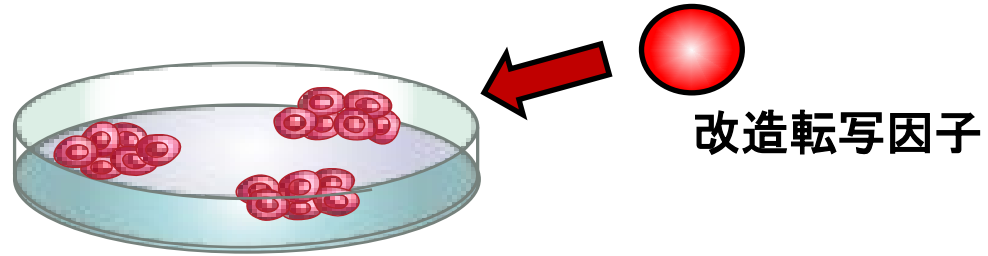


転写因子を改造することにより、
新たな誘導システムの開発を行う

改造：アミノ酸配列の置換・挿入・欠失・修飾

【検証データ(1)】

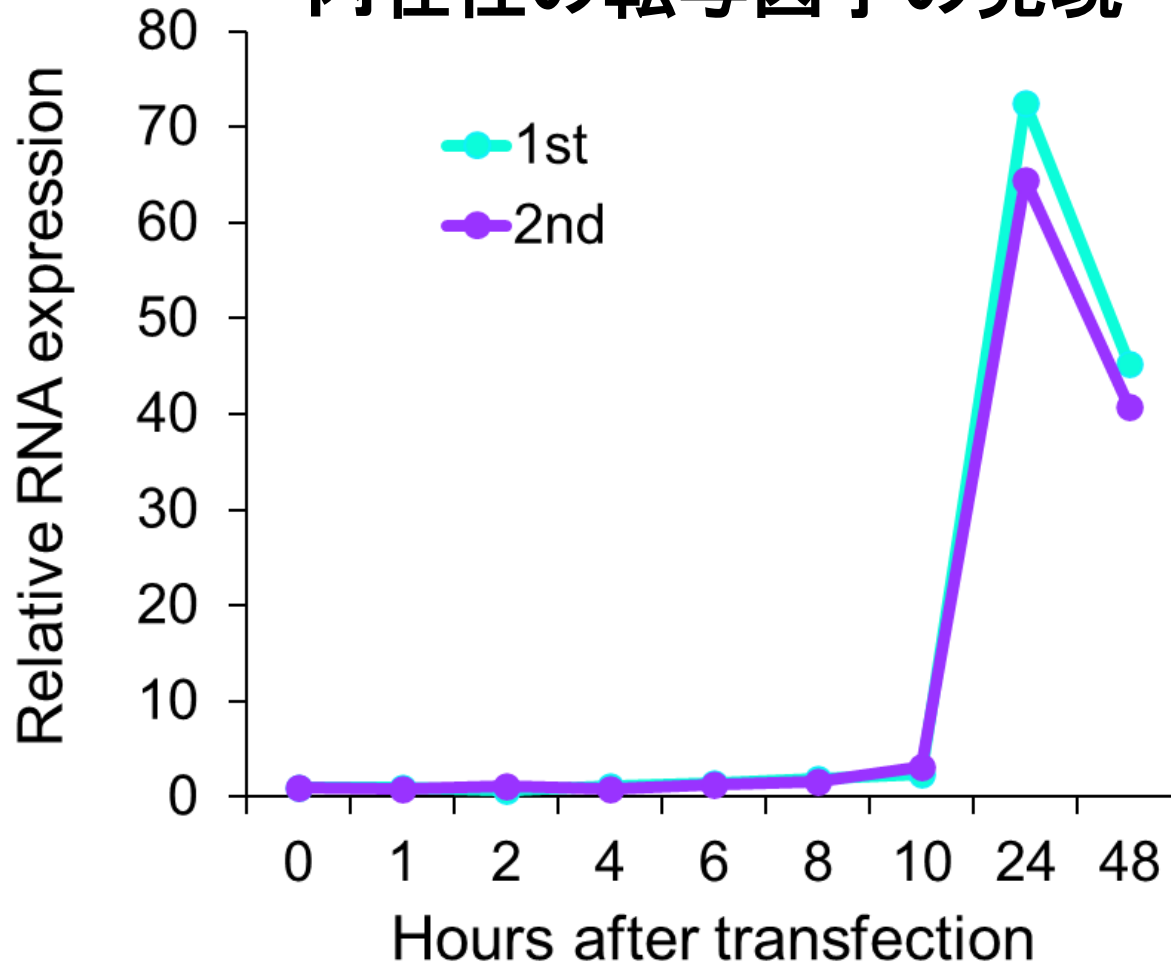
改造転写因子の発現は一過的である



【検証データ(2)】

改造転写因子が消失したあとに
内在性の転写因子の発現が誘導される

内在性の転写因子の発現

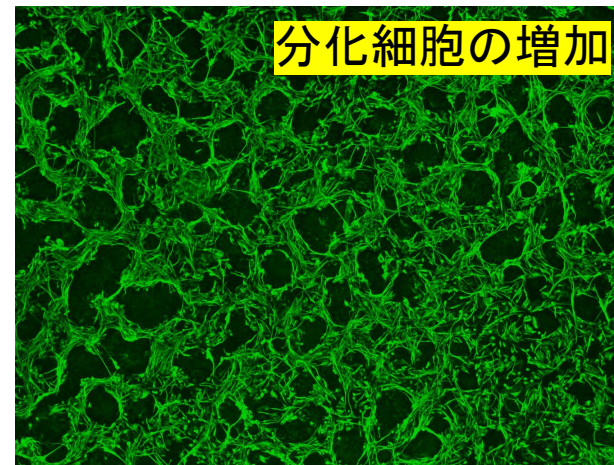
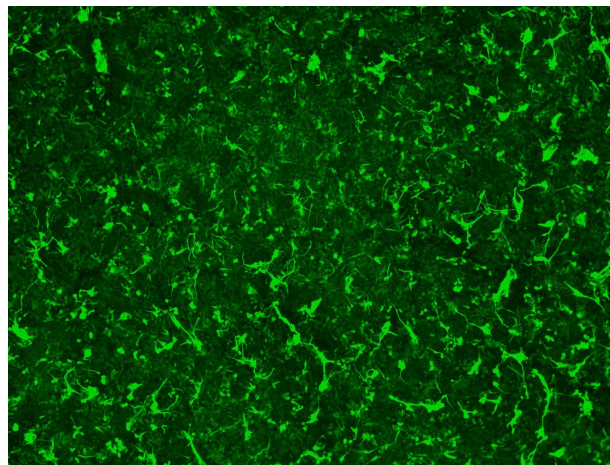
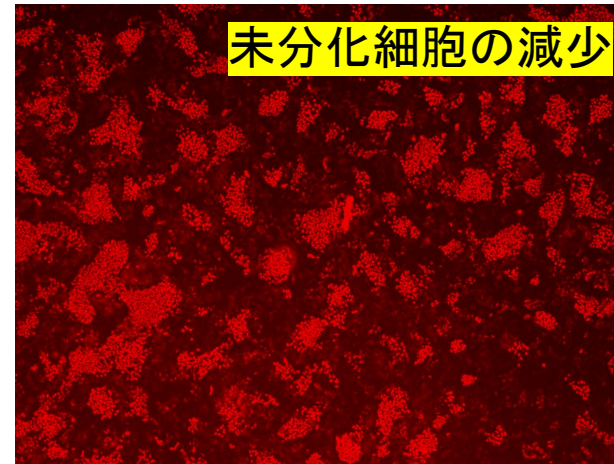
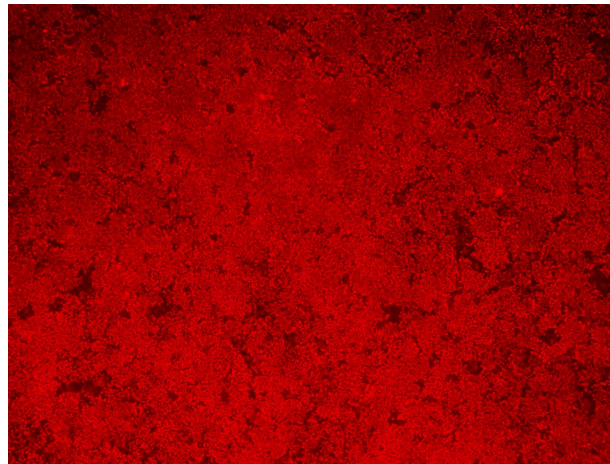


【検証データ(3)】

改造転写因子(TF)を用いることにより、 分化誘導効率が上昇する

野生型のTFを導入

改造TFを導入



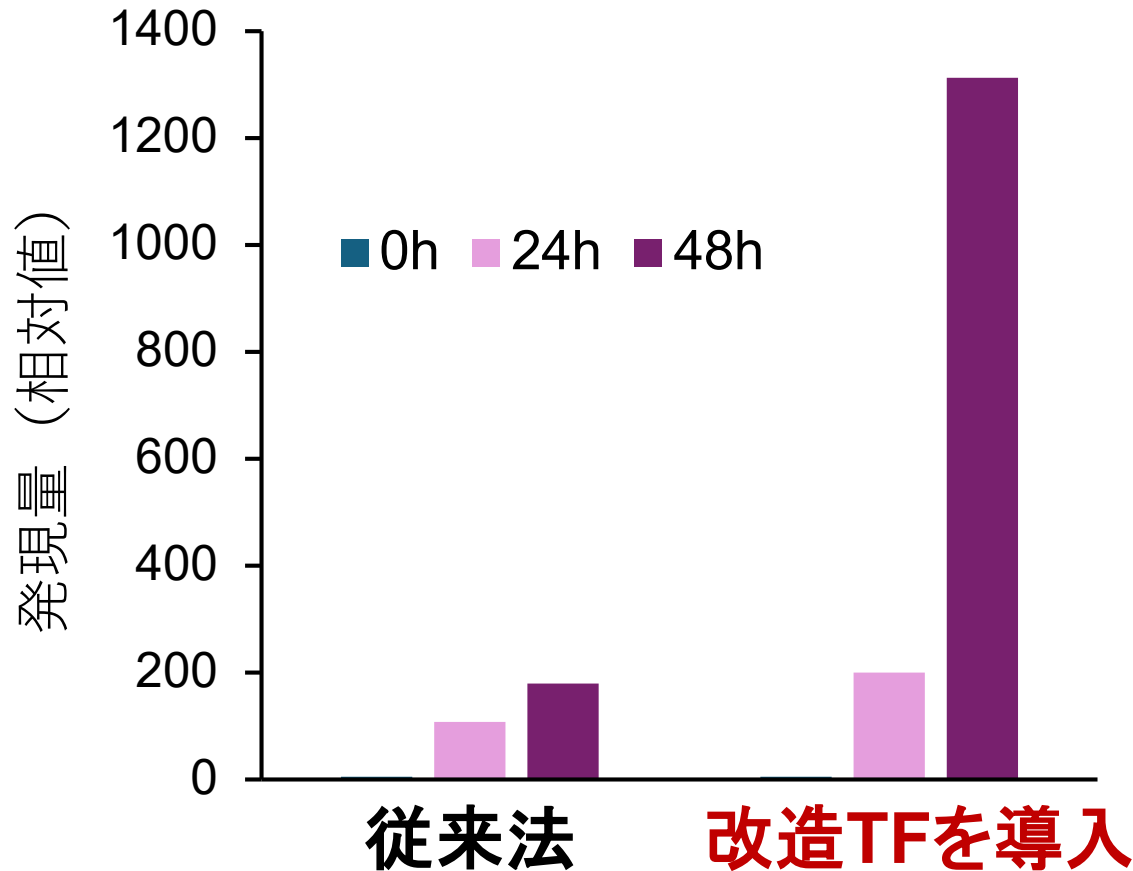
iPS細胞マーカー

ニューロン
マーカー

導入後3日目

【検証データ(4)】

改造TFを導入後早期に
ニューロン関連遺伝子の発現が上昇する

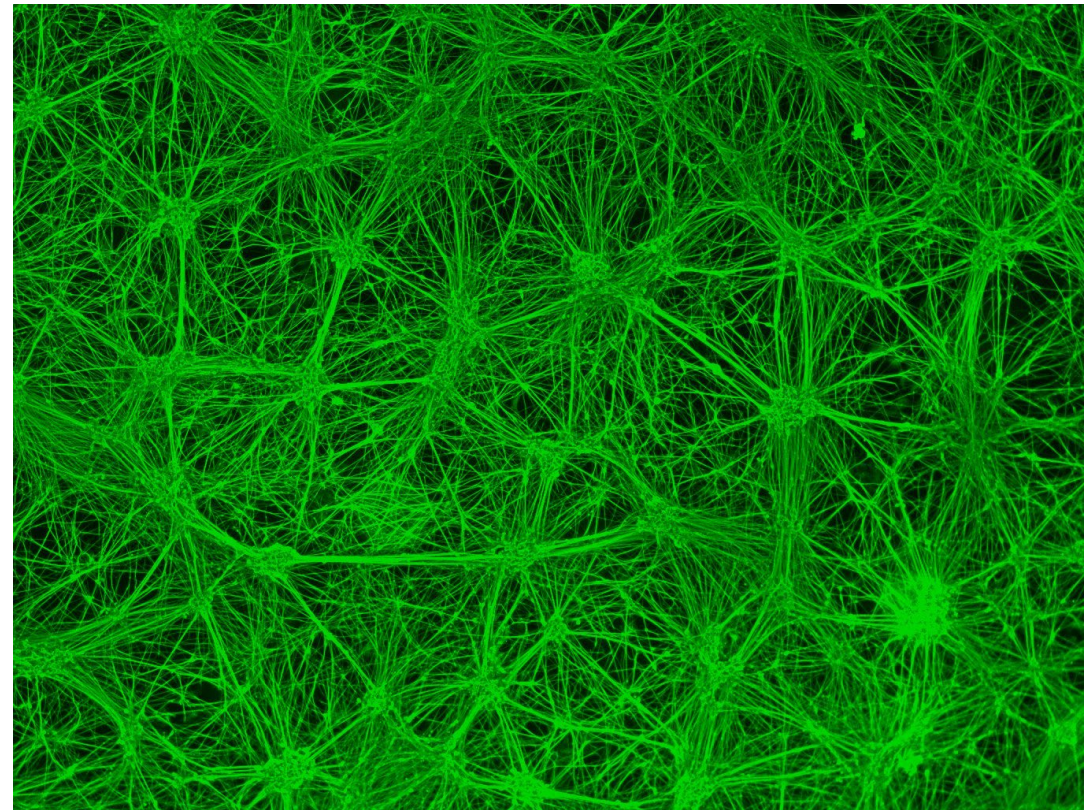
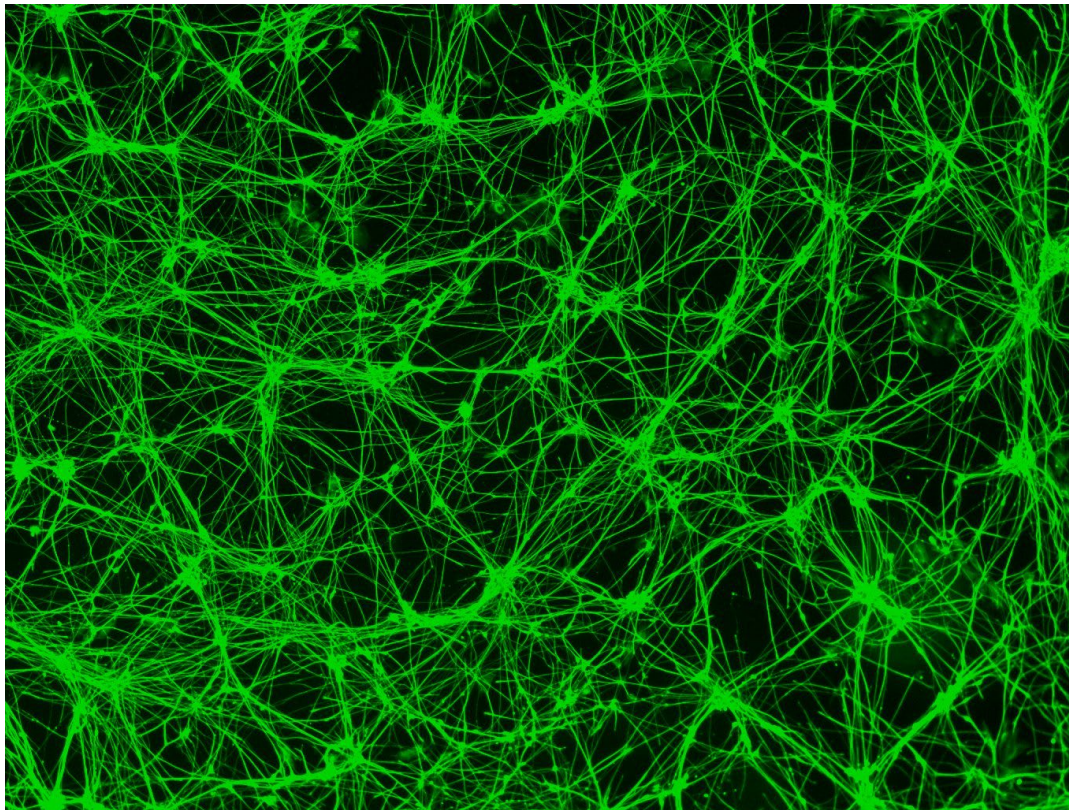


【検証データ(5)】

成熟ニューロンの作製効率が大幅に上昇する

野生型のTFを導入

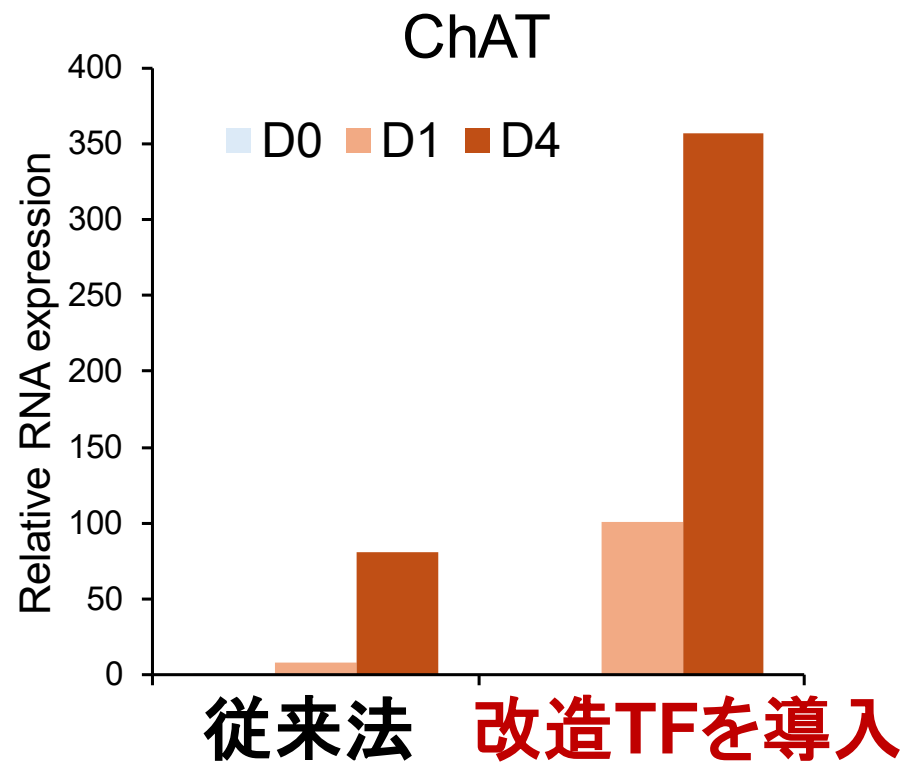
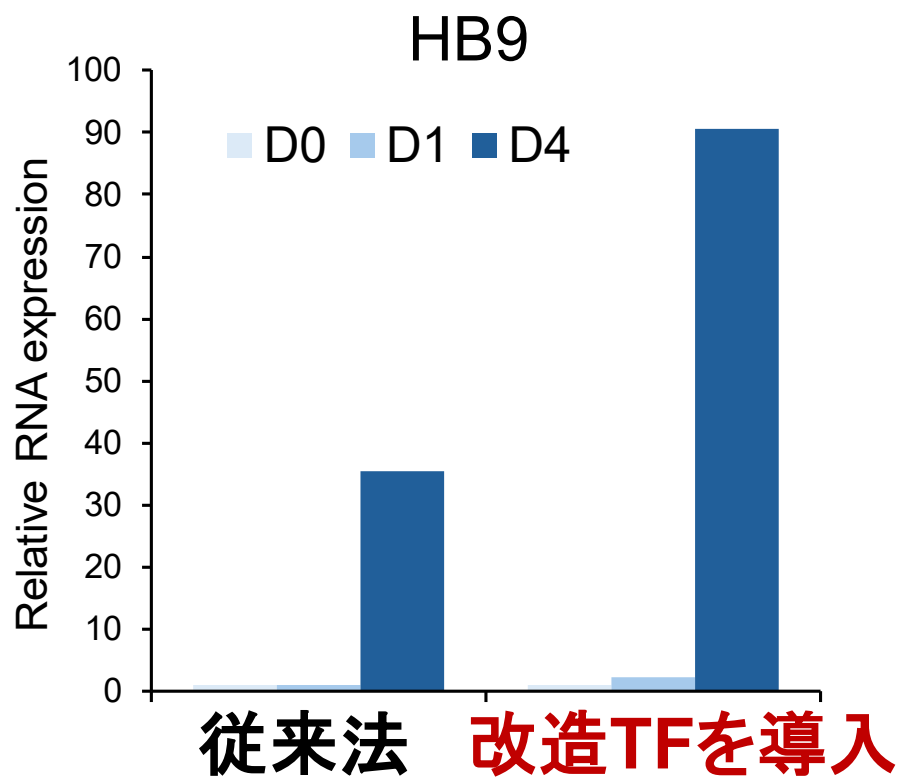
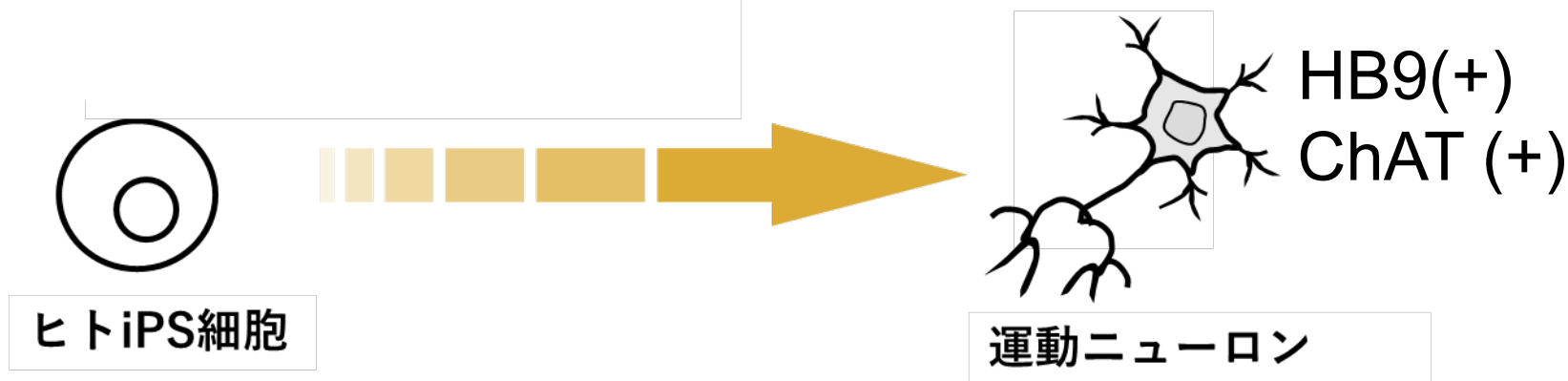
改造TFを導入



iPS細胞に転写因子を導入して1週間後の染色像。(緑)Tuj1抗体:ニューロンマーカー

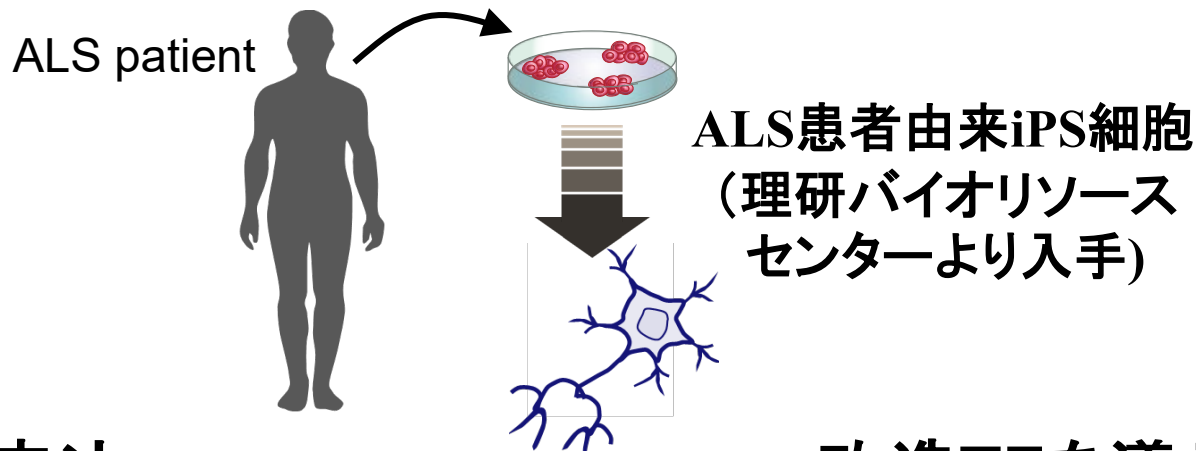
【検証データ(6)】

特定のニューロンへの分化誘導効率の上昇

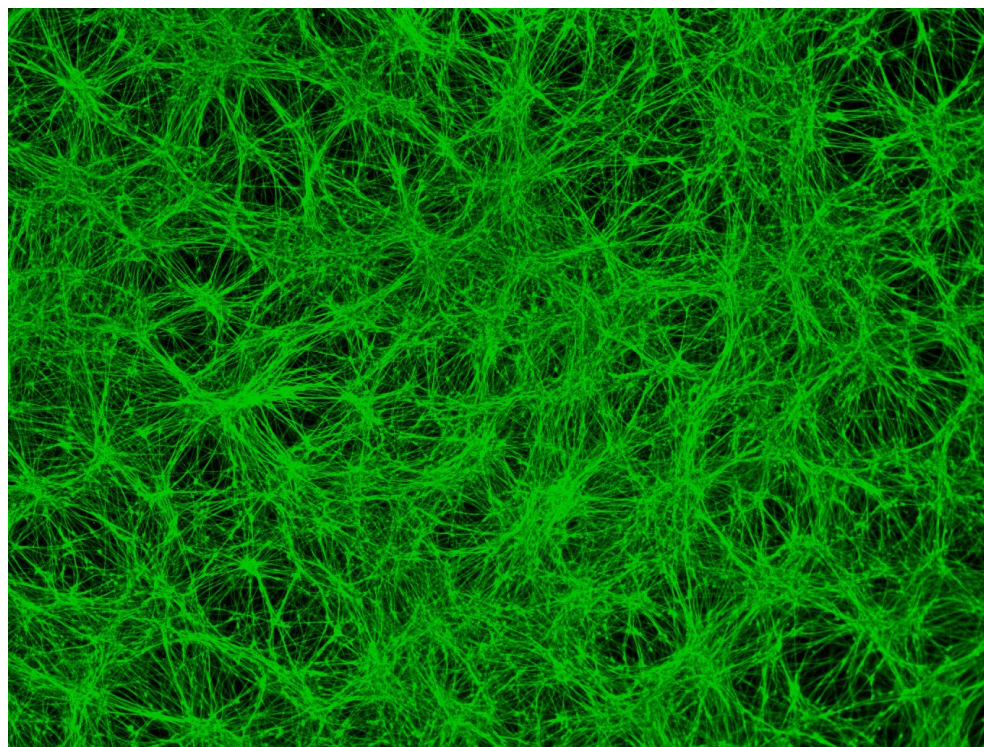
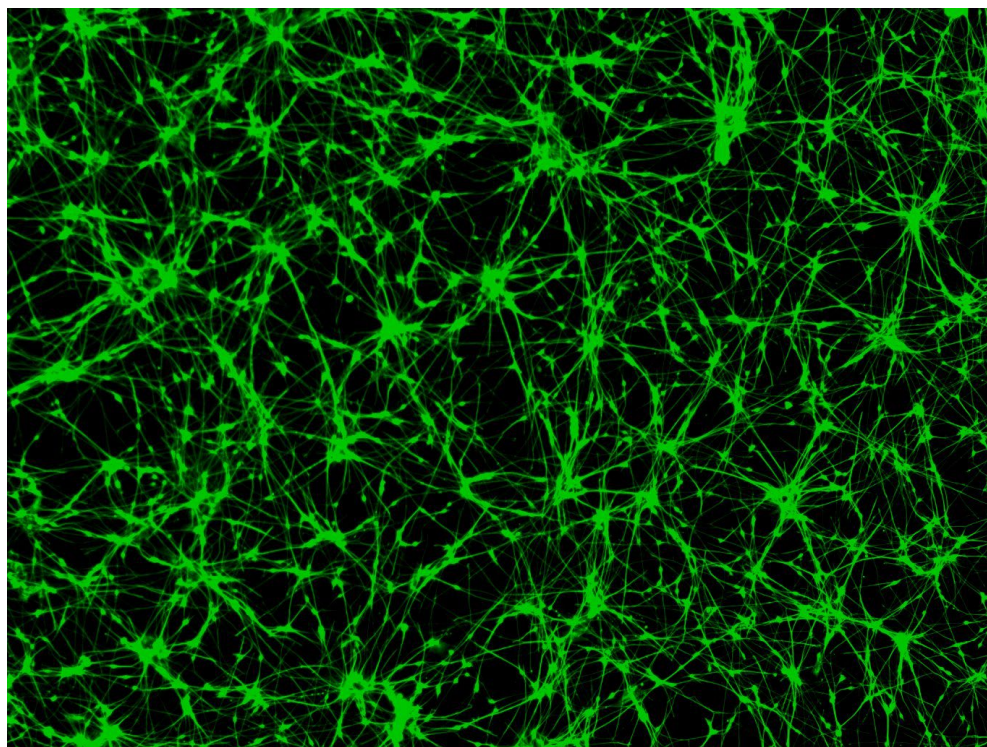


【検証データ(7)】

患者由来のニューロンの作製効率の上昇



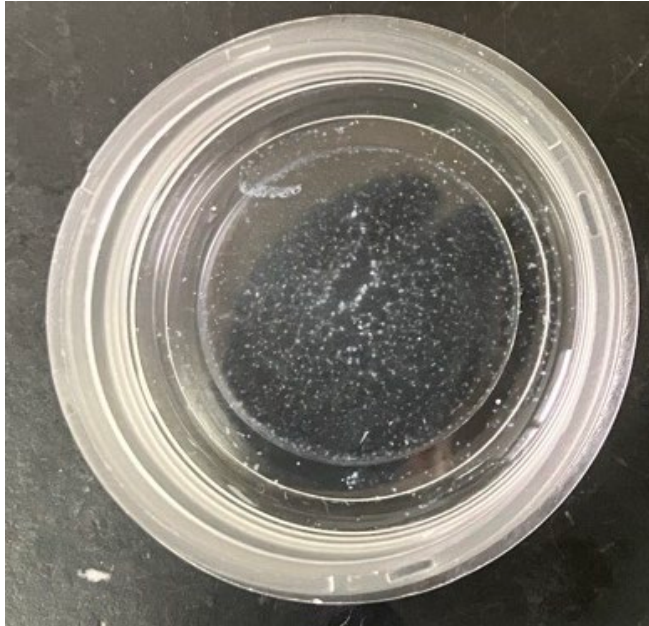
改造TFを導入



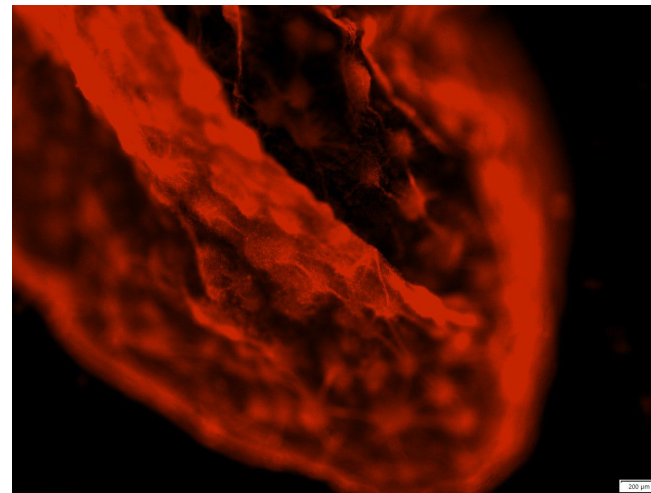
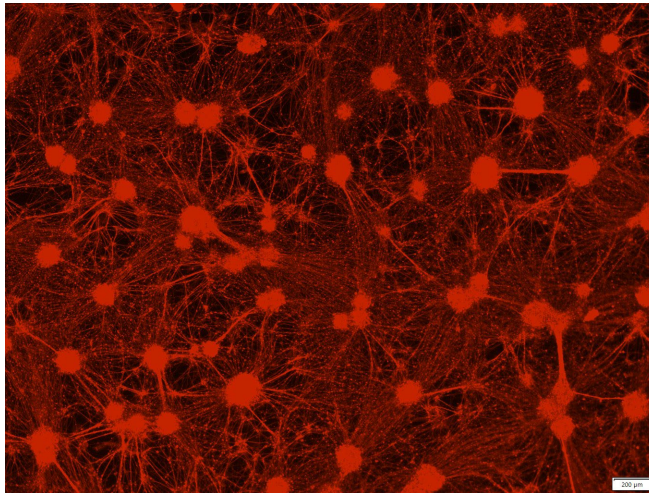
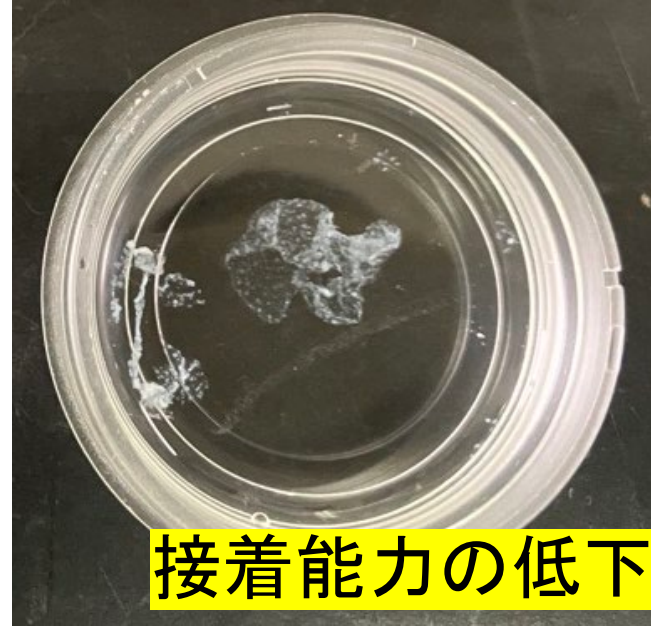
【検証データ(8)】

患者由来ニューロンの異常が検出できる

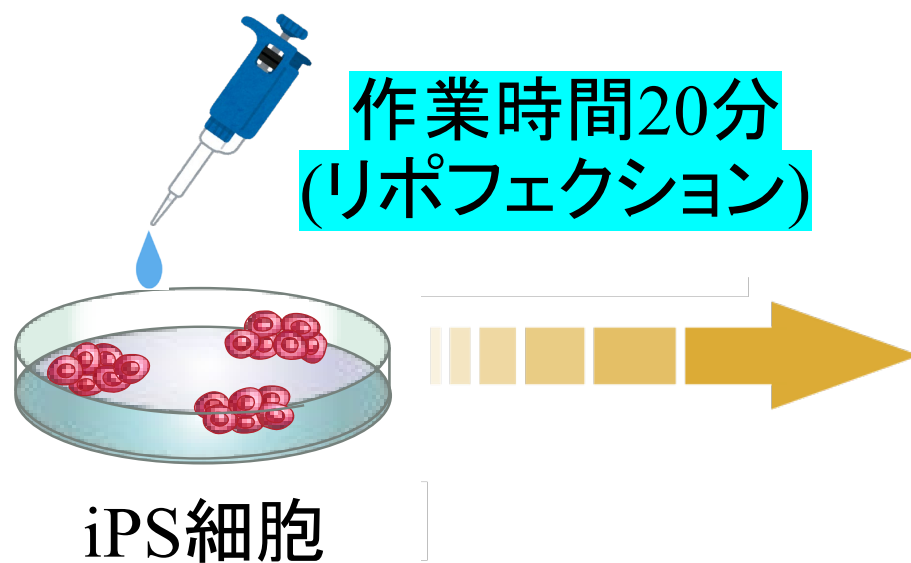
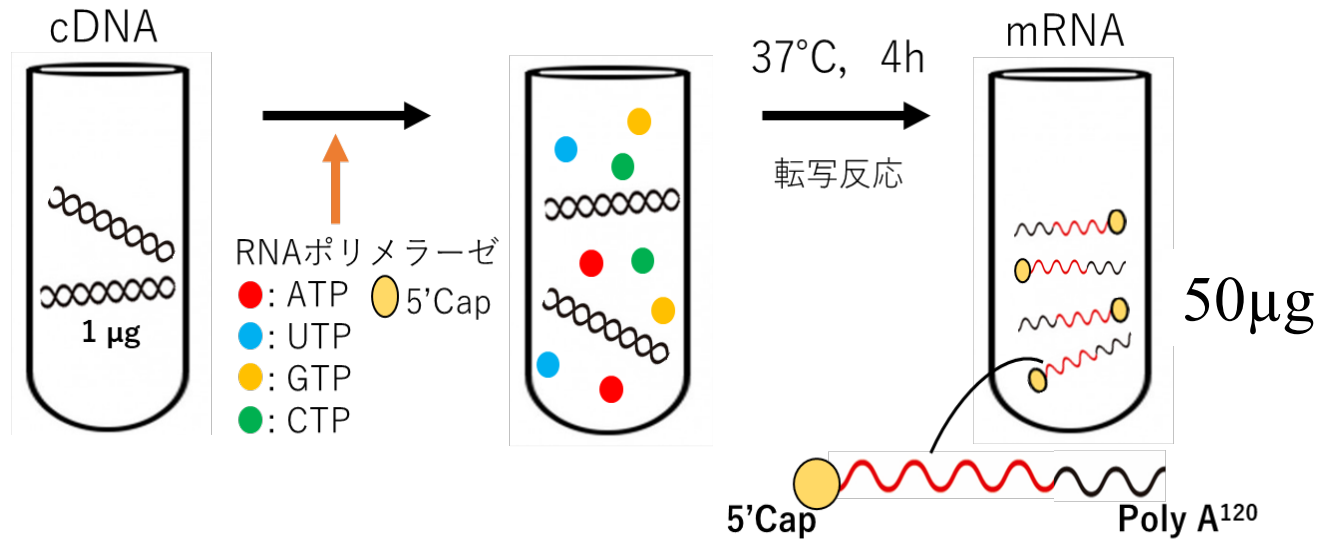
Healthy control



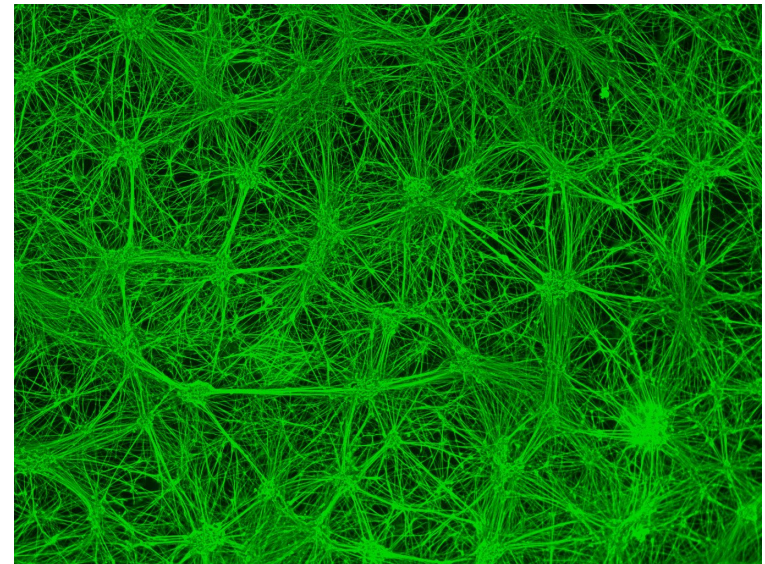
ALS patient



【改造転写因子の導入方法】



1週間後



新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術では転写因子の過剰導入が必要であったが、新技術では**転写因子の構造を改造**することで、その機能が最大限発揮されるようになり、分化効率を格段に上昇させることに成功した
- 従来技術に比べて新技術では未分化細胞を減らすことができるため、**腫瘍形成リスクを軽減**できる
- 従来技術に比べて新技術では転写因子の作製にかかる金銭的**コストを1/3**程度まで削減できた

想定される用途

- 本技術を「**分化誘導キット**」として実用化することで細胞作製の技術的ハードルを下げ、多くの研究者に研究機会を与えることに繋がる
- 転写因子の種類を変えることで、様々な**ニューロンサブタイプ**の**効率的な作製**が可能である
- 改造転写因子を用いて作製されたニューロンは、細胞移植治療などの**再生医療**、**病態研究**、**医薬品開発（創薬スクリーニング）**等への応用が期待される

実用化に向けた課題

- 従来技術と比較して分化効率を格段に上昇させることに成功したが、**改造転写因子によるニューロン分化の分子メカニズム**が十分に解明しきれていない（現在解析中）
- 改造転写因子を用いて作製したニューロンの**安全性および疾患モデルとしての有効性の評価**が未実施である

企業への期待

- **分化誘導キット**として実用化を希望
- 本技術の実用化に向けて、疾患モデル細胞の**定量的解析**や**評価**を行う技術を有する企業との共同研究を希望
- **生成AIの技術を有する企業**との共同研究により転写因子のアミノ酸配列をデザインしていきたい
- より優れた改造転写因子の作製に向けた**分子メカニズム**の解明に対して理解がある

企業への貢献、PRポイント

- 本技術はニューロンを効率よく、簡便に、低コストで作製できるため、難治性神経疾患研究や治療薬の開発をすでに行っている企業のみならず、**新規参入予定の企業**にも貢献できる点
- **ニューロン以外**の細胞の効率的な作製にも本技術を生かせる可能性がある点

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : ニューロンの生産方法
- 出願番号 : 特願2024-147263
- 出願人 : 公立大学法人横浜市立大学
- 発明者 : 秋山智彦、竹内麻里奈、
高橋秀尚

出願公開前ですので、本技術につきましてご関心いただきました企業様とはNDA締結後に具体的な相談をさせていただきたく存じます。

お問い合わせ先

公立大学法人横浜市立大学
研究・産学連携推進課 知財・契約担当

T E L 045-787-2061

e-mail sangaku@yokohama-cu.ac.jp