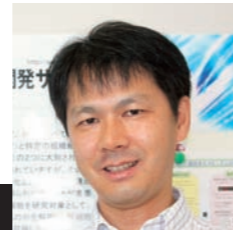


# 細胞運命情報解析技術開発サブチーム

Subteam for Manipulation of Cell Fate

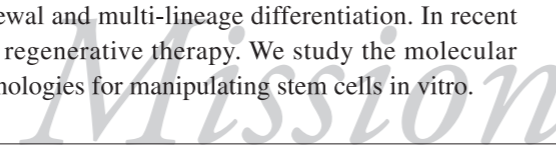


サブチームリーダー 三好 浩之 (理博)  
Hiroyuki MIYOSHI, Ph.D.

## ミッションと事業概要

幹細胞は、自己複製能と多分化能を持つ未分化な細胞で、近年、再生医療への応用に大きな期待が寄せられている。当チームでは、特に造血幹細胞と多能性幹細胞を研究対象として、どのようなメカニズムによって幹細胞の未分化性の維持、増殖、分化といった細胞の運命が決定されているのかを解明し、幹細胞の試験管内での人工操作を可能にするような技術開発を目指している。

Stem cells are defined as primitive cells capable of both self-renewal and multi-lineage differentiation. In recent years, stem cells have received much attention for their use in regenerative therapy. We study the molecular mechanisms that regulate stem cell fate and hopes to develop technologies for manipulating stem cells in vitro.



## 平成22年度の成果

### Development of Technology in 2010-2011

#### (1) 造血幹細胞の体外増幅のための技術開発

造血幹細胞の機能は、サイトカイン刺激による *in vitro* での培養、あるいは連続移植や加齢によって低下することが知られている。造血幹細胞の老化メカニズムを解明することにより、加齢に伴う血液疾患の治療や造血幹細胞の体外増幅技術の開発に繋がると考え、老齢マウスの造血幹細胞の解析を行っている。これまでに、老齢マウスの造血幹細胞では、細胞分裂周期が顕著に遅くなり、増殖能力が低下するとともに幹細胞能力の低下した未分化表現型の細胞を多く作り出すような機能変化が生じていることを明らかにした。現在、リプログラミング技術を利用して、老化した造血幹細胞から iPS 細胞を作製し、老化に伴う機能変化も初期化できるかどうかを検討している。

#### (1) Development of methods for ex vivo expansion of hematopoietic stem cells

Hematopoietic stem cell (HSC) function is known to decline during replicative stress such as serial transplantation, ex vivo culture with cytokines, or even normal aging. This may represent a difficulty of ex vivo expansion of HSCs without loss of stem cell activity. Therefore, understanding the mechanisms of HSC aging would provide useful information in achieving ex vivo expansion of HSCs. So far, we have revealed that the cell cycle progression of HSCs in old mice is significantly delayed. When cultured in vitro, HSCs from old mice have a greater capacity to give rise to cells with a primitive cell surface phenotype and reduced stem cell activity. Currently, we generate induced pluripotent stem (iPS) cells from senescent HSCs and characterize their function.

#### (2) 細胞老化の分子メカニズムに関する研究

線維芽細胞や造血幹細胞など多くの初代培養細胞には寿命があり、*in vitro* での分裂回数は有限で老化する。*in vitro* で細胞を不変的かつ無限に増幅するための技術開発を行うため、リプログラミング技術を利用して細胞老化のメカニズムを明らかにしたいと考えている。現在、分裂増殖が停止した老化ヒト線維芽細胞から iPS 細胞の樹立を試みている。これまでに、Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc の4因子のみの導入では、iPS 細胞を樹立することは極めて難しいことが判明した。強制的に細胞周期を進行させる SV40 Large T の発現や p53 の発現を抑制するなど、リプログラミングを促進する他の因子が必要であると考えられる。

#### (2) Investigation of the molecular mechanisms underlying cellular senescence

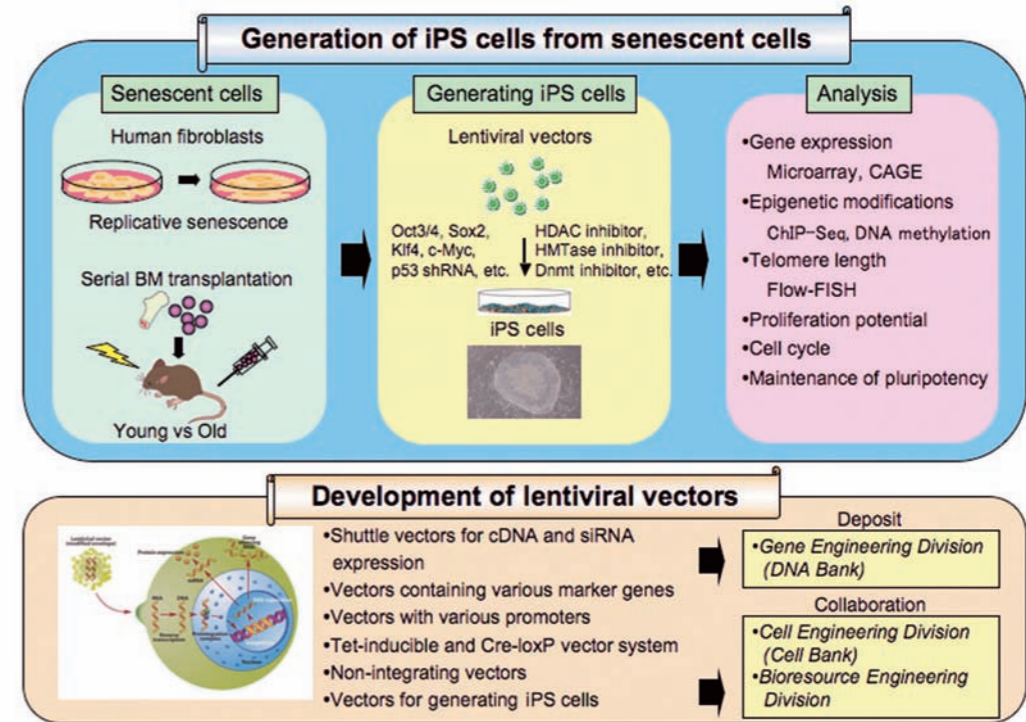
Most mammalian somatic cells have a limited replicative potential and therefore they undergo a terminal growth arrest after a finite number of divisions in culture, a process termed cellular senescence. To establish conditions for stable and infinite expansion of cultured cells, we study the molecular mechanisms underlying cellular senescence using the technology for reprogramming cells. We are currently trying to generate iPS cells from senescent human fibroblasts. However, it was found to be almost impossible to generate iPS cells from replicatively senescent cells with only 4 factors (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc). To achieve successful reprogramming, transient expression of SV40 large T antigen and shRNA targeting p53 together with cooperative factors are thought to be required.

#### (3) レンチウイルスベクターの開発と幹細胞研究での利用

細胞への遺伝子導入技術として基礎研究に幅広く利用できるよう、レンチウイルスベクターに様々な改良を行い、国内外の多数の研究者に遺伝子材料開発室を通して提供している。2010年は85人の研究者に提供した。iPS細胞樹立のための様々なレンチウイルスベクターを作製し、細胞材料開発室と遺伝工学基盤技術室との共同研究では、ヒトおよびウサギの細胞から iPS 細胞を樹立した。また、細胞周期をモニターする蛍光タンパク質融合遺伝子 (Fucci) を1つのベクターで発現できるように改良し、iPS細胞およびES細胞に導入してライブイメージング解析を行っている。

#### (3) Development of lentiviral vectors and their use in stem cell research

We have made many modifications to lentiviral vectors for using basic research and distributed these vectors to 85 scientists in 2010 via Gene Engineering Division. We have constructed a variety of lentiviral vectors for generating iPS cells and succeeded in generating iPS cells from human and rabbit cells in collaboration with Cell Engineering Division and Bioresource Engineering Division. We have also constructed an "all-in-one" lentiviral vector for expressing a fluorescent cell-cycle indicator (Fucci), and time-lapse imaging was performed to monitor the cell-cycle progression of iPS and ES cells.



## 職員とメンバー構成 Members

- サブチームリーダー [Subteam Leader]  
三好 浩之 Hiroyuki MIYOSHI, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]  
吉田 尚美 Naomi YOSHIDA, Ph.D.
- テクニカルスタッフII [Technical Staff II]  
榎谷内 純恵 Sumie TOGAYACHI
- アシスタント [Assistant]  
三宅 久美子 Kumiko MIYAKE
- 研修生 [Student Trainee]  
鹿島 幸太郎 Koutaro KASHIMA 橋爪 脩 Osamu HASHIZUME  
磯江 可奈子 Kanako ISOE 森田 早苗 Sanae MORITA  
楊 正博 Masahiro YOU 高木 瑞江 Mizue TAKAGI
- 研究支援パートタイマー [Part-Timer]  
野口 満美子 Mamiko NOGUCHI

