

細胞材料開発室

Cell Engineering Division



室長 中村 幸夫 (医博)
Yukio NAKAMURA, M.D., Ph.D.

ミッションと事業概要

約100年前に開発された細胞培養技術は、生命科学研究に大きな発展をもたらした。特に、長期培養が可能で繰り返して使用できる不死化細胞株の樹立は、より多くの研究者が共通して同質の研究材料を使用できるという画期的な状況を産み出した。当室では、研究者コミュニティで樹立された不死化細胞株を中心的に収集し、品質管理検査を厳密に実施し、実験再現性のある細胞材料を、広く国内外の研究者に提供する業務を遂行している。

Methods for culturing cells in vitro were first developed approximately 100 years ago and they have been vital for many studies that have contributed very considerably to the development of the life sciences. In particular, establishment of immortalized cell lines has enabled the repeated use of defined cell types by many scientists as a common research resource. Our division is principally concerned with collecting and providing such immortalized cell lines. Additionally, we perform the important function of quality control of the cell lines so as to ensure the reproducibility of experimental results using these cell lines.

バイオリソースの収集・保存・提供 Collection, Preservation and Distribution

(1) バイオリソースの収集

研究には複数種類の細胞材料が必要となることが多いが、必要となる細胞を多数の研究者又は機関から個別に調達しなければいけない状況は、研究の迅速な発展の妨げとなる。そこで、様々な細胞材料を一括して集中的に管理する細胞バンク事業が重要な役割を果たすことになる。また、細胞株を樹立した研究者が現役を退いた後には、樹立研究者に代わって細胞を管理する組織が存在しなければ、貴重な細胞株材料は消滅することになってしまう。従って、貴重な細胞材料の恒久的な利用という観点からも細胞バンク事業が必須である。加えて、近年の医学を含む生命科学分野の発展に伴う研究の細分化によって、研究に必要な細胞材料はきわめて多岐にわたることとなったため、益々もって細胞バンク事業の役割が重要となっている。近年最も重要性を増しているのはiPS細胞である。

上記のような研究者コミュニティのニーズに応えるべく、理研細胞バンクでは、より多くの細胞材料を収集する努力を続けている。従来の細胞バンク事業の中心は上述した不死化細胞株であったが、近年隆盛している再生医学研究分野においては、体性幹細胞のようなプライマリー細胞のニーズも高くなっており、こうした細胞材料の収集・提供にも取り組んでいる。特に、ヒト由来の体性幹細胞のようなプライマリー細胞の利用には倫理的な対応も重要であるため、こうした対

応を含めて一般の研究者がヒト細胞をより迅速に使用でき体制の整備に努めている。

(1) Collection of bioresources

In many types of research, multiple different cell lines are required. The gathering of these resources from other scientists or institutes can be a laborious process and can cause significant delay to the research. Thus, a Cell Bank that holds a wide range of preserved cell lines offers a considerable benefit to the life sciences research community. In addition, in the absence of such a facility, it is likely that many precious cell lines might be lost, for example, after retirement of the scientists who originally established the cell lines. The Cell Bank is therefore also essential for the sustainable preservation of cell materials. Furthermore, due to the current diversity of research topics across the whole spectrum of biological sciences, the cell materials required by the life sciences research community are increasing exponentially. Thus, the role of the Cell Bank is expanding and becoming increasingly more important. The most important recent topic relating to cell materials is the induced Pluripotent Stem (iPS) cells.

In order to respond to the high demands of the life sciences research community, the RIKEN Cell Bank is enthusiastically collecting new cell materials. Until recently, the main cell materials were immortalized cell lines, such as human cancer cell lines. However, researchers in the fields of regenerative

medicine and developmental biology now have increasing need of primary cells (non-cultured cells or cells cultured for a short term), such as somatic stem cells. Therefore, the RIKEN Cell Bank has established a system for collecting such cells and is now able to provide human umbilical cord blood cells and human mesenchymal stem cells. Needless to say, the appropriate ethical issues have been considered and taken into account in our use of such human cell materials. All of the procedures relating to human cells received the approval of the ethical committee of the RIKEN Tsukuba Institute before their initiation.

(2) バイオリソースの保存・整備

科学とは、時と場所を超えて再現可能な「事実（真理）」や「技術」を発見したり開発したりすることである。従って、科学材料である細胞自身にも材料としての再現性が要求される。細胞バンク機関が細胞を保存・整備するということは、実験再現性の担保された細胞を確認し、これを維持する、ということに他ならない。

細胞の基本的な品質管理として、「微生物汚染」と「他の細胞との誤認」に関する検査がある。微生物汚染としては、細菌、真菌、ウイルスなどのありとあらゆる微生物汚染の可能性があるが、最も注意を払わなければいけないのが、マイコプラズマ汚染である。何故ならば、マイコプラズマ汚染を起こした細胞のほとんどは死滅することなくそのまま増え続けるからである。細胞バンクでは古くからマイコプラズマ汚染検査をルーチン検査として取り入れ、マイコプラズマ汚染のない細胞を提供している。

細胞は形態的にはきわめて類似した細胞が多く、ほとんどの細胞に関して形態観察のみでは区別が不可能である。それ故に、遺伝子レベルでの識別検査が開発される以前の段

階で、細胞誤認（他の細胞株との取り違い）ということが多発してしまった。現在では、遺伝子多型解析を用いた検査により、細胞誤認を検出可能であり、当該検査は世界の主要な細胞バンクにおいてルーチン検査となっている。

(2) Preservation of bioresources

The aim of science is to discover fundamental truths and, as a direct or indirect consequence, new technologies may be developed. The insights and technologies derived from scientific research must be reproducible in time and space. To ensure such reproducibility, the quality of experimental materials is very critical. The most important contribution of the Cell Bank to ensuring reproducibility is the stringent quality control of cell materials.

There are two characteristics of cell materials that are essential for maintenance of quality: freedom from contamination by microorganisms; and free of misidentification. Many different microorganisms, such as bacteria, fungi, viruses, and mycoplasmas, can infect cell cultures. Contamination by bacteria or fungi is less of a problem since they tend to overwhelm the culture and cause it to be discarded. In contrast, mycoplasma infection is very problematic, since infected cells can survive, usually without any effects on cell growth. Therefore, cell banks around the world routinely carry out examination of cell cultures for mycoplasma infection.

Most cultured cells share a similar range of morphologies irrespective of their origin. For example, adherent cells can be separated into a small number of categories, e.g. fibroblast-like cells, epithelial-like cells, etc. Thus, it is impossible to distinguish cell lines solely by morphology. This characteristic of cultured cells has resulted in many cases of misidentification

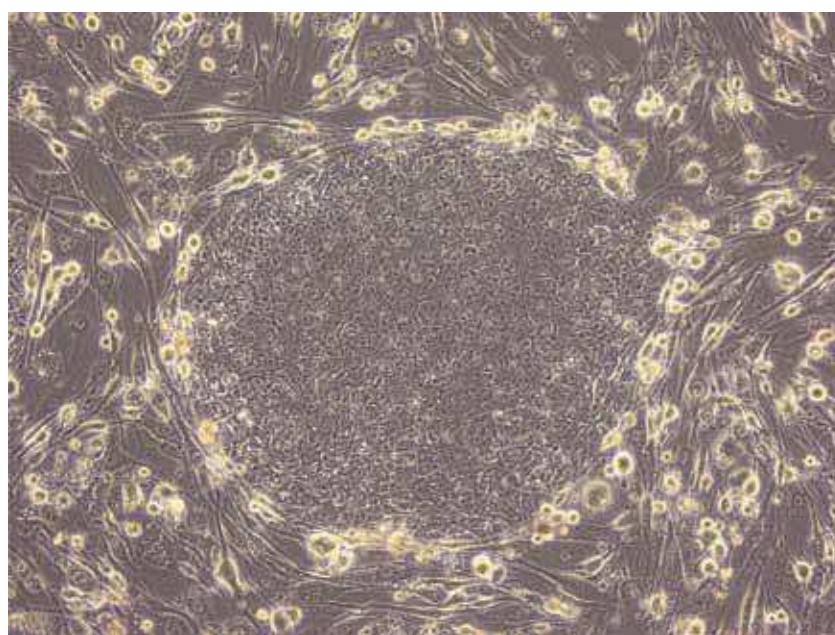


図1. ヒト人工多能性幹細胞（iPS細胞）

Fig.1 Human induced Pluripotent Stem (iPS) cells.

of cell lines. Nowadays, molecular genetic techniques have been established to enable detection of misidentification and the major cell banks around the world routinely perform these analyses to ensure provision of cells free of misidentification.

(3) バイオリソースの提供

細胞バンクが細胞を一括管理することの意義は、研究に必要な細胞材料のすべてを研究者は細胞バンクから一度に入手できることである。「一度に入手できる。」とは、言い換えれば、必要な細胞を即座に入手できるということである。幸いなことに、細胞材料（特に不死化細胞株）はほぼ例外なく凍結保存が可能であるため、即時提供可能な状態に整備することが可能である。理研細胞バンクでは、これまでに約2,000種類の細胞を即時提供可能な状態に整備している。その数は、今後も順次増やしていく予定である。ここ数年の年間提供総数は5,000件以上に達しており、国の内外、非営利機関・営利機関を含め、広く多くの研究者に細胞材料を提供し、生命科学研究分野に貢献している。

(3) Distribution of bioresources

One requirement of a Cell Bank is to provide all of the cell lines requested by researchers at the same time, i.e., to produce and dispatch the requested cell lines in as short a time as is feasible. Fortunately, the vast majority of cell lines can be easily cryopreserved, and thus it is a relatively straightforward process to prepare cells for immediate supply. At the moment, the RIKEN Cell Bank possesses approximately 2,000 cell lines as immediately available cells, and the number of lines is gradually increasing. In the 2013 fiscal year, the RIKEN Cell Bank provided more than 5,000 cell samples to institutes around the world, including not-for-profit and commercial institutes. Thus, our service provides an essential infrastructure for sustainable and rapid development of the life sciences.

平成25年度の成果

Development of Technology in 2013-2014

疾患特異的iPS細胞の整備

京大山中伸弥教授が開発した人工多能性幹細胞（induced Pluripotent Stem cells: iPS細胞）樹立技術は、生命科学研究分野に新しいページを開く画期的な技術であり、山中教授は2012年のノーベル生理学医学賞を受賞した。理研細胞バンクは、山中教授グループが樹立したiPS細胞に関する世界で唯一の細胞バンク機関として、その整備・提供を実施している。iPS細胞技術は、再生医学研究分野のみならず、疾患研究への応用も期待されている。例えば、脳神経疾患の患者から脳神経を採取することは不可能であるが、患者の皮膚細胞等からiPS細胞を樹立し、そのiPS細胞から脳神経細胞を作成（分化誘導）すれば、これを「疾患モデル細胞」として疾患研究に応用することが可能である。また、創薬研究等の応用分野での活用も可能である。最近では末梢血中の細胞を用いてiPS細胞を樹立することも可能となっており、疾患患者からiPS細胞を樹立することが益々容易になってきた。理研細胞バンクでは、急増するiPS細胞の寄託に迅速に対応するべく、品質管理や大量培養に係る技術開発に取り組んでいる。

Development of technologies for iPS cell

The technology for establishing iPS cells was developed by Dr. Yamanaka of Kyoto University, Japan, and was a landmark breakthrough in life sciences. Dr. Yamanaka won the Nobel Prize in 2012. The RIKEN Cell Bank is providing all of the iPS cell lines that Dr. Yamanaka has established and has described in publications in major scientific journals such as Nature, Science, and Cell. The technology for establishing iPS cell lines is attracting the attention of researchers not only in the field of regenerative medicine but also in the field of disease research. For example, it is possible to obtain neural cells from iPS cells

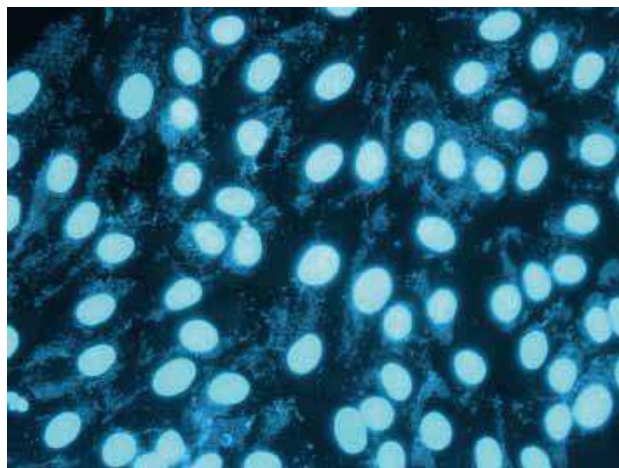
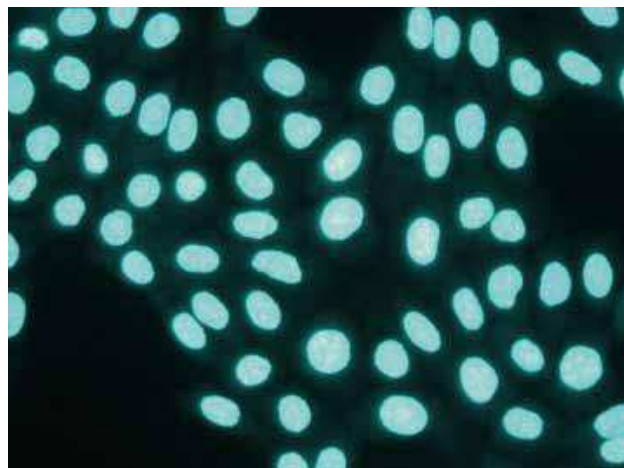


図2. マイコプラズマ汚染検査。陰性細胞（左）と陽性細胞（右）。

Fig.2 Mycoplasma infection. Negative cells (left) and positive cells (right)

established using cells from patients with neural disease. Such iPS cells are termed disease-specific iPS cells. The RIKEN Cell Bank is developing technologies for efficient culture and quality control of iPS cells so as to prepare many iPS cell lines as short a time as possible in a good quality.

平成25年度のトピックス Topics in 2013-2014

前駆細胞株の樹立

当室では、独自に新規細胞材料を樹立する技術を開発し、細胞材料が生命科学研究分野においてさらに広く多く利用されることを目指している。近年は、多能性幹細胞（ES/iPS細胞）が大きな注目を浴びているが、特定の細胞にしか分化することのできない前駆細胞株も、様々な研究においてきわめて有用なものである。実際に、特定の分化能を有する細胞株は、当室からの提供が多い細胞株の上位に常に位置している。当室では以前に、成熟赤血球に分化するマウス赤血球前駆細胞株の樹立に成功していた。その後、同様なヒト赤血球前駆細胞株の樹立にも成功し、2013年3月に論文発表した(Kurita R *et al.*, *PLoS ONE*, 2013)。こうした成果は、他の前駆細胞株、例えば肝細胞や筋肉細胞等の前駆細胞株が樹立できる可能性を示唆しており、今後そうした細胞株が増えることを期待できる。

Establishment of progenitor cell lines

It is also a mission of our division to develop new cell materials able to contribute life science community. Although pluripotent stem cells such as ES cells and iPS cells are very useful cell materials, the progenitor cell lines able to differentiate to certain functionally mature cells are also useful in many fields. In fact, we are providing many number of such cell lines every year. We have previously succeeded to establish mouse erythroid progenitor cell lines able to produce enucleated red blood cells. Recently, we succeeded to establish human erythroid progenitor cell lines able to produce enucleated red blood cells and published it in 2013 (Kurita R *et al.*, *PLoS ONE*, 2013). This result indicates that other kinds of progenitor cell line can be established from many other tissues as well.

職員とメンバー構成

Members

- 室長 [Head of Cell Engineering Division]
中村 幸夫 Yukio NAKAMURA, M.D., Ph.D.
- 事業推進ユニットリーダー [Unit Leader of Resource Advancement Unit]
西條 薫 Kaoru SAIJO
- 専任研究員 [Senior Research Scientist]
寛山 隆 Takashi HIROYAMA, Ph.D.
- 技師 [Technical Scientist]
藤岡 剛 Tsuyoshi FUJIOKA
- 協力研究員 [Contract Researcher]
須藤 和寛 Kazuhiro SUDO, Ph.D.
- 基礎科学特別研究員 [Special Postdoctoral Researcher]
山田 康嗣 Koji YAMADA, Ph.D.
- 開発技師 [Technical Scientist]
野口 道也 Michiya NOGUCHI, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
飯村 恵美 Emi IIMURA 栗田 香苗 Kanae KURITA
小川 早英里 Saeri OGAWA 磯村 尚子 Naoko ISOMURA
- アシスタント [Assistant]
高井 則子 Noriko TAKAI 江原 多賀子 Takako EHERA
- 研究生 [Research Fellow]
中村 由美子 Yumiko NAKAMURA, Ph.D. 玉川 朝治 Tomoharu TAMAGAWA, Ph.D.
- 研修生 [Student Trainee]
山田 武史 Takeshi YAMADA, M.D. 今川 和生 Kazuo IMAGAWA, M.D.
- 派遣職員 [Agency Staff]
内山 幸子 Sachiko UCHIYAMA 浜田 裕子 Yuko HAMADA
杉山 孝子 Takako SUGIYAMA 新倉 潤子 Jyunko NIKKURA
穴戸 牧子 Makiko SHISHIDO 小野木 成美 Narumi ONOGI
岡田 奈緒子 Naoko OKADA 加納 千比呂 Chihiro KANO
福田 龍樹 Tatsuki FUKUDA 羽鳥 真功 Masanori HATORI
須田 教子 Kyoko SUDA 水越 久美子 Kumiko MIZUKOSHI
城田 涼子 Ryoko SHIROTA 古渡 恵 Megumi FURUWATARI
- パートタイマー [Part-Timer]
永吉 真利子 Mariko NAGAYOSHI 小平 洋子 Yoko KODAIRA
中村 真理子 Mariko NAKAMURA 青木 ひろみ Hiromi AOKI
渡邊 京子 Kyoko WATANABE

