

疾患モデル素子製作をめざした ヒト iPS 細胞の運動ニューロンへの分化誘導

Neural differentiation of human iPS cells aiming at disease model chip production

名大¹, JST-CREST²

○小林 啓^{1,2}, 村上 真菜^{1,2}, 長岡 靖崇^{1,2},

王 志宏^{1,2}, 宇野 秀隆^{1,2}, 宇理須 恒雄^{1,2}

Nagoya Univ.¹, JST-CREST²,

○Kei Kobayashi^{1,2}, Mana Murakami^{1,2}, Yasutaka Nagaoka^{1,2},

Zhi-Hong Wang^{1,2}, Hidetaka Uno^{1,2}, Tsuneo Urisu^{1,2}

E-mail: kei.kobayashi@nanobio.nagoya-u.ac.jp

iPS 細胞の発明は、ALS（筋萎縮性側索硬化症）などの脳神経系疾患の患者が存命の段階で、患者の脳神経細胞を取り扱うことを可能にした。本研究は、iPS 細胞から分化誘導した運動ニューロンを、セルパターンを有する培養基板上に播種した後に培養し、疾患を表現する神経細胞ネットワークを形成することを目指しており、現在、培養基板および培養型プレーナーパッチクランプによる神経細胞ネットワークハイスループットスクリーニング装置の開発と同時に、培養基板上に播種する運動ニューロンを獲得するために、罹患していないコントロールおよび ALS 疾患患者から樹立したヒト iPS 細胞の分化誘導を行っている。iPS 細胞を高効率で運動ニューロンに分化誘導するためには、【1】iPS 細胞から運動ニューロンに分化する前の神経幹細胞への分化誘導効率を高めること、および【2】神経幹細胞から運動ニューロンまでの分化誘導において、運動ニューロンへの分化誘導効率を高めること、等が考えられる。本研究ではこれらの点に留意して、iPS 細胞から運動ニューロンを分化誘導し、その後、培養基板に播種することにした。

iPS 細胞は、AggreWellTM800 (STEMCELL Technologies) を用いて、細胞を均一の細胞数に調整して凝集させた胚様体 (Embryoid Body(EB)) を形成させた(Fig. 1)。その後、運動ニューロンへの分化誘導を行った。分化誘導および運動ニューロンの成熟後、播種前の細胞群から抽出した RNA から定量 PCR を行い、特定の細胞で発現する遺伝子の mRNA について、GAPDH mRNA に対する相対量を算出し、細胞の分化状態を検討した。播種後、基板に接着した細胞について免疫染色を行い、基板に付着した細胞の同定を行った(Fig. 2)。

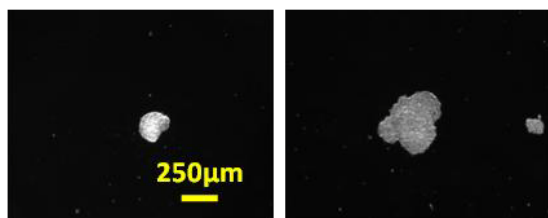


Fig. 1 Formation of embryoid bodies (EBs) using AggreWellTM800 plate. The numbers of iPS cells per EBs were 10,000 (left) and 20,000 (right), respectively.

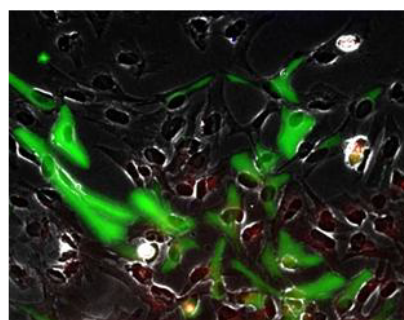


Fig. 2 Cells immunostained with antibodies against GFAP (green, astrocyte), HB9 (red, matured motor neuron) and Olig-2 (blue, immature motor neuron).