



iPS 細胞の多能性評価に向けた非線形分光イメージング

Toward evaluation of the pluripotency of iPS cells using nonlinear optical spectroscopic imaging

○(PC)米山弘亮¹、瀬川尋貴²、西村健³、福田綾³、久武幸司³、加納英明¹

(1. 筑波大・数理、2. 東大院・理、3. 筑波大・医)

○(PC)Hiroaki Yoneyama¹, Hiroki Segawa², Nishimura Ken³, Fukuda Aya³, Hisatake Koji³, and Hideaki Kano¹

(1. Institute of Applied Physics, Tsukuba Univ., 2. School of Science, The University of Tokyo,

3. Faculty of Medicine, Tsukuba Univ.)

E-mail: s1420376@u.tsukuba.ac.jp

現在、iPS 細胞を再生医療へ応用する研究が盛んに進められている。しかしながら、十分な多能性の有る良質な iPS 細胞を選別する方法が未だに確立されていない。移植の際に多能性の無い細胞が混入すると、生体組織内に腫瘍を形成する可能性があるため、再生医療への大きな妨げとなっている。

そこで本研究では、非線形ラマン分光イメージング法を用いて、非破壊・非侵襲・非染色・非標識にて iPS 細胞の分子イメージングを行い、多能性の有る良質な iPS 細胞を識別・スクリーニングする方法の開発を試みた。

本研究では、二種類の iPS 細胞を用いた。一つは通常通り準備した良質の iPS 細胞、もう一つは、体細胞に導入する Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc の 4 つの転写因子のうち、Klf4 の導入量を減らすことでできる、多能性の無い細胞である[1]。両者の違いは、多能性発現の識別マーカーの一つである Nanog 遺伝子の発現の有無で確認できる。測定には、研究室で開発したマルチプレックス CARS 分光システムを用いた。Nanog 遺伝子の発現を GFP による蛍光イメージングで確認しながら、CARS 測定を行った。

通常通り培養した iPS 細胞の実験結果を図 1、図 2 に示す。図 1 は図 2 の矢印で示した細胞核内の核小体と思われる領域のスペクトルであり、主にたんぱく質、核酸に由来するラマンバンドが観測された。図 2 には各ラマンバンドを基に再構成したイメージを示す。

以上のように、iPS 細胞コロニーの分子分布を非染色にて可視化することが出来た。

[1] K. Nishimura et al. Stem cell reports 3, 915-929 (2014)

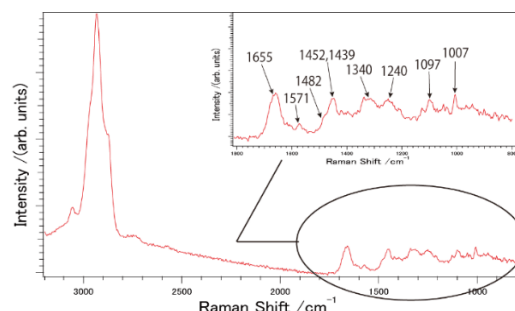


図 1 iPS 細胞の核小体の位置(図 2 矢印)

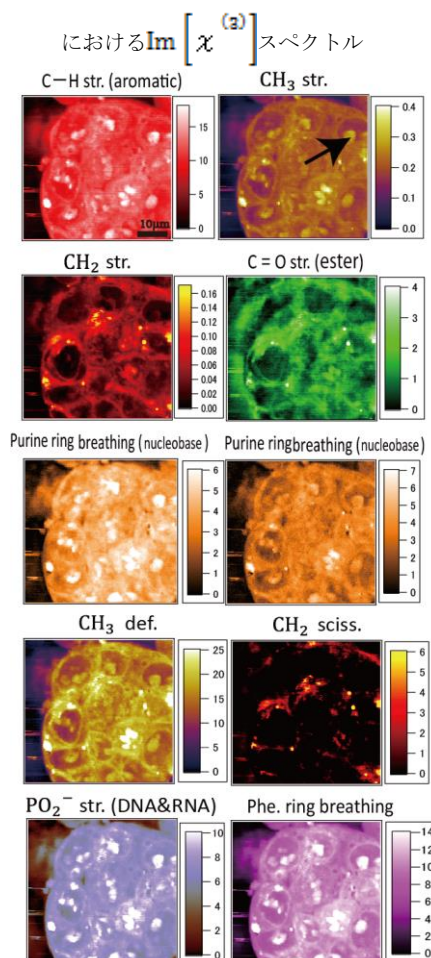


図 2 iPS 細胞の CARS 分光イメージ