技 術 習 得 報 告 書

提出日　24 年　8 月　6 日

申　　請　　者	氏　　名	八田　俊介
	所属・職	血液・免疫病学分野　博士課程２年
出　張　期　間	2012 年　　4 月　　2 日　～　　8 月　　1 日	
出　　張　　先	財団法人先端医療振興財団	
出　張　目　的	技術習得	
研　究　課　題　名	GATA2 変異によるがん化メカニズムの解明	

技術解説・プロトコル・得られた成果など

GATA2 変異に関連した MDS/AML 患者由来の iPS 細胞を作製し、血球系へ再分化させることで、GATA2 変異によるがん化メカニズムの解明を目的とする。患者由来と健常人の骨髄血から MSC を作製し、先端医療振興財団にて Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc を組み込んだセンダイウイルスベクターを MSC に初期化因子を導入する。感染後は、マイトマイシン C 処理で不活化した SNL フィーダー細胞あるいは無フィーダー条件下で、ES medium で培養を行いながら、iPS 細胞が樹立されてくるのを待つ。iPS 細胞様のコロニーが形成されれば、ALP 染色、Oct3/4、Nanog、SSEA3 などの未分化マーカーを用いた免疫染色、SCID マウスを用いて teratoma を形成させることで、多能性を確認する。樹立された GATA2 変異 iPS 細胞と健常人 iPS 細胞を、血球系へ再分化をさせながら比較検討を行い、GATA2 変異によるがん化メカニズムの解明を行っていく。まず、MSC に対するセンダイウイルスベクターの感染効率を、GFP 発現センダイウイルスベクターを用いて確認した。その後、Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc を組み込んだセンダイウイルスベクターを 20 M.O.I で 1.0×10^4 個の MSC に感染させた。感染後 day4 に SNL と Pronectin F に再播種し、ES medium で培養した。day7 頃より、MSC の形態変化と一部コロニー形成を認めたものの、pick up 可能な iPS 細胞までは樹立できなかった。

今後、nanog を組み込んだセンダイウイルスベクターの追加、細胞の播種密度など、さらなる条件検討を行いながら、iPS 細胞の樹立を再度試みる予定である。

また、先端医療振興財団にて既に樹立されているヒト iPS 細胞を用いて、フィーダー、無フィーダーでのヒト iPS 細胞の培養や teratoma 形成などの技術を学んでいる。

※　出張後 10 日以内に報告書を提出してください。 HP に掲載することがあります。
※　技術解説・プロトコルに焦点をあてたものを記載してください。
※　可能であれば写真も添付してください。
※　用紙が不足する場合は、適宜加えてください。