

2022年4月30日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
2021年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）
所属：産業技術総合研究所
健康医工学研究部門
職名：研究員
氏名：森川 久未

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題： 光操作技術を用いたヒト心臓の発生と拍動制御機構の解明
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 末盛 博文
3. 研究期間： 2021年4月1日～2022年3月31日
4. 研究経過及び研究成果：

ヒト心臓は生体から直接採取することが困難であるため、その拍動制御機構は解析が進んでいない。そこで本研究では、ヒト ES/iPS 細胞由来心臓オルガノイドによりヒト心臓を再現し、この心臓オルガノイドと光操作技術を用いた時期・部位特異的な遺伝子の過剰発現やノックアウト、分化誘導過程における細胞追跡の実験系を組み合わせることにより、ヒト心臓の発生過程や拍動制御機構の解明を目指すことを目標としている。

今年度は光操作を可能とするヒト ES/iPS 細胞株の樹立を進めてきた。光操作ツールには、我々が開発してきた PA-Cre3.0 を用いる (Morikawa K, et al. *Nat Commun.* 2020)。まず、ヒト ES/iPS 細胞において、恒常的に PA-Cre3.0 を発現できる恒常発現ベクターを構築した。作製したベクターを培養細胞で一過性に発現し、青色光を照射すると、PA-Cre の活性化が引き起こされることが判明した。さらに、暗所群ではほぼ全く活性化が起こらないことも判明している。これで、デザインした通りにベクターが機能することがわかったので、続いて恒常発現ベクターを、Nucleofection 法によりヒト iPS 細胞へ導入した。G418 による選択培養後、計 33 株のストックを作製した。また、細胞株の樹立と同時に青色光照射によるスクリーニングを行い、31 株で青色光照射時に PA-Cre が活性化することを確認している。現在、PA-Cre による組換え効率の最も高かった 3 株を用いて、心筋分化誘導時の PA-Cre の活性化と、細胞系譜追跡の検証を

進めている段階である。さらに、ヒト ES 細胞についても同様方法で細胞株の樹立を進めている。現在までに、PA-Cre の恒常発現ベクターを遺伝子導入した 44 株の樹立を完了し、今後細胞株のスクリーニングを進めていく予定である。

5. 研究成果の公表

【学会発表】

1. 森川久未

光操作技術 PA-Cre による発生解析アプリケーションの開発
第 44 回日本分子生物学会年会（2021 年 12 月 1 日）

2. 森川久未

光遺伝学技術: PA-Cre3.0 による生命現象の時空間解析手法の確立
第 20 回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会（2022 年 6 月 28, 29 日）