

## 饗庭 一博

京都大学 物質-細胞統合システム拠点  
NPO法人 幹細胞創薬研究所



### [略歴]

- 1989年 3月 筑波大学第二学群生物学類卒業
- 1989年 4月 筑波大学大学院生物科学研究科博士課程入学
- 1994年 3月 筑波大学大学院生物科学研究科博士課程修了、博士号（理学）取得
- 1994年 4月 日本学術振興会（特別研究員（Ph.D.）（受入機関；筑波大学）
- 1996年 4月 日本科学技術振興事業団 創造科学技術推進事業(ERATO)、研究員
- 2000年11月 米国National Institutes of Health, National Institute on Aging、Courtesy Associate
- 2001年 4月 米国National Institutes of Health, National Institute on Aging、Visiting Fellow
- 2006年 5月 特定非営利活動法人 幹細胞創薬研究所、主任研究員
- 2010年 4月 国立大学法人 京都大学 物質-細胞統合システム拠点 特定拠点講師

### [所属学会]

日本発生生物学学会、日本分子生物学学会、International Society for Stem Cell Research

### [研究テーマ]

幹細胞生物学、神経変性疾患、疾患モデル細胞

# ヒトES細胞からの神経分化誘導法の確立と神経変性疾患モデル細胞の作製

饗庭 一博

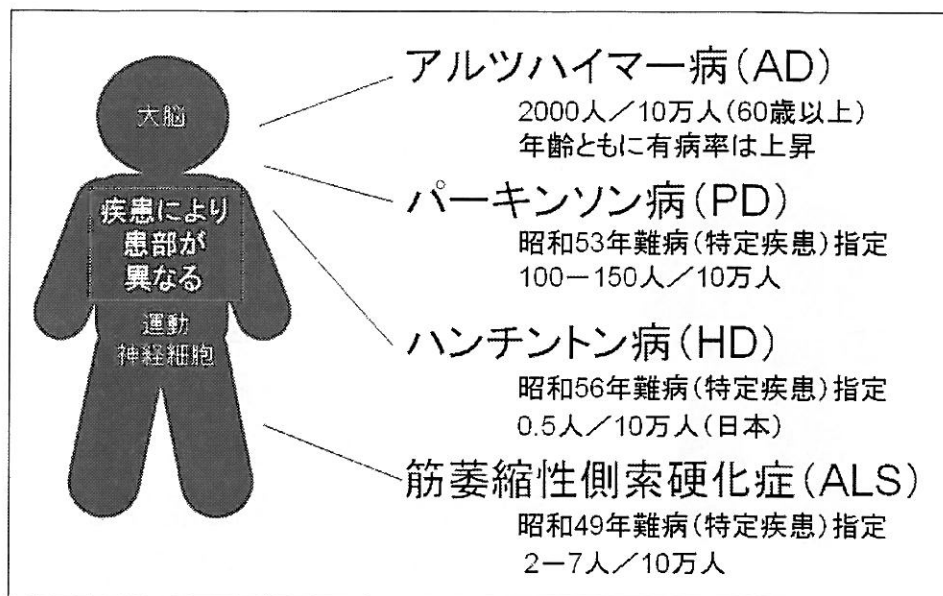
アルツハイマー病などの神経変性疾患を患った患者数は、社会の高齢化に伴い増加してきており、そのための対策が急務であると言われている。しかし、既存薬の治療効果は決して満足のいくものではなく、根本的な治療法や予防法がないのが現状である。このことは最適な疾患モデルの欠如による疾患発症機序の解明や新薬開発が遅れていることを示唆している。神経変性疾患の研究で使われる実験材料としてモデル動物や動物神経細胞、株化ヒト細胞株、ヒト初代培養神経細胞が用いられているが、動物細胞では、種間差の問題がありヒト神経細胞での反応を正確に反映できない、また株化細胞はヒト細胞であるが神経機能喪失がみられ、初代培養細胞では供給数に限界があり安定供給ができないなどの欠点がある。一方、ヒトES細胞・iPS細胞などの多能性幹細胞から分化させた機能的な神経細胞は、ヒトでの反応を模倣でき、さらに細胞供給にも問題がないため、最適な疾患モデルに成りうる。

多能性幹細胞から神経変性疾患モデル細胞を作製する場合、疾患ごとに影響の出る神経細胞の種類が異なることから、薬効性や疾患発症機序を正確に解析するためには、疾患症状が現れるタイプの神経細胞へ多能性幹細胞を分化させることが重要になる。そこで、我々はヒトES細胞から様々なタイプの神経細胞への神経分化誘導方法を確立した。ノギン（BMP拮抗因子）によってヒトES細胞から神経幹細胞まで分化させ、その後処理方法を変えることでGABA作動性神経細胞、ドーパミン作動性神経細胞、運動神経細胞、中型有棘神経細胞、そしてアストロサイトへ分化させることが出来ている。また、確立した神経分化誘導法がヒトiPS細胞にも適応可能であることも確認した。

次に、多能性幹細胞から分化させた神経細胞が、疾患モデル細胞として疾患症状を示す必要がある。正常な多能性幹細胞由来の分化細胞は健康な細胞であるため、疾患細胞となるためには疾患原因遺伝子の変異型遺伝子を発現している細胞、つまり疾患特異的多能性幹細胞株の樹立が必要である。そこで我々は、神経変性疾患の原因遺伝子として、アルツハイマー病ではプレセニリン1（PS1）、筋委縮性側索硬化症（ALS）ではスーパーオキシドディスムターゼ1（SOD1）、ハンチントン病ではハンチンチンを用い、汎用方法で作製した疾患特異的ヒトES細胞株以外に、櫻井らによって開発された部位特異的遺伝子挿入方法（櫻井の要旨参照）によって、神経変性疾患原因遺伝子をヒトES細胞のHPRT遺伝子座へ導入したヒトES細胞株を作製した。遺伝子導入後のES細胞形態、多能性関連遺伝子の発現、および神経変性疾患原因遺伝子の内在性遺伝子の発現に特に変化は観察されていない。

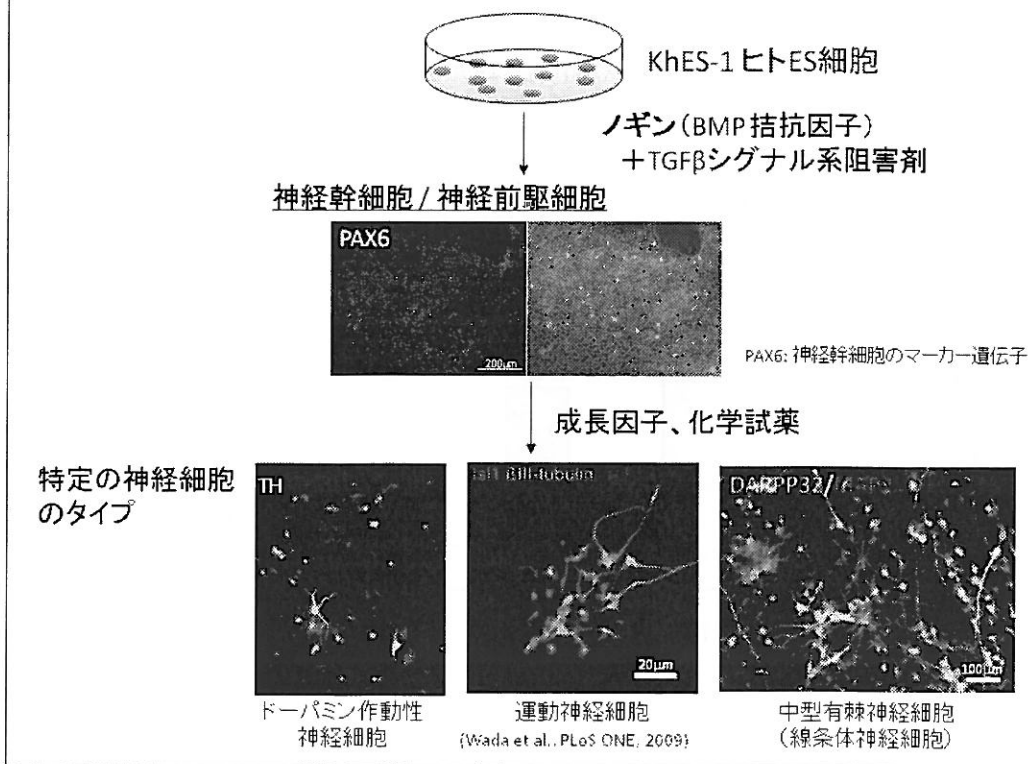
神経変性疾患特異的ヒトES細胞から神経細胞へ分化誘導を行ったところ、アルツハイマー病モデル細胞では、アルツハイマー病での疾患症状（アミロイド比率変化やシナプス活動低下）を再現することが出来ており、また、ALSモデル細胞では、変異型SOD1発現運動神経細胞の細胞死が観察出来ている。よって、我々が作製したこれら神経変性疾患モデル細胞は、疾患発症機序の研究、および新薬探索において重要なツールとなり、基礎研究や創薬研究の促進に大いに寄与すると期待している。

## 神経変性疾患



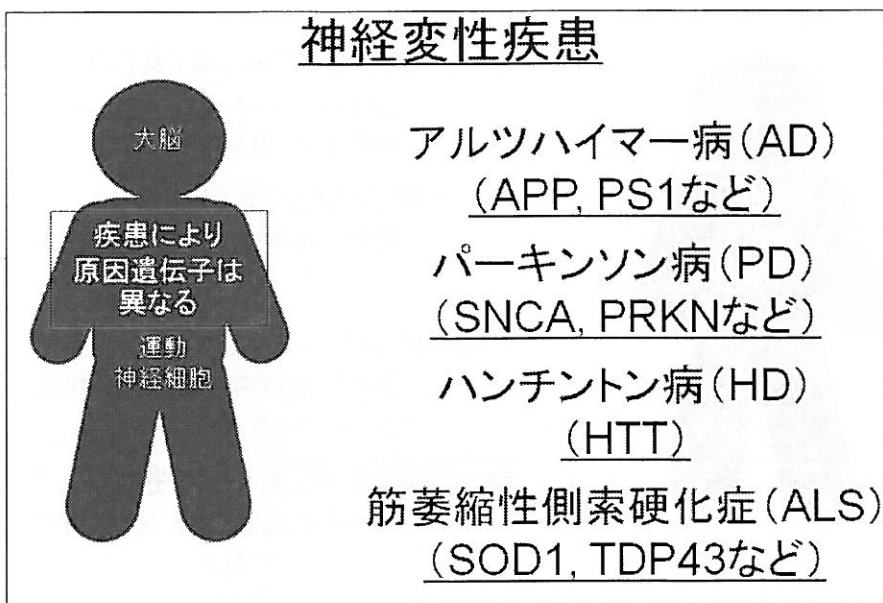
ヒトES細胞から様々な神経細胞タイプへの分化誘導系が必要

## ノギン神経分化誘導法



## 神経変性疾患モデル細胞

### 神経変性疾患

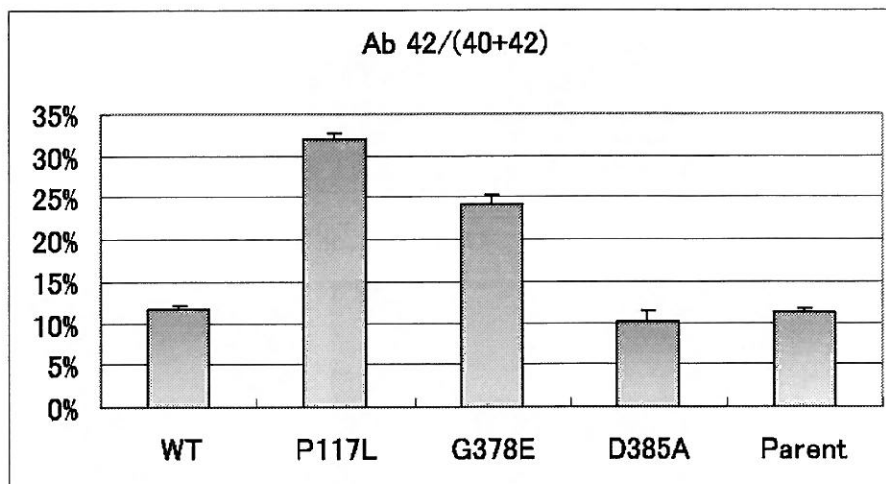


神経変性疾患の原因遺伝子の変異遺伝子を発現するヒトES細胞(疾患特異的ES細胞)が必要

## PS1発現ヒトES細胞 - モデル細胞 評価 1

AD表現型: A $\beta$ 42比率の上昇

• 培養上清のA $\beta$ の濃度測定



## 尾辻 智美

NPO法人 幹細胞創薬研究所  
(現在) 京都大学 再生医科学研究所

---

### [略歴]

- 2001年4月 独立行政法人 新エネルギー産業技術総合開発機構 (NEDO)  
産業技術養成技術者(NEDOフェロー)  
独立行政法人 産業技術総合研究所 勤務
- 2003年4月 独立行政法人 産業技術総合研究所 第一号非常勤職員
- 2005年4月 株式会社 リプロセル 研究員  
京都大学 再生医科学研究所に出向
- 2006年4月 NPO法人 幹細胞創薬研究所に出向
- 2010年4月 京都大学 再生医科学研究所 特定研究員

# 心筋分化誘導と心筋毒性検定への応用

尾辻 智美

創薬プロセスで特に心臓に対する安全性が求められる理由は、薬剤が心臓に対して心不全や不整脈など重篤な副作用を引き起こす場合が多いためである。従って、ヒト心筋特有のイオンチャンネルをもつ細胞の必要性は高く、均一な心筋細胞の供給が求められる。そこで、我々はヒトES細胞から心筋細胞への分化誘導技術の確立と安全性薬理試験への応用を試みた。

これまでの研究で、ヒトESC由来心筋細胞（hESC-心筋）は、初期分化誘導技術の向上により安定かつ高率に取得可能な組織細胞である。しかし、分化培養後徐々に拍動性が失われることから、その応用には、拍動性の維持、機能的な成熟化、機能細胞の純化といった課題が残されている。そこで、我々はESC-心筋の純化を容易にするため心筋特異的遺伝子 $\alpha$ MHCの発現制御下でEGFPを発現するヒトおよびカニクイザルの遺伝子導入ESC株を樹立した。それぞれに最適化した条件下で高いEGFP発現を示す拍動コロニーが得られ、成熟心筋特異的な遺伝子発現を確認した。GFP(+)hESC-心筋は、EGFP発現細胞間の接着性が高いことから、スフェア培養または定期的なコロニーの継代が可能であり、拍動が回復または増強された。6ヶ月継代後のhESC-心筋は、成熟心筋マーカーおよびイオンチャンネル関連遺伝子群の多くで成人心臓での発現量を上回る著しい発現増加を示した。特に薬物誘発性QT延長を評価する安全性薬理試験に適した細胞の要件であるQT延長関連主要分子のHERGおよびKCNQ1の高発現がみられ、拍動コロニーの細胞外電位記録ではHERGチャンネル阻害剤E4031など各種薬剤によるQT延長が明確に確認できた。パッチクランプ法では、単一の拍動hESC-心筋細胞で活動電位の発火、Na電流、Ca電流、K電流（HERG電流）が検出され、長期培養によるそれぞれのイオンチャンネル活性の増加が示唆された。hESC-心筋の適切な長期培養は、機能細胞の純化とその機能維持・成熟化を促すと考えられ、創薬の安全性薬理試験に適したヒト心筋モデル細胞の取得を可能とした。

本プロジェクトの成果を、早期に産業応用するために、サルES細胞の心筋分化誘導技術を株式会社リプロセルに技術導出した。株式会社リプロセルでは、本技術を基盤として心筋毒性評価試験系の開発を進めた。たとえば、創薬研究早期でも使用可能な化合物評価用の専用培地を開発したり、試験に使用する心筋の品質基準を策定したりしたことが挙げられる。このような開発プロセスおよび国内外製薬会社とのバリデーションスタディを実施、あるいは現在も継続し、実際に国内外製薬会社向けに拍動心筋細胞を販売、およびQT延長をはじめとする化合物評価試験の受託事業を行っている。

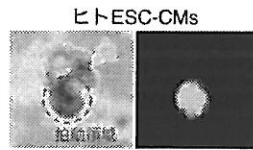
このように、ES細胞由来心筋モデル細胞は、副作用の回避や新薬探索など、創薬研究に対して利用価値が極めて高く、より安全な薬の創製に貢献できる技術を我々は確立した。

# 1. 心筋特異的GFP発現ES細胞株の樹立と生体心筋モデル細胞の取得法の確立

## αMHC::GFP挿入株の樹立

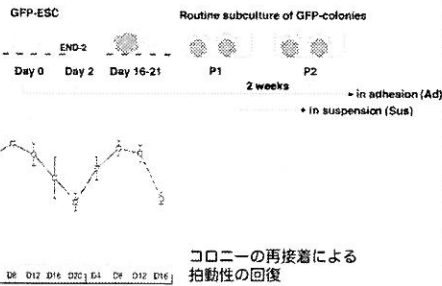
拍動を有する心筋細胞が容易に選別

- \*サルESC-CMs 分化誘導技術のライセンスアウト (株)リプロセル → 事業化へ
- \*ヒトESC-CMs



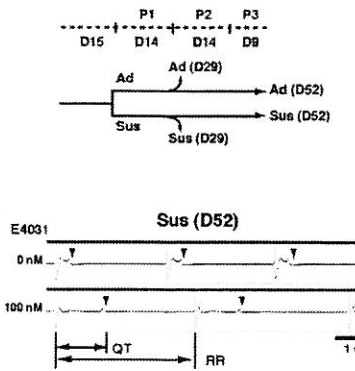
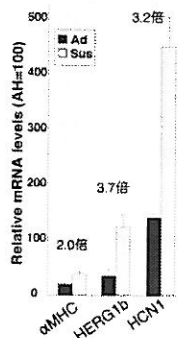
## 長期再接着培養法の確立

ESC-CMsは一年以上拍動性を維持



# 1-2. 生体心筋モデル細胞の取得法の確立

## 浮遊培養による機能増強



短期間での心筋特異的遺伝子の発現増加

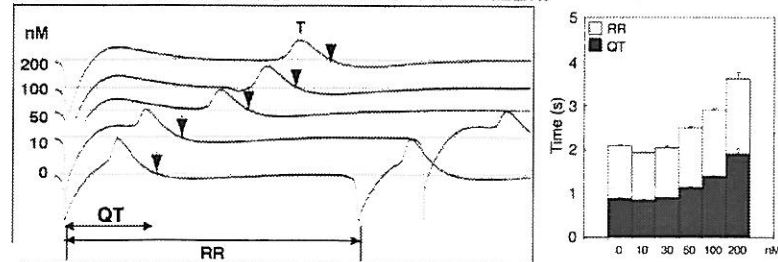
頻脈→QT延長を検出可能

# 2-2. hESC-CMsコロニーの細胞外電位測定と薬剤応答性

細胞外電位の波形

E4031: QT延長の主な原因分子であるERGチャネルの阻害剤

波形解析グラフ

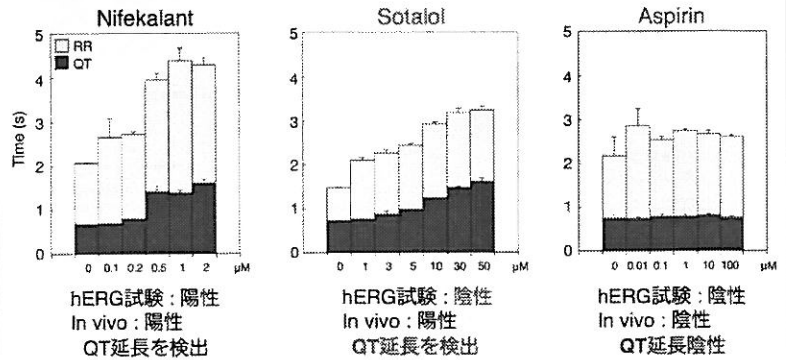


hESC-CMsコロニーの細胞外電位を取得し、チャンネル阻害剤によるQT延長を検出できた。

## 2-4. 成熟型hESC-CMsの薬剤応答性

<現在の安全性試験> hERG試験  
 hERGチャネルを発現させた細胞株を用い、  
 hERG電流に対する作用を観察可能。  
 拍動細胞を用いたQT測定ではないため、  
 QT延長の観察においては、in vivoと  
 異なる結果となる場合がある。

従来のhERG試験よりin vivoを  
 反映した結果を得ることができた

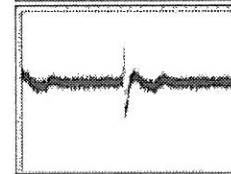
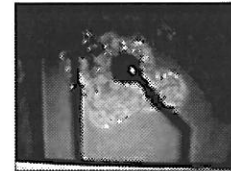


## Electro Cardiomyocyte Graph (ECMG) from CLC in ReproCELL Assay Medium

Measurement medium



Key technologies  
 Serum/Protein free  
 No fluorescent  
 Adjusted Glucose level  
 Adjusted [Na<sup>+</sup>], [Ca<sup>2+</sup>], [K<sup>+</sup>]  
 Normal osmotic pressure



To prevent absorption of test compounds to proteins and lipids,  
 ReproCELL assay medium contains no protein and no lipid.

Understanding brings INNOVATION ReproCELL



## 桑 昭苑

熊本大学 発生医学研究所 多能性幹細胞分野 教授



### [略歴]

- 1985年 東京大学薬学部卒業
- 1987年 東京大学大学院薬学系研究科修士修了
- 1987年 帝人（株）生物医学研究所研究員
- 1989年 大阪大学大学院理学系研究科博士課程（御子柴克彦教授）
- 1993年 日本学術振興会特別研究員
- 1996年 科学技術振興事業団創造科学推進事業(ERATO)  
御子柴細胞制御プロジェクト研究員
- 1999年 米国ハーバード大学客員研究員 ハワードヒューズ研究所研究員
- 2002年 熊本大学発生医学研究センター 教授
- 2009年 熊本大学発生医学研究所 教授（改組により名称変更）

### [主な所属学会と活動状況]

日本発生生物学会、日本炎症・再生医学会、日本細胞生物学会、国際幹細胞学会

### [研究テーマ・領域等]

膵臓と肝臓などの消化器官の発生分化・再生研究

# 肝細胞への分化誘導技術の開発

桑 昭苑

我々の研究室では、ES細胞から肝臓を含む内胚葉系の細胞へ分化誘導できる、支持細胞を用いた独自の共培養系を開発した（国際出願PCT/JP2005/310324）。

マウスES細胞およびヒトk h ES-1, k h ES-3細胞から内胚葉系細胞、そして肝臓前駆細胞、肝芽細胞、肝細胞への分化誘導法の技術開発を確立した(Shiraki et al., *Stem Cells*, 2008; Shiraki et al., *Genes Cells*, 2008)。

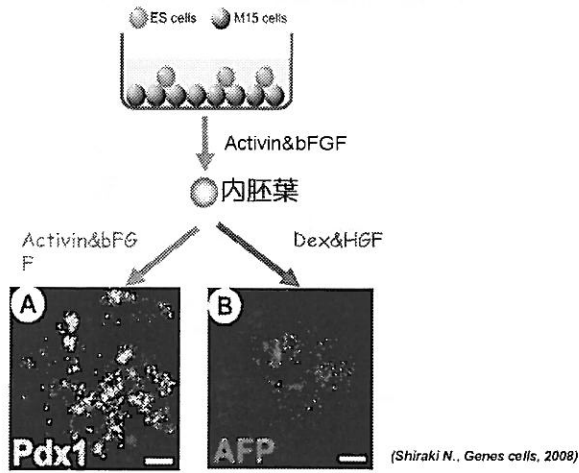
誘導されたヒト肝細胞では、代謝酵素Cyp3A4、有機アニオントランスポーター (OATP 1 B1)、グリコーゲンの蓄積 (PAS染色) などが確認され、20%を越えるアルブミン陽性細胞が安定に得られるものであった。そして、ヒト肝初代培養細胞とほぼ同程度アルブミンを分泌しており、培養下で10日程度アルブミン分泌を維持することができ、薬物によるCyp3A4の誘導活性が見られた。M15細胞を用いた分化誘導系は多数のヒト肝細胞を効率よく分化誘導でき、かつ再現性がきわめてよい点で、大量のヒト肝細胞を得るには、大変有用である。

M15細胞を用いた分化誘導系では、固定されたM15細胞でも、内胚葉および肝・膵への分化誘導活性を示すことから、分化誘導における細胞外基質の関与が考えられた。M15細胞ではラミニン10 (ラミニン511) を高いレベルで発現していることより、ラミニン10による再構築系を用いて分化誘導の検討を行った。ラミニン10安定発現株を用いた基底膜培養基質の作製技術により開発した擬似基底膜 (sBM) が有用であると考えられた (環境研との共同研究)。このsBMを用いて、マウスES細胞およびヒトES細胞の肝細胞分化について検討した。その結果、sBM上でマウスES細胞を培養し、30日目には45%程度のアルブミン陽性細胞が得られることを見出した (特願2009-136520「細胞の分化誘導」)。また、ヒトES細胞の場合も、sBM上でアルブミン陽性細胞が得られた。これらの結果により、sBM基底膜培養基質は肝細胞を分化誘導させるためのよい基質を提供するものと考察される。

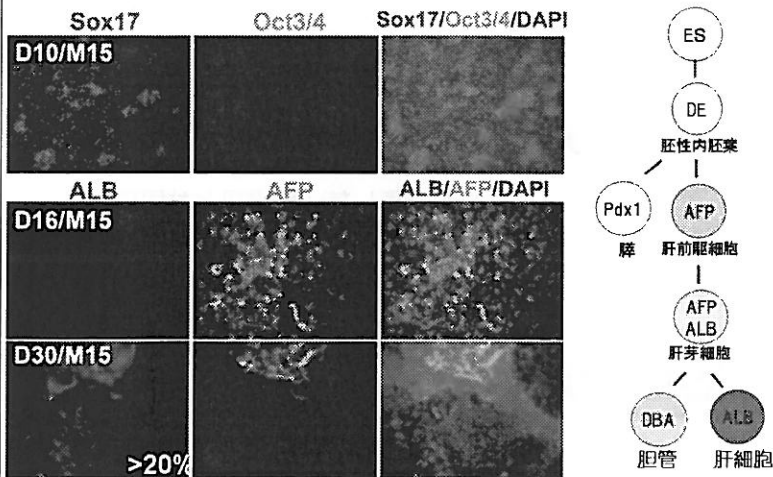
このように、ラミニン511の有用性が強く示唆されたが、さらに、分化誘導に有効な基底膜成分について、大阪大学関口先生との共同研究により、人工基底膜の評価を進めている。また、Albumin-mKO1レポーターノックインヒトES,iPS細胞株を埼玉医大との共同研究により樹立している。これを用いてヒトES分化肝細胞を純化・解析を進めている。

上記の成果により、本事業ではヒトES細胞から成熟肝細胞を分化誘導する技術開発を達成したと言える。今後はこれらの技術を足がかりに、モデル細胞としての有用性を検証し、分化誘導の分子機序を解明することで、完全な人工成分による成熟肝細胞の分化誘導を達成できると期待される。

### M15細胞 肝臓分化 mES

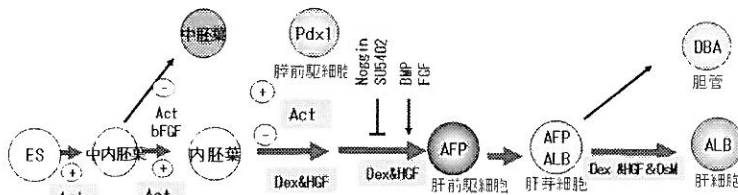


### M15細胞 ヒトESからの肝臓分化



### 支持細胞： ヒトES細胞から肝への分化誘導

アルブミンを分泌： ヒト肝初代培養細胞と同程度  
Cyp3A4の誘導活性  
高効率で分化誘導

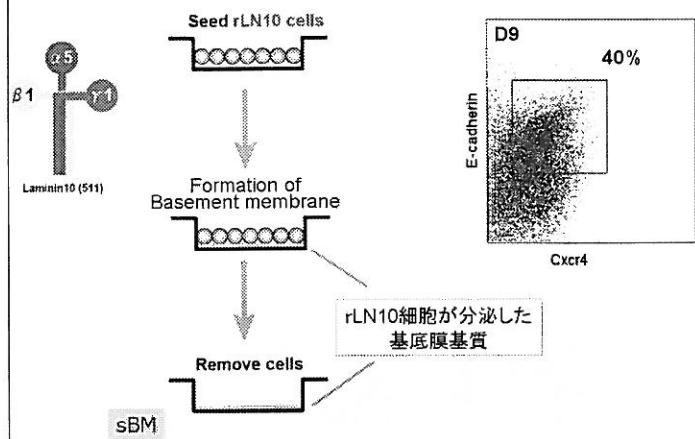


(Shiraki et al., Stem Cells, 2008)

(Shiraki et al., Genes to Cells, 2008)

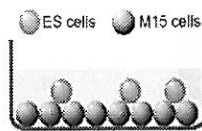
(特願2007-143225 「ES細胞から肝細胞の分化誘導方法」)

### 擬似基底膜 (sBM) による分化誘導方法の開発



### Summary

M15



1. M15細胞を用いることでヒト肝細胞を簡便に成熟化が可能である。

大量培養が可能・簡便・高効率

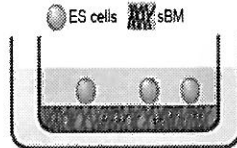
2. 擬似基底膜を用いたヒト肝臓分化誘導を構築した（環境研と共同研究）。

3. 基底膜成分の評価を進めている。

（大阪大と共同研究）

完全な人工成分による成熟肝細胞の作成を目指す。

sBM



## 川瀬 栄八郎

京都大学 再生医科学研究所 幹細胞医学研究センター 細胞プロセッシング研究領域

### [略歴]

- 1987年 東北大学 理学部 生物学科 卒業  
1990年 静岡大学理学研究科生物学 修士課程終了  
1990年 明治乳業株式会社ヘルスサイエンス研究所 勤務 (研究員)  
(平成4年～6年)国立遺伝学研究所にて受託研究員  
1997年 明治乳業株式会社ヘルスサイエンス研究所退職  
1997年 カリフォルニア大学サンフランシスコ(UCSF) 産婦人科学・生殖学部、生殖遺伝学研究部  
ポストドクトラル フェロー  
2000年 カリフォルニア大学サンフランシスコ(UCSF) 産婦人科学・生殖学部、生殖遺伝学研究部  
ポストドクトラル リサーチャー  
2001年 Stowers Institute for Medical Research  
ポストドクトラル リサーチアソシエイト  
2004年 国立大学法人京都大学 再生医科学研究所 勤務 (シニア研究員)  
2005年 国立大学法人京都大学 再生医科学研究所 勤務 (特任講師)として現在に至る

NEDO「モデル細胞を用いた遺伝子機能等解析技術開発」プロジェクトではサブリーダーを勤めた

### [受賞歴]

1998-2000年 Lalor財団フェロースhipプログラム(アメリカ)

### [主な所属学会と活動状況]

日本再生医療学会

日本分子生物学会

日本発生生物学会

International Society of Stem Cell Research (ISSCR)

Genetics Society of America (GSA)

### [研究テーマ領域等]

ヒトES細胞を用いた未分化維持・分化誘導に関する研究を進めている。最近ヒトES細胞を用い、Chemical Geneticsや細胞イメージングを用いた研究を行っている。

# ヒトES細胞からの肝細胞分化誘導系の開発

川瀬 栄八郎

京都大学再生医科学研究所では、京都大学大学院医学研究科肝胆膵・移植外科グループとの共同研究で、マウス胎児肝臓由来のストローマ細胞との共培養系を用い、未熟な肝前駆細胞を成熟肝細胞へと分化誘導することに成功している。ES細胞から未熟な肝前駆細胞への分化誘導は活発に進められている一方で、そこから成熟肝細胞への分化は、マウスES細胞でさえもほとんど成功がなく、世界的に見ても我々の開発した系はインパクトがあった。そこで本プロジェクトではヒトES細胞から高効率で肝細胞への分化誘導・成熟を行う技術確立することを最終目的として以下の開発項目を中心として研究開発を行った。(1)肝前駆細胞を分離・生成することを可能とするべく、レポーター遺伝子を導入したヒトES細胞株の樹立とヒトES細胞から効率的な肝前駆細胞誘導技術の開発、(2)未熟な肝前駆細胞を成熟肝細胞へ誘導するための共培養に重要なストローマ細胞について、初代培養細胞から調整の容易な細胞株で代用するための技術開発、さらには(3)最終目標としてはこれらを組み合わせ、ヒトES細胞から成熟肝細胞への分化誘導技術開発の確立を目指した。

以下に具体的な成果を示す。

(1) 内胚葉特異的なマーカーとして、胎児肝細胞や肝前駆細胞、腹側前腸内胚葉などに発現するAFP (alpha-fetoprotein)に注目して、ヒトAFPのエンハンサー/プロモーターに、レポーター遺伝子としてEGFPを導入したベクターを構築し、ヒトES細胞に遺伝子導入した。さらに、このヒトES細胞株を用いて様々な細胞外基質と増殖因子との組み合わせで分化誘導効率を検討し、マトリゲル上でアクチビンAおよびHGF (hepatocyte growth factor)を加えることで、ヒトES細胞を効率よくAFP-EGF陽性肝前駆細胞に誘導出来る系を開発した。

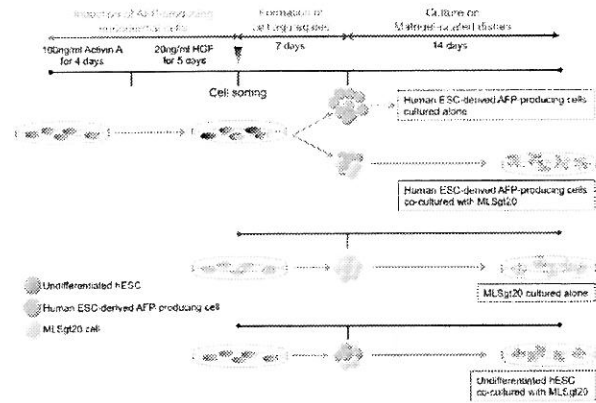
(2) 我々の開発した共培養による未熟な肝前駆細胞から成熟肝細胞への分化誘導系では、共培養に必要なストローマ細胞が初代培養細胞であり、大量調整が困難であるという問題点があった。そこで、この効果のある初代培養細胞すなわちマウス胎児 (E13.5)の肝臓から、フローサイトメトリーでThy1+gp38+細胞分画をソート・アウトし、不死化遺伝子を導入し、マウスES細胞由来AFP産生細胞を、実際に共培養し、効率よく肝細胞成熟化能を有する細胞株(MLSgt20)を見出すことに成功した。

(3) (1)、(2)を組み合わせヒト、ES細胞由来のAFP産生細胞を分離した後に、MLSgt20細胞株と混合し浮遊培養することにより共培養を行った。共培養で得られた細胞は2核を有するアルブミン陽性の細胞であり、RT-PCRでも成熟肝細胞マーカーの発現を確認できた。さらには肝細胞機能であるアンモニア除去能やグリコーゲン産生・蓄積能を有していた。また、高いチトクロームP450酵素活性を持ち、さらにはデキサメサゾンによるチトクロームP450酵素が上昇誘導されたことから、より生理的な肝細胞機能を有していることが示唆された。このチトクロームP450酵素活性はヒト肝臓由来細胞株であるHuh7よりも高いことも示された。一方、未分化ヒトES細胞を直接MLSgt20細胞と共培養しても肝細胞成熟化を示さなかった。以上により、MLSgt20細胞を用いた共培養法により、ヒトES細胞由来肝前駆細胞から機能性肝細胞へと成熟させることに成功した。

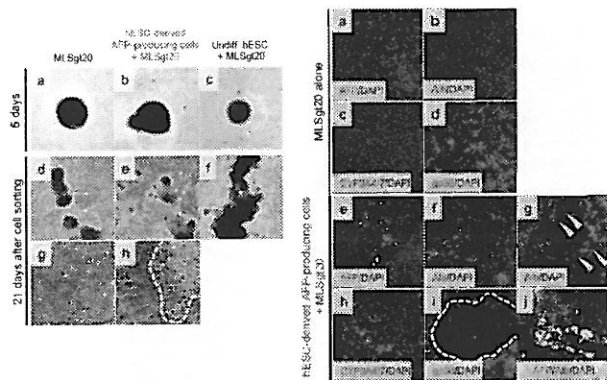
また、最後に幹細胞創薬研究所では熊本大学と京都大学で開発された技術を使い、ヒトES細胞からより成熟した肝細胞への分化誘導に成功したので、そのことについても発表する予定である。



### MLSgt20細胞を利用したヒトES細胞の肝細胞成熟化 培養プロトコル概要



### MLSgt20細胞と共培養したヒトES細胞由来AFP産生細胞は肝細胞へ分化する



### 結論

- ・ マトリゲル上で、アクチビンAとHGFとを添加することにより、約20%の誘導効率でヒトES細胞からAFP産生細胞へと分化させることに成功した。
- ・ マウスES細胞のみならずヒトES細胞をも肝細胞成熟化をもたらすマウス胎仔肝由来間葉系細胞株MLSgt20を樹立した。
- ・ MLSgt20細胞との共培養により、*in vitro*においてヒトES細胞由来AFP産生細胞から機能性肝細胞へと成熟化させることができた。特にチトクロームP450酵素はデキサメサゾンで誘導されたことから、生理的応答性を持つことが示された。



## 浅井 康行

株式会社リプロセル 取締役CTO



### [略歴]

- 1993年 京都薬科大学大学院薬学研究科修了  
1993年 田辺製薬株式会社入社：創薬研究に従事  
1999年 薬学博士学位取得（京都薬科大学）  
2000-2002年 バンダービルド大学医学部糖尿病センター（現Center for Stem Cell）勤務  
2002年 田辺製薬に復帰：創薬研究に従事  
2006年 株式会社リプロセルに入社：ES/iPS細胞および初代培養細胞を用いた創薬アッセイ系の構築に従事  
2007年 株式会社リプロセル 取締役CTO 現在に至る

### [受賞暦]

1. Society for Biomolecular Science 15th Annual Conference (France) April 2009: Best Poster 2009,
2. Stem Cells and Regenerative Medicine Europe(UK) Sep, 2009 「QTempo: An Assay to Identify Cardiotoxicity Using Stem Cell Derived Beating Cardiomyocytes, Best Poster.

### [所属学会]

Society for Biomolecular Sciences, 日本再生医療学会

### [研究テーマ]

多能性幹細胞を用いた創薬試験系構築、ハイコンテンツアナリシス、ハイスループットスクリーニング技術

# 多能性幹細胞を用いた低分子化合物 ハイコンテンツスクリーニング系の構築

浅井 康行

細胞機能性試験のパラダイムシフトの真っ只中に我々はいる。

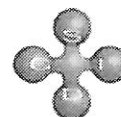
化合物の生物学的評価研究においてcell-based assayと呼ばれる細胞機能性試験は、簡便・迅速なアッセイ方法として頻用されている。この細胞機能性試験の試験材料や検出方法・条件について、近年、急激な変化がある。これまでは、いわゆる“がん化”した細胞株に創薬ターゲット遺伝子を導入し、それをモデル細胞としてハイスループットスクリーニング (HTS) や引き続く試験の材料として使用してきたが、現在は、多能性幹細胞や多能性幹細胞から分化した機能細胞を細胞機能性試験で使用することが盛んに議論され実用の端緒にある。さらに、細胞機能性試験において細胞のなんらかの変化を、例えば蛍光強度の変化というひとつの尺度で観察するシングルコンテンツハイスループットアッセイ (いわゆるHTS) から、蛍光強度とその位置といった二つ以上の尺度で評価するハイスループットハイコンテンツアナリシス(HCA)も発展してきた。二つの技術が融合して、native細胞 (幹細胞から分化した機能細胞をこう呼ぶこともある) の性質を使い切る試験系が開発されてきているのである。

化合物の生物学的試験系では、使用細胞をより生理的な材料に進化させていくこと、その細胞を適切に観察できる検出系、そして細胞と検出系を適切に接続する“アッセイ条件”の全てが組み合わって初めて実用的な系となる。また、化合物の生物学的評価の実用—創薬試験系が代表格であるが—において、最終的な成果物であるクスリはヒトに対して投与されるものであるので、ヒト胚性幹 (ES) 細胞やヒト人工多能性幹 (iPS) 細胞が創薬ツールとして注目されているというのは当然といえば当然である。よく理解されているように、これらの多能性幹細胞 (ES細胞株やiPS細胞株) は、理論的に生体を構成するあらゆる細胞に分化すると考えられているため、創薬研究に必要な化合物のターゲットとなる細胞が得られると期待されている。それだけではなく、ES細胞株は無限に増殖すること、iPS細胞株もES細胞株と同様に無限増殖をされると考えられているため、大規模研究が要求する膨大な細胞量に対しても不安がない。このような理由から創薬研究における幹細胞の応用のための研究は急速に進められている。

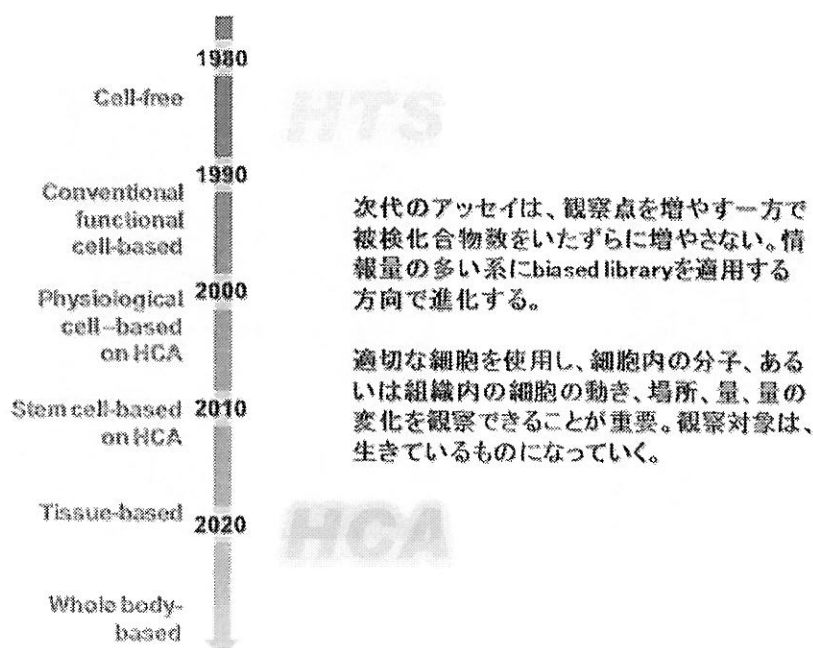
本発表において、われわれが取り組んできた幹細胞を用いたハイコンテンツスクリーニングの技術的側面や実際のライブラリスクリーニングについて議論したい。

## 多能性幹細胞を用いた低分子化合物 ハイコンテンツスクリーニング系の構築

Stem Cell and Drug Discovery Institute



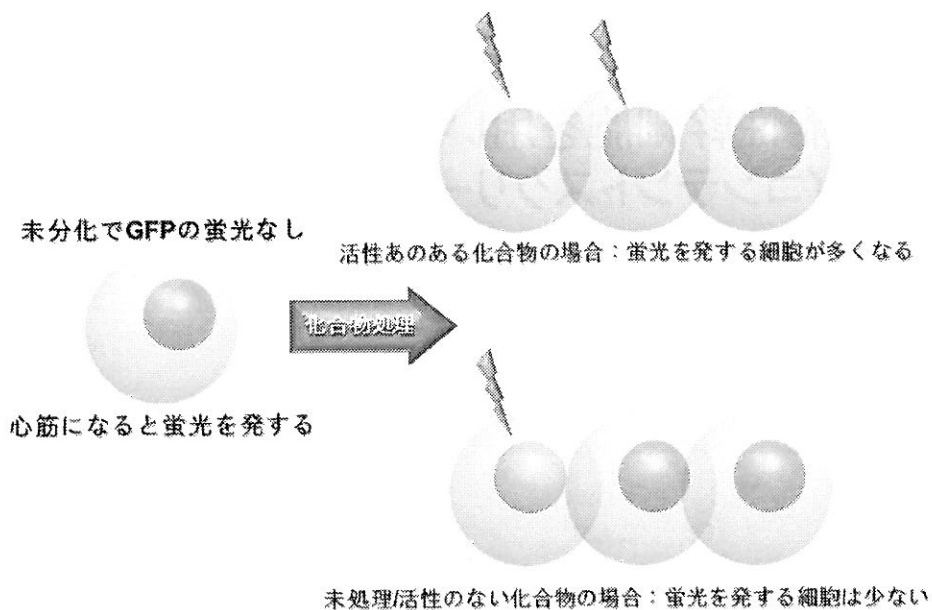
### 化合物の生物学的活性評価法の変遷



Stem Cell and Drug Discovery Institute



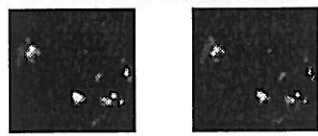
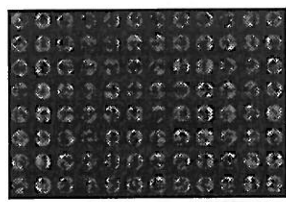
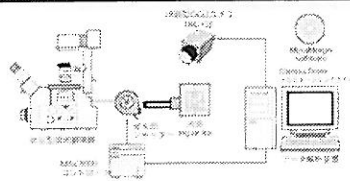
## 心筋分化誘導物質の探索



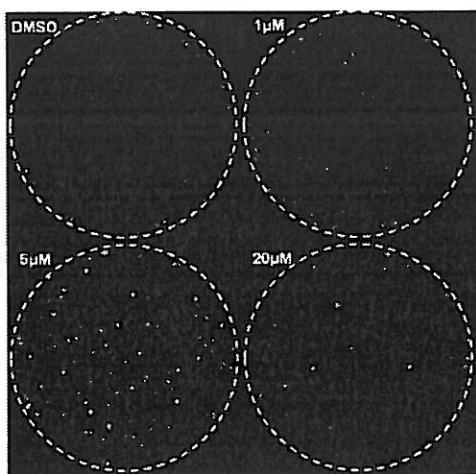
Stem Cell and Drug Discovery Institute



## ハイコンテンツアナリシス(HCA)の実施



- ・各GFP+領域(コロニー)の面積
- ・GFP+コロニーの平均蛍光量
- ・GFP+コロニーの総数
- ・GFPの総蛍光量
- など複数のパラメータを解析(HCA)



ヒット化合物の濃度依存性試験等による再現性の確認(2, 3次スクリーニング)

Stem Cell and Drug Discovery Institute

