

使用計画書概要

使用計画の名称		ヒトES細胞に対する効率の高い遺伝子導入法と染色体操作技術の開発	
使用機関	名称	埼玉医科大学	
	所在地	郵便番号 (350-0495) 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 3 8 電話番号 049 (276) 1111	
	機関長氏名	山内 俊雄	
使用責任者	氏名	三谷 幸之介	
	所属	埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター 遺伝子治療部門	
使用に関わる研究者の氏名及び所属		三谷 幸之介 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 奥田 晶彦 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 丸山 昌良 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 増原 薫 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 鈴木 啓一郎 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 相澤 絵美 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター	
使用期間 (予定)		平成 1 8 年 10 月 1 日 ~ 平成 2 3 年 3 月 3 1 日	
使用実施場所		埼玉医科大学ゲノム医学研究センター	
使用の目的		ヒト胚性幹細胞 (ES細胞) の再生医療への利用のためには、機能細胞への高効率での分化誘導、移植後の拒絶反応の抑制、造腫瘍性の制御等の研究が必須である。また、ヒトES細胞から分化誘導させた肝細胞、心筋細胞、神経細胞などを用いた新薬のアッセイ系の創製も注目されている。しかし、これらの応用に不可欠である、ヒトES細胞に対して高い効率で遺伝子導入・発現ならびに染色体操作をする技術は確立されていない。我々はこれまでにマウスおよびカニクイザルES細胞を用いて様々な遺伝子導入・染色体操作法の改良に関する研究を行ってきた。本研究ではその成果をヒトES細胞に応用し、効率よく高度な遺伝子操作法をヒトES細胞において確立することによって、ヒトES細胞の再生医療と創薬開発への応用の可能性を広げ、国民の医療の向上に結びつけることを目的とする。	
使用の必要性		現在用いられている方法での遺伝子導入効率は、カニクイザルES細胞よりもヒトES細胞では10倍位低く、両ES細胞間では物理的特性が異なることを示唆している。ウイルスベクターは高い遺伝子導入効率を達成する一方、ウイルス受容体や抗ウイルス活性を持つ遺伝子群に種間で違いがあるため、カニクイザルES細胞での結果がヒトES細胞では再現出来ない可能性もある。また、カニクイザルの場合、ゲノム配列のドラフトが2006年2月に発表されたがまだ不完全であり、相同組換え実験のための相同配列のクローニングが非常に困難である。また本申請では、日本人の体質に合わせた創薬に役立つアッセイに用いる細胞をES細胞から創製するために必要な基礎技術の確立を目的の一つとしている。以上の理由から、日本人由来のヒトES細胞を用いることが必須である。	
使用の方法		アデノウイルスベクター、レンチウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス (AAV) などに由来する多様なベクター系を用いて、蛍光蛋白質等の発現ベクターを用いた一過性の遺伝子導入効率の解析と至適化、薬剤耐性遺伝子の発現ベクターを用いた安定な遺伝子導入効率の至適化、さらにHPRT遺伝子座を標的としたベクターを用いて相同組換え効率の解析と至適化を行う。遺伝子導入されたヒトES細胞について多分化能が喪失していないことを、SCIDマウスへの移植実験やin vitroでの分化誘導実験等で検討する。さらに、肝臓や神経幹・前駆細胞などの機能細胞で特異的に発現する遺伝子座に相同組換えによってマーカー遺伝子をノックインして得られた細胞を樹立し、分化誘導をかけた際にこれらの遺伝子が組織特異的に発現することを確認する。また、応用の一つとして、マウスES細胞を用いた研究から造腫瘍性に関連しているとされている遺伝子を相同組換えによってノックアウトした後に免疫不全マウスに移植し、造腫瘍性の有無を検討する。	

使用機関の基準に関する説明

使用機関の要件として、当機関はこれまでマウスES細胞ならびにサルES細胞の培養を行っており、また、ヒトES細胞を使用するに足る十分な施設、人員及び技術的能力を有している。ヒトES細胞培養はヒトES細胞専用のスペースに専用の安全キャビネット、クリーンベンチ、インキュベーターを備えた培養室で行う。また、指針第三十三第二項の要件を満たす倫理審査委員会が設置されており、ヒトES細胞の使用に際して遵守すべき技術的及び倫理的な事項に関する規則が定められている。また、ヒトES細胞の使用に関する資料の提出、調査の受入れ、その他文部科学大臣が必要と認める措置に協力する。

使用完了後のヒトES細胞及び分化細胞の取扱い

使用研究計画終了後、遺伝子操作等改変されたES細胞は必要な場合には樹立機関に寄託し、その他のヒトES細胞及びそれに由来する分化細胞は必要とされる加熱処理により滅失させる。

分化細胞の分配が予定される場合における当該分配細胞及びその分配に関する説明

ヒトES細胞に由来する分化細胞の分配は予定していない。

使用に供されるヒトES細胞の入手先

名 称	京都大学再生医学研究所
機関長氏名	中辻 憲夫
所 在 地	郵便番号 (606-8507) 京都府京都市左京区聖護院川原町53 電話番号 075(751) 3821
樹立日時	文部科学省報告日 平成15年8月: KhES-1、平成15年11月: KhES-2, KhES-3
そ の 他	これらのヒトES細胞株は、樹立に際しては「ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針」(平成13年文部科学省告示155号)に則り、機関内倫理委員会と生命倫理・安全部会特定胚及びヒトES細胞研究専門委員会における審査を受けて、文部科学省の確認を受けている。使用の方針を示したうえで、使用研究計画の承認を前提とし、樹立機関からヒトES細胞株の分配の内諾を得ている。

使用に供されるヒトES細胞が海外から提供される場合における当該ヒトES細胞の樹立及びその譲受の条件に関する説明

該当せず

使用責任者及び研究者の 氏名、 所属、 略歴、 研究業績及び 使用計画において果たす役割			
氏名	三谷 幸之介	所属	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター
略歴	1989年3月 東京大学大学院医学研究科博士課程修了（保健学博士）、1990年4月 米国ペイラー医科大学ポストドク、1994年7月 東京大学医学部助手、1996年6月 米国カリフォルニア大学ロサンゼルス校医学部 Assistant Professor、2003年6月 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター助教授	研究業績	長年に渡りウイルスベクターの開発・改良の研究に従事しており、近年は特に、マウスES細胞とカニクイザルES細胞に対する遺伝子導入法・相同組換え法について研究している（添付資料1を参照）。
役割	ヒトES細胞への遺伝子導入法の開発・解析研究、ならびに特任研究員と実験助手の指導・監督を行う。ヒトES細胞の管理を行い、使用研究計画全体を統括する。		
氏名	奥田 晶彦	所属	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター
略歴	1984年3月 広島大学医学部医学科卒業、1988年3月 東京大学大学院医学研究科博士課程修了（医学博士）、1990年2月 米国カリフォルニア工科大学ポストドク、1992年12月 埼玉医科大学講師、2001年7月 同助教授、2005年9月 同教授	研究業績	マウスES細胞の未分化性の維持機構、造腫瘍性の機構ならびに神経幹・前駆細胞への分化機構に関して長年にわたり研究している（添付資料1を参照）。
役割	主に、相同組換え技術を用いて神経幹・前駆細胞に特異的にマーカー遺伝子が発現するヒトES細胞株を樹立しその解析を行う。相同組換えを利用した造腫瘍性関連遺伝子ノックアウトES細胞の解析を行う。		
氏名	丸山 昌良	所属	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター
略歴	2004年3月 奈良先端科学技術大学院大学博士後期課程修了（理学博士） 2005年4月 京都大学再生医科学研究所ポストドク 2006年4月 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター助手	研究業績	マウスES細胞の未分化性の維持機構に関する研究を行ってきた。マウスES細胞とカニクイザルES細胞の培養に習熟している（添付資料1を参照）。
役割	主に、造腫瘍性関連遺伝子ノックアウトES細胞のマウス移植実験を行う。		
氏名	増原 薫	所属	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター
略歴	2000年3月 久留米大学大学院医学研究科博士課程修了（医学博士） 2000年4月 奈良先端科学技術大学院大学助手 2003年5月 国立遺伝学研究所助手 2006年4月 埼玉医科大学特任研究員	研究業績	マウスES細胞の未分化性を維持する遺伝子の研究を行ってきた業績がある。現在は主に、ウイルスベクターを用いたマウスならびにカニクイザルES細胞への遺伝子導入法に関する研究を行っている（添付資料1を参照）。
役割	主にアデノ随伴ウイルスベクターを用いて、ヒトES細胞に対する遺伝子導入法・相同組換え法について条件の至適化を行う。また、相同組換えなどを駆使して肝細胞や心筋細胞などの機能細胞特異的遺伝子座へのマーカー遺伝子がノックインされたES細胞の樹立と解析を行う。		

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格A4とすること。

備考2 氏名を記載し、押印することに代えて、署名することができる。

備考3 様式中に書ききれないときは、「別紙のとおり」と記載し、別紙に記載することができる。

使用責任者及び研究者の 氏名、 所属、 略歴、 研究業績及び 使用計画において果たす役割			
氏名	鈴木 啓一郎	所属	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター
略歴	2000年3月 埼玉大学理学部卒業 2005年3月 埼玉大学理工学研究科 博士課程修了(理学博士)	研究業績	モデル生物を用いた相同組換えに関する 基礎研究の経験が長い。現在は主に、カ ニクイザルES細胞を用いてウイルスベクターを用いた遺 伝子導入法・相同組換え法の研究を行っている (添付資料1を参照)。
2006年2月	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 特任研究員		
役割	主にアデノウイルスベクターを用いたヒトES細胞での相同組換えの効率を改善するための実験を 行う。		
氏名	相澤 絵美	所属	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター
略歴	2003年3月 東京農業大学応用生物科学部卒業 2003年6月 埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 実験助手	研究業績	マウスとカニクイザルのES細胞を用い てウイルスベクターを用いた遺伝子導 入法ならびに相同組換え法の研究を行っている。ま た、ヒト間葉系幹細胞の培養の経験も有する (添付資料1を参照)。
役割	ヒトES細胞の培養・維持ならびに主にレンチウイルスベクターを用いた遺伝子導入法の開発・解 析研究を行う。		
氏名		所属	
略歴		研究業績	
役割			
氏名		所属	
略歴		研究業績	
役割			

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格A4とすること。

備考2 氏名を記載し、押印することに代えて、署名することができる。

備考3 様式中に書ききれないときは、「別紙のとおり」と記載し、別紙に記載することができる。