

# 30L-am10S

遺伝子改変ヒト ES 細胞由来 ALS-SOD1 モデル細胞の作製および解析

○磯部 武久<sup>1,2</sup>, 遠井 紀江<sup>2</sup>, 中辻 憲夫<sup>2,3</sup>, 饗庭 一博<sup>2</sup>(<sup>1</sup>京大院医, <sup>2</sup>京大iCeMS, <sup>3</sup>京大再生研)

**【目的・方法】** 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は運動ニューロン特異的な神経変性疾患であり、Superoxide dismutase 1 (SOD1) は家族性 ALS の原因遺伝子の一つとして知られている。近年、ALS-SOD1 モデル細胞として、患者由来 iPS 細胞を用いた研究が注目されているが、異なった変異を持つ患者ごとに遺伝的背景が異なるため、変異間の厳密な比較を行うことは難しい。本研究では、HPRT1 遺伝子座特異的に目的遺伝子を導入できるヒト ES 細胞株 (KhES-1) へ、野生型又は変異型 SOD1 (A4V, G85R, G93A) を導入することで、SOD1 過剰発現ヒト ES 細胞を作製した。その後、当研究室で開発された方法 (Wada et al, PLoS ONE, 2009) を用いて運動ニューロンへの分化誘導を行い、変異間の比較を行った。

**【結果・考察】** 未分化状態でのヒト ES 細胞における外来性 SOD1 のタンパク量および SOD 酵素活性を測定・比較した結果、異なる変異型 SOD1 を発現している細胞間で差は見られたが、同一変異型 SOD1 を発現しているクローン間には差は見られなかった。このことは、同一変異型 SOD1 発現クローン間にバリエーションがないことを示唆している。また、遺伝子挿入位置がどの細胞株でも同じ、つまり遺伝的背景が同じなため、変異間の違いは明らかに導入遺伝子による違いである。ヒト ES 細胞を運動ニューロンへ分化誘導させ、6 週後に運動ニューロン (HB9 陽性細胞) の割合を測定し、変異細胞株間で比較した結果、有意な差は見られなかった。分化誘導後の運動ニューロンにおいて、外来性 SOD1 は全ての変異株で発現していたため、変異型 SOD1 は運動ニューロンへの分化誘導には影響を与えない事が示唆された。現在、運動ニューロンおよびアストロサイトへ分化後の細胞について、変異間の比較解析を行っている。