

【目的】 ヒト多能性幹細胞は心筋細胞を含むあらゆる細胞へ分化することができるため、再生医療のみならず創薬スクリーニングへの応用も期待されている。再生医療や創薬スクリーニングに利用するための細胞を効率よく作製するには、ヒト多能性幹細胞および分化誘導過程における細胞の代謝を理解することが極めて重要である。我々の報告により、分化細胞だけでなくヒト多能性幹細胞においてもクエン酸回路を利用していることが明らかとなった。そこで、本研究ではヒト多能性幹細胞におけるクエン酸回路の役割を解析すると同時に、心筋細胞への分化誘導および心筋細胞の成熟化におけるクエン酸回路の役割を明らかにし、最終的に心筋分化能の高いヒト多能性幹細胞の選別や成熟心筋細胞の作製に応用することを目的としている。

【方法】 1. ヒト多能性幹細胞におけるクエン酸回路の代謝酵素を CRISPR/Cas9 システムによりノックアウトした細胞株を作製する。2. クエン酸回路関連遺伝子欠損ヒト多能性幹細胞における未分化性および増殖能の評価を行う。3. クエン酸回路関連遺伝子欠損ヒト多能性幹細胞における心筋分化能の評価を行う。

【結果】 ヒト多能性幹細胞におけるクエン酸回路の代謝酵素を CRISPR/Cas9 システムによりノックアウトした細胞株を作製した。クエン酸回路関連遺伝子欠損ヒト ES 細胞において、未分化マーカー発現は維持されていたが、増殖能はコントロール（クエン酸回路関連遺伝子発現株）に比べて低下傾向であった。また心筋細胞への分化誘導を行ったところ、心筋細胞への分化が可能であった。分化誘導効率に関しては大きな差を認めなかったものの、作製された心筋細胞における形態異常が認められた。

クエン酸回路関連遺伝子欠損ヒト ES 細胞における未分化マーカー発現と増殖能

