

利用成果報告書

- 1 課題番号 H26-006
- 2 報告者 樋口 秀男 国立大学法人東京大学大学院理学系研究科物理学専攻
- 3 利用区分 成果公開有償利用
- 4 利用課題名 脳がん幹細胞の腫瘍形成および治療耐性機能に関する研究
- 5 使用装置名 FACS Aria II セルソーター
- 6 利用期間 平成 26年 6月 30日 ~ 平成 26年 8月 4日

- 7 利用成果・実績の概要
- 生体内で脳がん幹細胞の腫瘍形成及び治療時の挙動を観察するためには、脳がん幹細胞と脳がん幹細胞以外の細胞を識別する必要がある。そこで、脳がん幹細胞の微小管に対してmCherryの蛍光タンパク質の遺伝子導入を行った。細胞にmCherryが発現したことを蛍光顕微鏡による蛍光観察によって確認した後、FACSの使用に十分な細胞数に達するまで細胞培養を行った。その後、ワンストップ創薬共用ファシリティーセンターのセルソーターFACS Aria IIによってmCherryを発現している細胞群の分離を行った。その結果、mCherryを発現している細胞群の中でも特に輝度の高い細胞を分離することができた。これらの選別を行った細胞の培養を行ったところ、2世代後においても増殖・生存と、mCherryの蛍光を確認した。そしてセルソーターによって分離したmCherry発現脳がん幹細胞が、蛍光タンパク質を発現していない接着系細胞とを区別することができるかをin vitroにおける共培養によって確認を行った。光学顕微鏡によって得られた透過像では、共培養している脳がん幹細胞と他の種類の細胞を形状によって識別することはできなかった。そこで、mCherry発現脳がん幹細胞を蛍光によって識別するために、532nmの緑色レーザーを照射した。mCherryが発現している細胞は緑色レーザーで励起されず、視野内で確認することができなかった。mCherryを発現している脳がん幹細胞は緑色レーザーで励起されて、蛍光を発していた。そのため、共培養時において脳がん幹細胞を蛍光によって識別することが可能であった。このmCherry発現脳がん幹細胞の培養を継続したところ、10世代後には次第に蛍光を失い、増殖が低下した。今回の微小管-mCherryは遺伝子導入試薬を用いているため、がん幹細胞遺伝子に負荷が大きく細胞特性が変化してしまったためだと考えられる。そこで、現在はウイルスを用いてよりマイルドな条件での微小管-mCherryの遺伝子導入を検討している。また、脳がん幹細胞のみでなく、本研究に関わると考えられる細胞へのGFP等の遺伝子導入を行い、FACSによって選別を行う。
- 8 社会・経済への波及効果
- 本研究は生体内でがん幹細胞の挙動を非侵襲かつ長期間観察するものであり、薬剤等の治療に対するがん腫瘍の応答をより詳細に理解することができると考えられる。
- 9 学会等における口頭・ポスター発表 該当なし
- 10 学会誌・雑誌等における論文掲載 該当なし