

マウス ES 細胞脱核法の検討

安藤 陽子

胚性幹細胞 (embryonic stem cell 以下 ES 細胞) は、自己複製能とすべての細胞に分化する能力を有する細胞である。ES 細胞の核を脱核し患者由来の体細胞核を導入することができれば、既存の ES 細胞を患者自身の遺伝情報を持つ ES 細胞に造り換えることができる。これによって現在の臓器移植における免疫拒絶の問題を回避できると考えられるが、現在のところ ES 細胞から効率よく核を除く方法は報告されていない。そこで ES 細胞の脱核法を検討した。マウス ES 細胞 (E14TG2a-ES cell) にアクチンを脱重合させるためサイトカラシン B を作用させ、その核を除くためにディスク脱核法と重層遠心脱核法の 2 種類の遠心法を行った。

ディスク脱核法により 9,000 rpm では約 23%、11,000 rpm では約 42% の核を脱核できた。Ficoll の 25%、20%、10%、5% 溶液を重層し、その上に ES 細胞を乗せて 28,500 rpm 60 分間の遠心による重層遠心脱核法では約 40% の効率で脱核できた。脱核した ES 細胞を大量に得る方法としては、重層遠心脱核法が良いと思われた。今後は、電気融合法やセンダイウィルス (HVJ) 法を使って、脱核した細胞に体細胞の核を導入する技術を確認しなければならない。

(平成15年10月20日受理)

An Effective Enucleation Method for Murine Embryonic Stem Cells

Yoko ANDO

Embryonic stem cells (ES cells) are self-renewing and can generate all cell types. In the near future, it is likely that tissues and organs differentiated from human ES cells will be used as materials for transplantation. However, to achieve this goal in regenerative medicine, the immunological rejection of transplanted tissues and organs from the host must be overcome. If the genomic information of ES cells could be replaced within a patient, immunological rejection could be avoided. In the preparation of nuclei-replaced ES cells, it might be possible to replace the nuclei manipulated unfertilized oocytes with ones from a patient's somatic cells using original material, but this method raises bioethical problems.

In the study reported here, nuclei were removed from mouse cultured ES cells (E14TG2a) by two enucleation methods, the disk method or the density gradient method. Both methods utilized cytochalasin B to depolymerize actin filament, and resulted in enucleation from cells under centrifugation. Approximately 23–42% of nuclei were removed from ES cells by the disk method, while 40% were removed by the density gradient method. In the future, these methods will allow us to replace ES nuclei with those of a patient's somatic cells. (Accepted on October 20,

- 23) Smith AG : Culture and differentiation of embryonic stem cells. *J Tiss Cult Meth* 13 : 89-94, 1991
- 24) Gopalakrishnan TV, Thompson EB : A method for enucleating cultured mammalian cells. *Experimental Cell Research* 96 : 435-439, 1975
- 25) Claude B, Justin T : Homokaryon production by electrofusion : A convenient way to produce a large number of viable mammalian fused cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 114 : 663-669, 1983
- 26) 岡田善雄 : 細胞融合と細胞工学. 「ヘテロカリオンの形成」第1版. 東京, 講談社サイエンティフィック, 1976, pp 51-54
- 27) Davidson RL, Gerald PS : Improved techniques for the induction of mammalian cell hybridization by polyethylene glycol. *Somatic Cell Genetics* 2 : 165-176, 1976