

研究報告書

「センダイウイルスベクターを用いた安全なiPS細胞作製と分化誘導」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成21年10月～平成27年3月

研究者: 房木 ノエミ

1. 研究のねらい

センダイウイルスは Paramixoviridae に属する Mononegavirus の一種で、宿主の細胞質で増殖し、そのゲノムは RNA であり、染色体に組込まれない。これを F 欠失型にし、外来遺伝子の挿入が可能ないようにベクター化したもの(SeV)は、再度感染性を持つ事はなく、広範囲な細胞種の細胞質で、大量の目的タンパク質を発現することができるという特徴を持つ。さて 2006 年に山中・高橋によりマウス体細胞に 4 因子を導入することで iPS 細胞の作製が報告され、2007 年にはヒト細胞でも可能になり、再生医療の実現が加速化された。しかしながら染色体に導入遺伝子の組み込みがなく、がん化のリスクを低減した「安全」かつ高効率な iPS 細胞の作出法が当時求められていた。そこで上述のセンダイウイルスベクター(SeV)を用いて4因子を細胞に導入することにより、我々は高効率なヒト iPS 細胞の作製に成功し、2009 年に報告を行った。本研究では、(1) SeV を用いたより効率のよい iPS 細胞の作製法として、(a) 温度感受性ベクターを利用した効率のよい外来因子フリーの iPS 細胞作製法と分化ベクターへの応用、(b) 当初皮膚線維芽細胞からが主であった iPS 細胞の作製を、汎用性の高い HLA ホモの細胞、あるいは大型実験動物も含めた種々の細胞から出来るようにする事、(c) より高い「万能性」を持つような naïve 様 iPS 細胞の作製、(d) 外来因子フリーであることを利点とした SeV を用いたヒト疾患 iPS 細胞への応用、そして(2) SeV を用いた効率的な分化誘導を目的として研究を行った。

2. 研究成果

(1) 概要

テーマ(1) SeV を用いたより効率のよい iPS 細胞の作製法

(a) 温度感受性ベクターの解析と応用: 温度感受性を与える既知のポリメラーゼ関連部位の変異の組み合わせにより、種々の温度感受性ベクターを開発、iPS 細胞樹立の効率とベクター除去効率の比較を行い、温度シフトあるいは自然除去いずれの方法でも除去効率のよいベクターを選択した。

(b) iPS 細胞作製時の細胞種の拡大: 研究開始当時は皮膚線維芽細胞が主流であったが、末梢血および臍帯血、歯髄細胞への応用でサンプル確保の負担を軽減、HLA ホモを含むサンプルから外来因子フリーの iPS 細胞の高効率樹立が可能になった。これらは将来の臨床応用を考える上で患者負担の軽減や、汎用性の高いストック iPS 細胞株を作る点で重要である。また大型動物での再生医療のモデル実験を視野に、動物種の拡大(マーモセットやサル・ブタ)を行った。

(c) SeV の外来遺伝子高発現を利用した naïve 様 iPS 細胞の樹立: 従来ヒト iPS 細胞は bFGF 依存・トリプシン非耐性の EpiStem 細胞だと言われていた。より高い分化能力・完全な初

期化を求めて、マウス iPS 細胞のような LIF 依存性・トリプシン耐性のヒト iPS 細胞の樹立を、高発現 SeV を用いて検討した。

(d) ヒト疾患 iPS 細胞への応用: 従来のレトロ/レンチウイルスで iPS 細胞を作製した場合、外来遺伝子の宿主染色体への組み込みが起こり、本来の形質が解析しにくい場合があり、外来遺伝子のコピー数の少ない、大量の iPS 細胞のスクリーニングが必要であった。また、疾患患者由来組織は疾患やその他の原因で樹立効率が著しく低い、あるいは樹立困難なことも多い。そこで高発現 SeV により外来因子フリーの iPS 細胞を疾患患者由来細胞(皮膚細胞あるいは末梢血)から樹立し、解析を行った。正常初代培養線維芽細胞より効率は落ちたが、必ず樹立することに成功し創薬研究も行った。疾患の種類は様々であるが、現在も眼科疾患や原因不明の全身性の先天性器官形成不全の疾患の樹立と解析を継続中。

テーマ (2) SeV の分化誘導への応用

種々の分化ベクターを作製し、さきがけ研究者ほかに配布を行い、研究を行っている。温度条件(35 度での誘導)、ウイルス量の条件を検討することで高発現かつ、発現の OFF は温度シフトで制御を試みた。

(2) 詳細

テーマ(1) SeV を用いたより効率のよい iPS 細胞の作製法

(a) 温度感受性ベクターの解析と応用:

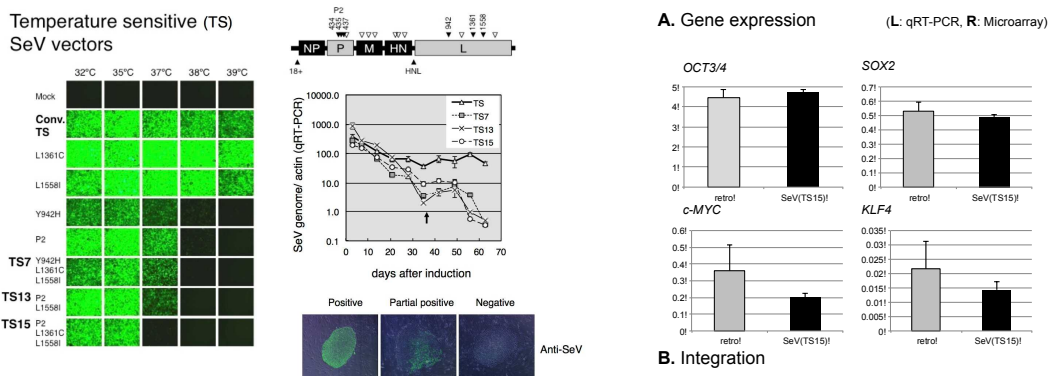


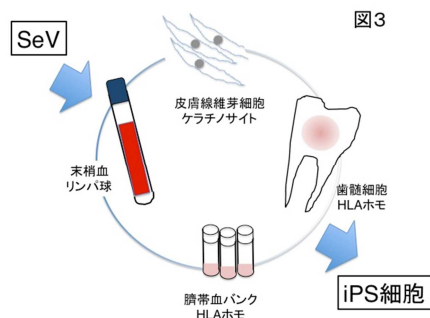
図1(左) 図2(右)

温度感受性を与える既知のポリメラーゼ関連部位の変異の組み合わせにより、種々の温度感受性 SeV ベクターを作製し検討を行った。通常、37°C で培養を行っても従来の SeV ベクターは RNA ポリメラーゼ活性を発現し続け、自然に除去されることはなかったが(Conv.TS)、種々の変異体の中には、37°C で GFP を発現するが、38°C や 39°C の培養ではポリメラーゼが失活してしまう株、あるいは、32°C、35°C の低温下のみで GFP を発現する株が認められた(図1)。これら温度感受性株を用いて、それぞれに初期化因子(OCT3/4, KLF4, SOX2, c-MYC: OKSM)を搭載してヒト線維芽細胞(BJ)を用いて iPS 細胞を誘導したところ、図1の TS7 あるいは TS13 を用いた場合に、効率よく iPS 細胞を誘導することが出来、TS13 の場合は、37°C で長期培養しているうちにウイルスベクターは消失した。TS7 の場合

は、38°Cから 39°Cで数日間培養することで、ウイルスが除去可能であり、再度のポリメラーゼの活性化が認められなかった。また、c-MYC ベクターのみを温度感受性ベクターにしても、効率よくウイルスフリー・ヒト iPS 細胞が誘導することが可能であり、37°Cで誘導することで、SeV ゲノムは効率よく自然に除去された(図1右)。これは、c-MYC がベクターの HNL 部に挿入され、3'側の 18 位に比較し、発現量は弱い(3'>5')、ウイルスの複製には有利であるためと考えられる(論文 2, 著書1)。図1の下部パネルに示すように、iPS コロニー中の抗 SeV 抗体陽性細胞は、継代を経るうちに次第に希釈されていく様子が認められた。TS15 が最も温度感受性が高く、37°Cでの除去効率が良いため、今後 c-MYC 遺伝子発現には TS15 を用いることとした(現在販売中のキットすべてに適用されている)。

SeV で作製された iPS 細胞株の 4 因子の発現を、レトロウイルスで作製した iPS 株と比較すると、4 因子すべての発現が、SeV で作製された iPS 細胞にバラツキが少なく、宿主 DNA に外来遺伝子が挿入されていないため、4 因子のコピー数も均一であった(図 2)。マイクロアレイの網羅的遺伝子解析によっても、SeV で作製した iPS 細胞は、レトロウイルスで作製された既知の株、あるいは今回作製したレトロウイルス iPS 細胞株と比較し、より ES 細胞に近い事が示されている(論文 2)。この特徴は、以後に述べる疾患 iPS 細胞を作製する際に極めて重要となる。なお、SeV ベクターの作製は、DNAVEC 社内にて伴浩志研究員(当時)と社内生産センターの協力により行われた。

(b) iPS 細胞作製時の細胞種の拡大:



従来、iPS 細胞は皮膚線維芽細胞から作製されていた。ヒトの皮膚を採取する場合は、大きな傷跡が残るなど負担も大きく、また培養する時間も長く細菌感染の危険性も高かった。そのため、他のソースが求められていた。SeV は活性化 T 細胞と CD34 陽性血液細胞への感染能力が非常に高いが、これを利用して、慶應義塾大学医学部・福田恵一教授との共同研究で、末梢血 T 細胞を IL-2 と抗 CD3 で活性化する iPS 細胞の樹立法(論文 1)および、先端医療セン

ター研究所・川真田伸グループリーダーとの共同研究で CD34 陽性臍帯血からの効率的な iPS 細胞樹立を報告している(論文 2)。さらに、岐阜大学医学部の手塚 建 准教授から細胞の提供を受け、歯髄細胞から iPS 細胞の作製を試みた。歯髄細胞は、廃棄される「歯」から採取され、岐阜大には多くのストックが存在し、その中には移植で日本人の 20%をカバー可能な、HLA3 座(A, B, DR)ホモの細胞株も含まれている(DP-74, DP-94)。これらの歯髄細胞から、様々な SeV で iPS 細胞の樹立を試みたところ、3 因子同時搭載(3'-KLF4-OCT3/4-SOX2-5': KOS)の SeV と c-MYC の組合せ(論文 5)、あるいは 3 因子同時搭載(3'-OCT3/4-SOX2-KLF4-5': OSK)に KLF4 と c-MYC を加えた組合せで最も高率に iPS 細胞を誘導することが出来た。c-MYC の代わりに L-MYC では効率アップに貢献しなかった。これらの樹立した iPS 細胞はヒト ES 細胞のマーカーやテラトーマ形成能、OCT3/4 プロモーター領域の脱メチル化に差はなかったが、マイクロアレイ解析で、使用したベクターの種類によってややクラスターリングが認められた。詳細については検討中である(PLoS One. 2014 Dec 18;9(12):e115392, 未発表データ)。また、さらに、さきがけ研究者の佐々木えりか氏との共同

研究で、マーマセットの iPS 細胞樹立も試み、さらにブタ・サルからの iPS 細胞樹立も検討を行った(非公開データ)。このように、様々な細胞種から外来因子フリー iPS 細胞樹立が可能になった(図 3)。

(c) SeV の外来遺伝子高発現を利用した naïve 様 iPS 細胞の樹立: 従来ヒト iPS 細胞は bFGF 依存・トリプシン非耐性の EpiStem 細胞だと言われていた。より高い分化能力・完全な初期化を求めて、マウス iPS 細胞のような LIF 依存性・トリプシン耐性のヒト iPS 細胞の樹立を、高発現 SeV により用いて効率的な樹立を検討した。既に、2008 年にヒト成人皮膚由来線維芽細胞から、OKSM の 4 因子搭載の SeV を用いて、異常に増殖性の高い、厚みのある iPS 細胞コロニーを得ていた。現在の組み合わせと異なるのは、発現の高い 18+ のベクターを c-MYC に用いていることである。この細胞を詳細に解析したところ、トリプシン耐性で、マウス ES/iPS 細胞同様に、SSEA1 を発現していた。しかしながら継代を重ねても外来遺伝子(OSK)が除去されず、この外来因子に依存して増殖しているように思われた。そこで(a)で作製した温度感受性ベクターを用いて、同様に iPS 細胞を作製し、トリプシン処理により 2i および LIF 存在下で生存するシングルセルをスクリーニングしたところ、ドーム状のマウス ES/iPS 細胞様のコロニーが得られた(図 4 右)。これらの細胞は、SeV 陰性で、SSEA1 陽性、Xist の発現が低下し、OCT3/4, KLF4, NANOG の発現は変化がなかったが、KLF2, 5, TBX3 の発現が上昇していた。テラトマ形成実験で、三胚葉への分化能も有していることが認められた。従来、ヒト naïve 様 iPS 細胞の作製には種々の薬剤の添加が必要とされ、また長期の継代・維持も難しいとされているが、OKSM の発現量が高ければ、naïve 様 iPS 細胞の作製も可能となり、かつ外来因子フリーという点で新しい。

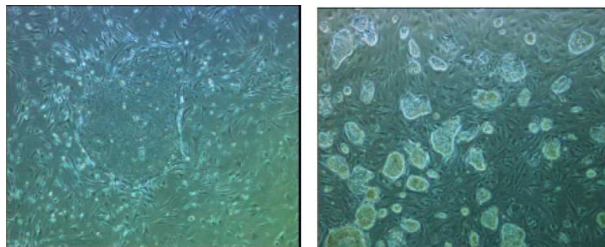
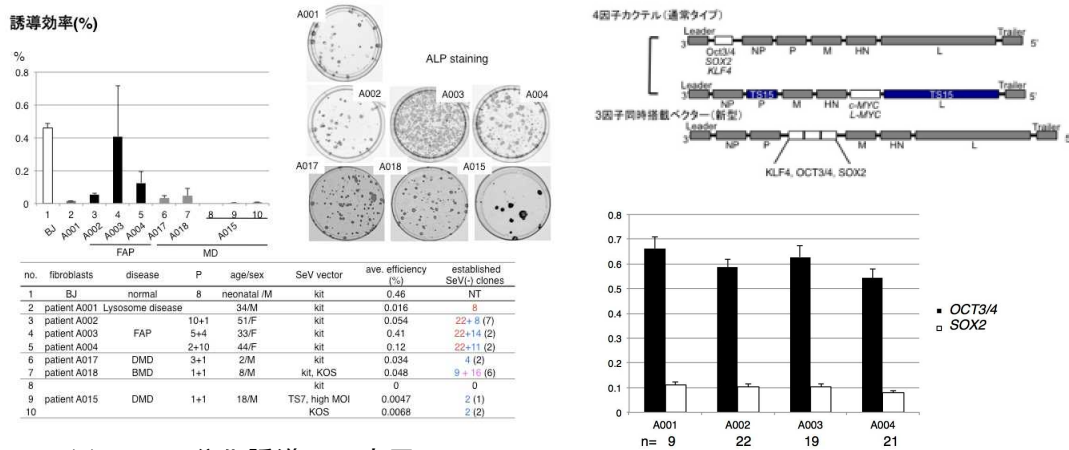


図 4. EpiStem 細胞様ヒト iPS 細胞(左)、naïve 様ヒト iPS 細胞(右)

(d) ヒト疾患 iPS 細胞への応用: 従来のレトロ/レンチウイルスで iPS 細胞を作製した場合、外来遺伝子の宿主染色体への組み込みが起こり、本来の形質が解析しにくい場合があり、外来遺伝子のコピー数の少ない、大量の iPS 細胞のスクリーニングが必要であった。また、疾患患者由来組織は疾患やその他の原因で樹立効率が著しく低い、あるいは樹立困難なことも多い。そこで高発現 SeV により外来因子フリーの iPS 細胞を疾患患者由来細胞(皮膚細胞あるいは末梢血)から樹立し、解析を行った。筋ジストロフィー(デュシエンヌ型、ベッカー型)、リソソーム病、家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)など様々な疾患 iPS 細胞を樹立したが、新生児初代培養皮膚由来線維芽細胞に比較し、効率は低かった(図 5 左)。同じ疾患由来でも樹立効率が異なるが、年齢とは関連がなく、初代培養細胞の株による。しかし 3 因子同時搭載ベクター(図 5 右上、論文 5)等を用いて必ず樹立することが出来た。(a)と同様、OCT4 や SOX2 の発現 variation は株間で少ないように思える(図 5 右下)。この基盤研究を応用して、 $\alpha 1$ アンチトリプシン欠損症(論文 3)、1 型及び 2 型糖尿病(Stem Cells Trans Med. June 2012 vol. 1 no. 6 451-461)、頭蓋骨形成異常症(Cellular Reprogramming, Dec;15(6):503-513)、

家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP) (Stem Cell Res. 2014 Mar;12(2):574-83)、進行性骨化性線維異形成症(FOP)(Stem Cells. 2012 Nov;30(11):2437-49)、ニーマンピック病タイプ C (Stem Cells. 2014 Online, Dec 17)等の疾患由来 iPS 細胞の樹立と疾患の再現、一部創薬および遺伝子治療の試みを他研究者との共著で報告した。現在は原因不明の先天性全身性器官形成異常および難治性眼科疾患 iPS 細胞の樹立と解析を行い、疾患の発生機序や遺伝的背景について深く掘り下げる予定である。

図 5.



テーマ(2) SeV の分化誘導への応用:

種々の分化誘導用 SeV ベクターを作製し提供を行った。また、さがけ研究者の片岡研究者から etv(ヒト、マウス) 遺伝子の提供を受け、etv-SeV による血液細胞の分化誘導を行った(非公開データ)。

なおテーマ(1)の(a)(b)および(c)(d)の一部は、ディナベック株式会社にて行われ、テーマ(2)の分化ベクターはディナベック社内で作製された。

3. 今後の展開

iPS 細胞の樹立に関しては、かなり SeV の応用範囲(動物種・細胞種)が広がり、疾患 iPS 細胞への応用も順調に行われている。今後は、現在検討中の希少疾患の発生機序や原因遺伝子の同定、創薬などについて掘り下げて検討を行う予定である。また、分化ベクターの成果が少ないため、現在進行中のプロジェクトを継続実行する予定である。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

基本的には現在の流れ:より効率のよい外来遺伝子フリーな iPS 細胞の樹立法を世界に先駆け発表し、様々な細胞種への応用、汎用性の高い HLA ホモの iPS 細胞樹立、疾患 iPS 細胞樹立を通じた疾患発症機構の解明と創薬、そして naïve 様 iPS 細胞の簡易樹立法、分化誘導といった流れを、現在では当たり前になってしまったが、この5年半の技術革新の1つとして会社の制限の中で実行していった。その根本としてセンダイウイルスベクター(SeV)という優れたツールとその改良を特徴としている。研究期間中に modified RNA の技術も報告されてきた

が、まだその発現量や簡便さでは SeV は優位であると考えられる。また、なるべく多くの研究者にこのツールを普及させたいという思いから、様々な研究者に配布、あるいは会社に配慮して販売という形で提供を行った。分化ベクターに関しては、増殖する細胞でないと除去が難しいこと、また温度感受性ベクターを用いると発現量が減少、個別にベクターを作る事の産業上の制限、複数の因子を順番に発現させる技術的困難などの課題がまだ残っていて成果が充分でないことが心残りである。科学技術や社会・経済への波及効果は、このベクターを使用することの知財的な制限が撤廃されていけば、すでに率先して初期化ベクターの商品化を行った結果、国内・海外で広く使用されていることを考慮するとかなり大きいのではと思われる。またすでにこのベクターを用いて樹立した疾患 iPS 細胞株は研究者に配布され、創薬研究にも用いられている。今後は、さきがけ研究で培った研究者ネットワークを継続させ、共同研究などでさらに大きな研究の広がりや成果を出したいと考えている。初めて外来因子フリー・高効率ヒト iPS 細胞樹立を発表した時の、臨床系再生医療研究者の期待に輝く瞳を初心として忘れず、未来の再生医療に貢献していきたい。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

センダイウイルスを用いる iPS 作製法を、さきがけ研究者並びに、新しく iPS 研究を始めたいという世界中の研究グループに提供しつつ、方法自体を進化させるという2つのミッションを期待してさきがけに採択した。論文発表には反映されていないものの、センダイウイルスに基づく方法を世界中に普及させた点、またさきがけ研究者の iPS 作製を積極的に手伝った点は評価している。事実、我が国をはじめ世界中の研究者と行った共同研究が業績として記載されており、当初の期待は十分満たしたのではと思う。さらに、この技術を用いた iPS 作製キット CytoTune の商品化にこぎつけた点も評価する。商品化については研究者個人の問題ではないが、もっと迅速に行うべきだったと感じる。現在 iPS を利用している研究室を見てみると、他の方法を凌駕できる、さらにいい上市のタイミングがあったのではと残念に思う。

共同研究だけでなく、個人研究として当初期待した、このシステムの分化誘導などへの新しい使い方の開発については、5年という十分な時間があつたにも関わらず、満足できる結果ではない。さきがけ以後のキャリアを考えると、この個人研究の部分が一番重要であり、今後はこの点に焦点を絞って、成果をあげてほしい。

5. 主な研究成果リスト

- Seki T, Yuasa S, Oda M, Egashira T, Yae K, Kusumoto D, Nakata H, Tohyama S, Hashimoto H, Kodaira M, Okada Y, Seimiya H, **Fusaki N**, Hasegawa M, Fukuda K. Generation of induced pluripotent stem cells from human terminally differentiated circulating T cells. **Cell Stem Cell** 2010 Jul 2;7(1):11-14
- Ban H, Nishishita N, **Fusaki N**, Tabata T, Saeki K, Shikamura M, Takada N, Inoue M, Hasegawa M, Kawamata S, Nishikawa S. Efficient generation of transgene-free human induced pluripotent stem cells (iPSCs) by temperature-sensitive Sendai virus vectors. **Proc. Natl. Sci. Acad. U.S.A.**, Aug

23;108(34):14234-9.

- Yusa, K., S. T. Rashid, H. S-Marchand, I. Varela, P-Q. Liu, D. E. Paschon, E. Miranda, A. Ordóñez, N. Hannan, F. Rouhani, S. Darche, G. Alexander, S. J. Marciniak, **Fusaki N**, M. Hasegawa, M. C. Holmes, J. P. Di Santo, D. A. Lomas, A. Bradley and L. Vallier, Targeted gene correction of α 1-antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells. **Nature**, **2011** Oct 12;478(7369):391-4.
- Miller JD, Ganat YM, Kishinevsky S, Bowman RL, Liu B, Tu EY, Mandal PK, Vera E, Shim JW, Kriks S, Taldone T, **Fusaki N**, Tomishima MJ, Krainc D, Milner TA, Rossi DJ, Studer L. Human iPSC-based modeling of late-onset disease via progerin-induced aging. **Cell Stem Cell**. **2013** Dec 5;13(6):691-705.
- Fujie Y, **Fusaki N**, Katayama T, Hamasaki M, Soejima Y, Soga M, Ban H, Hasegawa M, Yamashita S, Kimura S, Suzuki S, Matsuzawa T, Akari H and Era T. New type of Sendai virus vector provides transgene-free iPSC cells derived from chimpanzee blood. **PLoS ONE**, **2014**, Dec 5;9(12):e113052.

(1)論文(原著論文)発表

1. Seki T, Yuasa S, Oda M, Egashira T, Yae K, Kusumoto D, Nakata H, Tohyama S, Hashimoto H, Kodaira M, Okada Y, Seimiya H, **Fusaki N**, Hasegawa M, Fukuda K. Generation of induced pluripotent stem cells from human terminally differentiated circulating T cells. **Cell Stem Cell** **2010** Jul 2;7(1):11-14
2. Nishishita N, Takenaka C, **Fusaki N**, Kawamata S. Generation of human induced pluripotent stem cells from cord blood cells. **J Stem Cells**. **2011**;6(3):101-8.
3. Ban H, Nishishita N, **Fusaki N**, Tabata T, Saeki K, Shikamura M, Takada N, Inoue M, Hasegawa M, Kawamata S, Nishikawa S. Efficient generation of transgene-free human induced pluripotent stem cells (iPSCs) by temperature-sensitive Sendai virus vectors. **Proc. Natl. Sci. Acad. U.S.A.**, Aug 23;108(34):14234-9. **#Corresponding author**
4. Yusa, K., S. T. Rashid, H. S-Marchand, I. Varela, P-Q. Liu, D. E. Paschon, E. Miranda, A. Ordóñez, N. Hannan, F. Rouhani, S. Darche, G. Alexander, S. J. Marciniak, **Fusaki N**, M. Hasegawa, M. C. Holmes, J. P. Di Santo, D. A. Lomas, A. Bradley and L. Vallier, Targeted gene correction of α 1-antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells. **Nature**, **2011** Oct 12;478(7369):391-4.
5. Kudva YC, Ohmine S, Greder LV, Dutton JR, Armstrong A, De Lamo JG, Khan YK, Thatava T, Hasegawa M, **Fusaki N**, Slack JM, Ikeda Y. Transgene-free disease-specific induced pluripotent stem cells from patients with type 1 and type 2 diabetes. **Stem Cells Trans Med**. Online May30, **2012**; June 2012 vol. 1 no. 6 451-461
6. Nishishita N, Shikamura M, Takenaka C, Takada N, **Fusaki N**, Kawamata S. Generation of Virus-Free Induced Pluripotent Stem Cell Clones on a Synthetic

- Matrix via a Single Cell Subcloning in the Naïve State. **PLoS One.** 2012;7(6):e38389.
7. Hamasaki M, Hashizume Y, Yamada Y, Katayama T, Hohjoh H, **Fusaki N**, Nakashima Y, Furuya H, Haga N, Takami Y, Era T. Pathogenic mutation of ALK2 inhibits iPS cell reprogramming and maintenance: mechanisms of reprogramming and strategy for drug identification. **Stem Cells.** 2012 Nov;30(11):2437-49.
 8. Ye L, Muench MO, **Fusaki N**, Beyer AI, Wang J, Qi Z, Yu J, Kan YW. Blood cell-derived induced pluripotent stem cells free of reprogramming factors generated by Sendai viral vectors. **Stem Cells Transl Med.** 2013 Aug;2(8):558-66.
 9. Tomokuni A, Eguchi H, Hoshino H, Dewi DL, Nishikawa S, Kano Y, Miyoshi N, Tojo A, Kobayashi S, Gotoh N, Hinohara K, **Fusaki N**, Saito T, Suemizu H, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Tanemura M, Doki Y, Mori M, Ishii H, Nagano H. Effect of in vivo administration of reprogramming factors in the mouse liver. **Oncol Lett.** 2013 Aug;6(2):323-328.
 10. Chen IP, Fukuda K, Fusaki N, Iida A, Hasegawa M, Lichtler A, Reichenberger EJ, Ernst J, Reichenberger. Induced pluripotent stem cell reprogramming by integration-free Sendai virus vectors from peripheral blood of patients with craniometaphyseal dysplasia. **Cellular Reprogramming,** Dec;15(6):503-513.
 11. Miller JD, Ganat YM, Kishinevsky S, Bowman RL, Liu B, Tu EY, Mandal PK, Vera E, Shim JW, Kriks S, Taldone T, **Fusaki N**, Tomishima MJ, Krainc D, Milner TA, Rossi DJ, Studer L. Human iPSC-based modeling of late-onset disease via progerin-induced aging. **Cell Stem Cell.** 2013 Dec 5;13(6):691-705.
 12. Isono K, Jono H, Ohya Y, Shiraki N, Yamazoe T, Sugasaki A, Era T, **Fusaki N**, Tasaki M, Ueda M, Shinriki S, Inomata Y, Kume S, Ando Y. 4. Generation of familial amyloidotic polyneuropathy-specific induced pluripotent stem cells. **Stem Cell Res.** 2014 Mar;12(2):574-83.
 13. Fujie Y, **Fusaki N**, Katayama T, Hamasaki M, Soejima Y, Soga M, Ban H, Hasegawa M, Yamashita S, Kimura S, Suzuki S, Matsuzawa T, Akari H and Era T. New type of Sendai virus vector provides transgene-free iPS cells derived from chimpanzee blood. **PLoS ONE,** 2014, Dec 5;9(12):e113052.
 14. Takeda-Kawaguchi T, Sugiyama K, Chikusa S, Iida K, Aoki H, Tamaoki N, Hatakeyama D, Kunisada T, Shibata T, **Fusaki N**, Tezuka K. Derivation of iPSCs after Culture of Human Dental Pulp Cells under Defined Conditions. **PLoS One.** 2014 Dec 18;9(12):e115392.
 15. Soga M, Ishitsuka Y, Hamasaki M, Yoneda K, Furuya H, Matsuo M, Ihn H, **Fusaki N**, Nakamura K, Nakagata N, Endo F, Irie T, Era T. HPGCD Outperforms HPBCD as A Potential Treatment for Niemann-Pick Disease Type C During disease Modeling with iPS Cells. **Stem Cells.** 2014 Dec 17. doi: 10.1002/stem.1917. [Epub ahead of print]

(2)特許出願

研究期間累積件数:1 件

発 明 者: 伴 浩志、上田泰次、房木ノエミ、佐伯晃一、長谷川 護

発明の名称: 多能性幹細胞を誘導するための組成物およびその使用

出 願 人: ディナベック株式会社

出 願 日: 2010/8/30

出 願 番 号: PCT/JP2011/069588 (特願 2010-192753, 公告番号 WO2012029770 A1)

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

(主要な学会発表-1: 招待講演)

1. 房木ノエミ:「センダイウイルスを用いた染色体を傷つけない安全な iPS 細胞の作製」
iPS 細胞がもたらす未来:染色体・体細胞 リプログラミング技術の新展開
染色体学会 第 62 回(2011 年度)年会 公開シンポジウム 2 (平塚市中央公民館)
2011.11.13
2. 房木ノエミ、長谷川護:「Highly efficient generation of transgene-free iPS cells using temperature sensitive Sendai virus RNA vectors.」
発生生物学会(京都)2010.6.21
3. 房木ノエミ、伴浩志、長谷川護:「ゲノムを傷つけない iPS 細胞の高効率作製法:センダイウイルスベクターの利用」
日本再生医療学会(広島) 2010.3.18

(主要な学会発表-2: プレナリー)

4. **Noemi Fusaki**, Hiroshi Ban, Koichi Saeki, Toshiaki Tabata and Mamoru Hasegawa: 「SIMPLE AND EFFICIENT GENERATION OF FOREIGN-GENE-FREE HUMAN iPS CELLS WITHOUT CHROMOSOMAL DAMAGE USING SENDAI VIRUS RNA VECTORS.」
日本遺伝子治療学会(宇都宮) 2010.7.1
5. **Noemi Fusaki**, Hiroshi Ban, Koichi Saeki, Toshiaki Tabata, Makoto Inoue, Mamoru Hasegawa.: 「Simple and Efficient Preparation of Immaculate Human iPS Cells with Transgene-Free and No Chromosomal Damages Using an Extranuclear Manipulation System of Genetic Information, PlasmEx™」
13th ASGCT annual meeting, Washington DC, USA 2010.5.22

(受賞)

アンジェス MG 賞受賞 (2011 年 7 月 15 日 日本遺伝子治療学会)

(主な著書)

1. **Noemi Fusaki** and Hiroshi Ban: 「Chapter 7: Induction of Human Pluripotent Stem Cells by the Sendai Virus Vector: Establishment of a Highly Efficient and Footprint-Free System」
Book Title: Sendai Virus Vector Advantages and Applications. Nagai, Y. (Ed.) Springer, 2014.
p171-183.



2. **Noemi Fusaki:** 「Epigenetic reprogramming without genetic modification: use of sendai virus vectors for generating safe induced pluripotent stem cells.」
Book Title: Therapeutic Applications in Disease and Injury. Hayat, M.A. (Ed.)/ Stem Cells and Cancer Stem Cells; Volume 9, Springer, 2013, p59-69. ISBN 978-94-007-5645-8
3. **Noemi Fusaki:** “Primary and Stem Cells: Gene Transfer Technologies and Applications”
Chapter 6 “Nonintegrating RNA viruses”, Wiley Publishers, 2011, p103-119
4. **房木ノエミ:** 「難治性疾患患者由来 iPS 細胞を用いた疾患モデル・薬剤開発と再生医療への応用」臨床化学 43, vol.3, 2014, p197-202
5. **房木ノエミ:** 「センダイウイルスベクターによる血液からの iPS 細胞の誘導」
BIO Clinica (北隆館) Vol.26, No.9, 2011, p48-50.

(プレスリリース)

1. 2011/10/13: 「重篤な遺伝性疾患の患者 iPS 細胞を用いた遺伝子修復療法に関する Nature 誌論文掲載につきまして」
http://www.dnavec.co.jp/press/ATDnature_20111012.pdf
2. 2011/8/2: 「細胞に使用痕跡を残さない遺伝子発現期間制御型ベクターの開発とそれを用いた臍帯血からの iPS 細胞の作製」
<http://www.dnavec.co.jp/press/20110801.pdf>