
Generating Hypoimmunogenic Human Embryonic Stem Cells by the Disruption of Beta 2-Microglobulin

(EB) 1×10^6 ESC a t
 a t 100- μ L a a t T
 Ba / T a t 48 t-
 t a a t d 4% a a t a d
 20% a t 30% a d 4 C g t. T t
 a a t a 20 μ g a t d,
 a t t t a g 10 a t .
 T a a t g a t CD3 (1: 400, A a) a
 KLRA1 (1:200, A a).
 F t a a
 t a a t d t t a a t
 f a ESC T CD3- KLRA1- t
 a t a t t a g.

T d a F d

C t a a t a t /
 a t (NOD/SCID) (a -
 d 5×10^6 t). A t a d
 2 t t t a t a t
 t a g. A t a a t
 a a t t G t Ca a U f A a
 f R a P a a t Z a g
 U t A a Ca C t.

E t A a

F t a g t a a
 a a (PBMC) a d
 a a a t
 E t a a g 5×10^5 t C t d ESC a
 t a 5×10^5 a PBMC a
 f a g t t a t
 (Ma t) g IFN γ a a d . T t
 a d a a t g a E t d a (CTL)
 f a g a a a g.

S d t a A a

A t d a a t a t a SEM. S d t a
 g a a a d g a a S t
 t t a f f g t d $p < 0.05$.

Results

D t B t a 2-M g ESC TALEN
 T β 2 g a t g t a t a t d -
 f f t a (TALEN) [18–20] t a g t g
 2 (Fig. 1a). S t a TALEN (Fig. S1A)

Fig. 1 D t a 2- g ESC TALEN a
 Tag t 2 f a β 2 t a g t a g
 TALEN b A g t f t g t a t a
 t d TALEN t a t T a t (dashes)
 t (u red) t a t t
 t (t) d t g t f a c E f f
 g d g β 2 - f t ESC g TALEN

t a t a t t 293 T
 (Fig. S1B). T t t TALEN a (L86&R102).
 t t t a g t β 2 H1 [1] a X1 [21] ESC (Fig. 1a).
 B t t g a (β 2 $^{+/-}$) a g a (β 2 $^{-/-}$) ESC
 t a t a g t g (Fig. 1). I t a
 a g t , 44%–87%. t a g t
 t a (Fig. 1).

I t g d HLA C a I E β 2 N a ESC

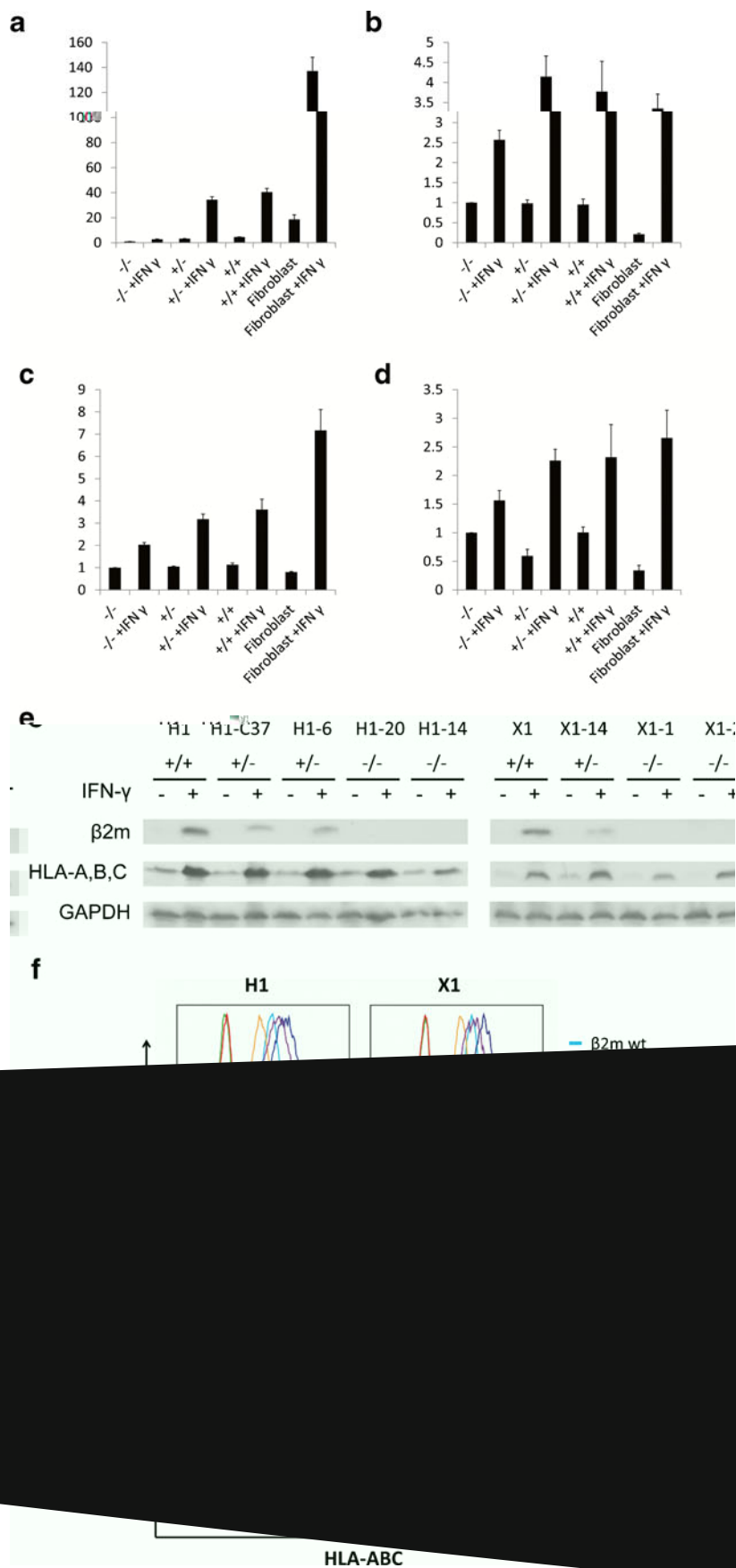
T t g d β 2 a HLA a I t
 g a (β 2 $^{+/-}$) a g a (β 2 $^{-/-}$) ESC , RT-PCR,
 t a FACS a a β 2
 RNA t t a t a a t
 t g a (β 2 $^{+/-}$) a g a (β 2 $^{-/-}$) ESC
 a t ESC (Fig. 2a), g t g t d
 β 2 g t g d a t f a
 I t f g a a (IFN- γ), a t a f a d
 a t , a t t t t
 a HLA-A, -B a -C [22]. M , β 2 RNA -
 a a t IFN- γ t d t , β 2 $^{+/-}$ a
 β 2 $^{-/-}$ ESC . H , β 2 t (Fig. 2).
 a β 2 (Fig. 2f) β 2 $^{-/-}$ ESC
 t t a t IFN- γ t t
 β 2 t β 2 $^{+/-}$ a t ESC a
 a g a a t d t (Fig. 2). T a a
 t t t , β 2 $^{+/-}$ a β 2 $^{-/-}$ d
 t HLA-A, -B a -C RNA (Fig. 2 , a)
 (Fig. 2), t t IFN- γ t t.
 H , t t t a HLA a I
 t a β 2 $^{-/-}$ ESC (Fig. 2), a t IFN- γ
 t d t. H t g ESC HLA a I
 t a a t t ESC . I a -
 t , HLA-A, -B a -C t a t
 t a β 2 $^{+/-}$ ESC a a t d t t
 IFN- γ (Fig. 2). T a t a HLA
 a I- f t ESC t g t β 2 g .

T P t HLA C a I-D t ESC

N t , a a t t t d t d a
 t t a HLA a I- f t ESC .
 β 2 $^{-/-}$ ESC t t t g , a O t 4,
 Na g , S , 2, D a 2, D a 4, N a , D t 3 a R , 1,
 a t t ESC (Fig. 3a). F t , t a g

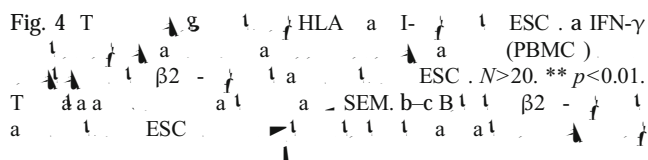


Fig. 2 I g d HLA
a I β2
ESC a-d R d RNA
β2 g (a) a
HLA-A (b), -B (c) a -C (d). e
W t u g a a β2
a HLA-A, -B a -C
β2 -
ESC a t d t t IFN-
γ (500 U/) t
t d t f 24 f-g FACS
a a β2 (f) a HLA-A,
-B a -C (g) t
t a β2 -
t ESC a t IFN-γ
(500 U/) t t d t
f 24



ESC-H, PSC [25, 26]. A PSC ESC a T, HLA C a I- ESC- a g t HLA a I (CTL) g HLA a I [27]. At HLA a I NK CTL, g t HLA a I NK a NK- d t t [28]. T HLA a I- ESC a t a t CTL a a t t t NK U t T [29], t a NK - d t a t a g a t a [30, 31]. T t t t . T , β 2 - ESC t g t O t a a t [32]. I t a a t

T a I- t ESC a a a F t, HLA
a I- t a a t a t a U a a
a t a t a t a “ - ” ESC
S t a a a t g HLA a I- t
ESC a t PSC . T u g
t a t a g t t g TALEN t t
g [23, 24], a a t a a
g t g a g [11, 12]. T
HLA a I- t ESC g t a a t
a t PSC . I HLA a I- t ESC



1. T. A. d., f. t. l. t. a f
 t. t. β2 - ESC a t. d t. d t. a f NK
 t. M., HLA a I- f t. ESC g t. a
 a d a f t. t. a
 g.
 F a., f. g. ESC a
 a t. t. t. a
 t. t. a t. f. ESC a a a.

Acknowledgments T a a t. g a t. t.
 Nā a S F f D t g Y g S a (31025016),
 t. M t. S a T g. C a (2011CB965101), t.
 Nā a Nā a S F d. C a (31271577), t. M t.
 f S a T g. C a (2012AA020503, 2012CB966601,
 a 2011AA020108), t. F a t. a R a F f t. C t. a
 U t.

Submission Statement T a a t. t. a f t. f
 t. t.

References

1. T., J. A., I. -E., J., S a., S. S., t. a. (1998). E. Sci-ence, 282, 1145–1147.
2. Ba g., E. E. (2008). P. Diabetes, Obesity & Metabolism, 10(S. 4), 186–194.
3. B d a, M. (2007). H d. Hematology/the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program. 11–16.
4. G a., T., S a t., T., & B t., O. (2008). G d. a. Journal of the Neurological Sciences, 265, 47–58.
5. Na a., T., A., S., Ta d a, N., t. a. (2012). S f f d. Cell Stem Cell, 10, 771–785.
6. S., J. R., Ma., C. N., Ra., S. A., t. a. (2011). D t. Nature, 470, 105–109.
7. C g., A. P., La t., D., T. a., A., & B., R. L. (2008). T a t. d g. Nature, 453, 330–337.
8. Ta a a., K., Ta a., K., O a., M., t. a. (2007). I t. Cell, 131, 861–872.
9. Y a J., V a., M. A., S a-O t., K., t. a. (2007). I. Sci-ence, 318, 1917–1920.
10. P a., M. C., & N g., A. (2012). C. Stem Cells, 30, 10–14.
11. G., A., L., Z., F a g., H. L., t. a. (2011). S d. g a- t. Nature, 471, 63–67.
12. Ma t. -Ta., K., & X a R. H. (2012). C. g. Stem Cells, 30, 22–27.
13. Ta a., N., Ta a a., K., Ta a a, T., t. a. (2010). D t. a. Journal of Dental Research, 89, 773–778.
14. L., G., X., Y., O a g., Q., t. a. (2009). HLA- d g. t. t. a. Cell Stem Cell, 5, 461–465.
15. K., J., J t., A., Ba a., C. N., & N g., Z. A. (1981). T. a t. a a a. H-2. Nature, 291