

生命と化学

2020 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

森川 久未

産業技術総合研究所 生命工学領域
研究員

光による胚発生の時空間制御技術の開発 – 1 細胞追跡と遺伝子操作

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、光操作型 Cre 組換え酵素 (Photoactivatable Cre: PA-Cre) を用いて、時空間を厳密に制御した、新たな発生学の解析手法の確立を目標としている。特に、マウス初期胚と多能性幹細胞を対象として、単一細胞レベルで時空間特異的に細胞系譜追跡と遺伝子のノックアウトができる発生解析システムの構築を目指す。この目標を達成するために、2021 年度は(1)マウス初期胚における青色光照射と細胞系譜追跡の実験系の構築と、(2)ヒト iPS 細胞における PA-Cre 恒常発現株の樹立と青色光照射による細胞系譜追跡、遺伝子ノックアウト株の樹立をおこなってきた。

(1)については、交配により PA-Cre を発現する初期胚を作製・採取し、この初期胚を培養しながら、青色光を照射した。結果、青色光の照射群においてのみ Cre-*loxP* 組換えと照射細胞における赤色蛍光タンパク質の発現を確認できている。

(2)については、PA-Cre を恒常発現する iPS 細胞株の樹立を完了した。樹立した細胞において、未分化時や心筋細胞への分化誘導時に青色光を照射すると、当初の計画通りに、PA-Cre の活性化と Cre-*loxP* 組換えがおこり、同時に細胞追跡も可能となることが判明した。そこで、樹立した株において、さらに PA-Cre の活性化により遺伝子のノックアウトができるようにするために、現在、遺伝子ノックアウト用の flox ベクターの作製と、導入株の樹立を進めている。同時に、マウス初期胚・ヒト iPS 細胞実験共に、青色光照射の時空間を限定する検証とタイムラプスイメージングの系を立ち上げている段階である。以上より、今年度は細胞系譜追跡実験の立ち上げを完了することができた。