

2023 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書

|        |                                |
|--------|--------------------------------|
| 研究担当者  | 熱田 勇士                          |
| 研究機関名  | 九州大学大学院                        |
| 所属部署名  | 理学研究院・生物科学部門                   |
| 役職名    | 講師                             |
| 研究課題名  | “蛇足” 創出ロードマップ                  |
| 研究実施期間 | 2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日 |

**研究成果の概要**

**(1) マウス rLPC リプログラミング法の確立**

マウス線維芽細胞からリプログラミングした四肢前駆細胞 (LP 細胞) 様細胞 (reprogrammed Limb Progenitor-like Cells: rLPC) が LP 細胞と同様に軟骨などへと分化することが示されたため、これまで得られていた遺伝子発現解析データと組み合わせ、論文を執筆し公表した (Atsuta Y. et al., *Dev. Cell*, 2024)。引き続き、マウス rLPC リプログラミングと同条件を用いることでヒト rLPC を作製できるか検証している。

**(2) LP 細胞レポーターニワトリ系統の樹立**

rLPC が生体内で多分化能を発揮することは検証できたが、パターン形成能については証明できていない。それを検証するためには鳥類胚を用いた移植実験が必要であり、rLPC のみを分取し移植に使うためには蛍光レポーターが求められるため、LP 細胞レポーターニワトリ系統の作出を行った。詳細は割愛するが、始原生殖細胞をレポーターコンストラクトのベクターとして活用することにより、ニワトリ胚芽で特異的に緑色蛍光タンパクを発現する系統の樹立に成功した。今後、この系統由来の細胞を rLPC へとリプログラミングし、rLPC のパターン形成能の有無を調べる。

**(3) ヘビ細胞の培養系、遺伝子操作法の最適化**

2022 年度から飼養を開始したコーンスネークが数匹性成熟したため掛け合わせ、初めて有精卵を入手することができた。まず、ゲノム編集などの実験を効率的に実施するために、初代培養線維芽細胞に対する長期培養条件および遺伝子操作方法の検討を行った。様々な培地成分、培養温度、遺伝子導入試薬などを試用した結果、15%FBS/TeSR-E6、28°C が良好な培養条件であること、エレクトロポレーションおよび改変センダイウィルスベクターが遺伝子導入に有効であることを見出した。