

2024 年度
創発的研究支援事業 年次報告書【公開版】

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	2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日

研究成果の概要

(1) ヘビ細胞の培養系・遺伝子操作法の最適化と、iPS 細胞樹立の試み

前年度に続きヘビ胚性線維芽細胞（コーンスネーク）に対する初代培養条件および遺伝子操作方法の最適化を行った。培養条件に関しては、様々な培地成分、培養温度をテストした結果、15%FBS/TeSR-E6、28°Cが良好な培養条件であることを突き止めた。また、遺伝子導入についてはエレクトロポレーションやステルス型 RNA ベクターが有効であることを見出した。さらに、これらの培養・遺伝子操作法はコーンスネーク成体線維芽細胞や、シマヘビ胚性・成体線維芽細胞に対しても効果的であることを明らかにした。この研究成果は、原著論文として取りまとめ、プレプリントサーバー上にて公開している（Kuriyama et al., *bioRxiv*, 2025）。

次に、最適化された培養法を用いて増幅した線維芽細胞を用いて、世界初となるヘビ iPS 細胞の樹立に取り掛かった。これまでに、山中因子の強制発現により、*Pou5f1* や *Nanog* など内在性の多能性関連遺伝子の発現が上昇することがわかった。

(2) 四肢前駆細胞（LPC）レポーターニワトリ系統の樹立

本創発研究では、ヘビの LPC 様細胞（LPCLC）に加え、ニワトリ四肢前駆細胞様細胞を、ダイレクトリプログラミングを用いて線維芽細胞から作製することも目指している。この実験には LP 細胞レポーターニワトリ系統が必要であるため、その作出に 2022 年度から取り組んでいた。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、昨年度、原著論文として発表した（Atsuta et al., *Dev. Biol.*, 2025）。今後、この系統由来の細胞を LPCLC へとリプログラミングする予定である。