



状態によって導入効率が変化することから、本年度より plasmid ベースの episomal vector plasmid set を利用し、電気穿孔法を用いて iPS 細胞の作出を試みた。また、リプログラミングを促進する環境として wnt/beta catenin 経路特に beta catenin のパートナー因子であり、HAT 活性をもつ co-factor; CBP を特異的に活性化することで、細胞の初期化が効率良く行われるのではないかと考え、まずはマウス線維芽細胞を用いて実験を行った。

マウス線維芽細胞を用いた実験の結果、CBP/beta catenin 経路を活性化することで、リプログラミングのマーカである ALP 活性陽性の初期コロニーの出現が 2 倍以上になることが示された。また、本方法で得られた iPS 細胞は未分化性を保ち、in vitro において三胚葉への分化が認められたことから、完全に初期化された iPS 細胞であると考えられる。

今後は、本年度によって得られた beta catenin 経路を活性化させる培養条件を用いて、ゾウ iPS 細胞の作出を試みる。

### 3. 本研究と関連した今後の研究計画

最終年度として、申請者はこれまでの研究成果を踏まえ、マンモス組織の代替として生理的寿命を終えた貴重な動物園動物を対象とする組織由来体細胞核の構造的正常性を検証することで、絶滅動物種であるマンモス組織再生への可能性を探る。さらに、核移植操作による再構築卵子の作製を検討することで研究資源としての展開を試みる。特に、従来の体細胞核移植操作（ホノルル法）において、作製された再構築卵子はその後の発生能が著しく低下することを認めている。最終年度では、新たな体細胞核移植技術を導入することにより、発生能の改善を検討する。

iPS 細胞の研究として本年度は、マウス線維芽細胞を用いて iPS 細胞において重要な細胞の初期化効率の向上が可能であった。最終年度である次年度は、すでに報告されている初期化促進因子に本年度で得られた知見を組み合わせ、効率的な iPS 細胞作出方法の開発を目指す。特に、これまでの研究成果より、動物種や細胞種が異なることでリプログラミング効率が変化することがわかっており、汎用的かつ効率的な方法を開発することができればゾウだけでなく、その他の絶滅危惧動物由来細胞の iPS 細胞の作出が可能となると考えられる。そこで、ゾウだけでなく、ブタやウサギなどの動物を用いて多方面から動物や細胞種を問わない iPS 細胞の適切な作出方法の開発を実施する。さらに、本研究においてこれまでに実施したアフリカサヴァンナゾウから樹立した初代培養細胞からの iPS 細胞の樹立は困難を極めている。そこで、天王寺動物公園及び広島市安佐動物公園から提供された、他種の動物園動物から樹立した初代培養細胞について、iPS 細胞の樹立を開始する。

### 4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
第 62 回日本実験動物学会総会	ポスター発表(2件)	平成 27 年 5 月 28~30 日
第 21 回日本野生動物医学会総会	口頭発表(2件)	平成 27 年 7 月 29~8 月 2 日
第 108 回日本繁殖生物学会大会	ポスター発表(1件)	平成 27 年 9 月 17~20 日
第 49 回日本実験動物技術者協会総会	ポスター発表(1件)	平成 27 年 10 月 9~10 日
第 38 回日本分子生物学会年会	ポスター発表(2件)	平成 27 年 12 月 1~4 日
International Symposium on the Future of Nuclear Transfer and Nuclear Reprogramming	ポスター発表(1件)	平成 28 年 3 月 10 日
近畿大学先端技術総合研究所紀要	原著論文(21:1-10)	平成 28 年 3 月 31 日
第 63 回日本実験動物学会総会	ポスター発表(3件)	平成 28 年 5 月 18~20 日