

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 21 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23593038

研究課題名(和文) 独創的な手法を用いたヒト iPS 細胞由来の歯形成細胞群の濃縮法の樹立

研究課題名(英文) Enrichment of the tooth constitution cell derived from human iPS cells using an original technique

研究代表者

長谷川 大子 (Hasegawa, Hiroko)

鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・客員研究員

研究者番号：00295271

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：pT-ARIP導入iPS細胞をヌードマウスに移植し、生じた奇形腫を初代培養し、歯関連細胞の出現を蛍光発現で検索した結果、蛍光を発現する細胞を観察することができなかった。おそらくin vivoで奇形腫が形成される過程で導入された遺伝子にはサイレンシングなどの遺伝子発現抑制がかかっていた可能性がある。そこで、遺伝子導入前のiPS細胞由来の奇形腫から得た初代培養細胞について、RT-PCR解析を行った。その結果、OCT3/4、NANOG、NESTIN、OC (osteocalcin)、DMP、DSPP、BGPの発現が認められた。また、免疫組織学的解析を行ったところ、AMELXの存在を確認した。

研究成果の概要(英文)：We obtained a primary culture of teratoma cells from a nude mouse that was transplanted with a pT-ARIP introduced in an iPS cell. We attempted to detect cells responsible for tooth development based on the expression of the fluorescent gene; however, the cells were not detected. In the process in which a teratoma was formed, repression of gene expression like gene silencing may have started the introduced gene. Hence, RT-PCR analysis of the primary teratoma cell culture obtained from iPS cells before transgenesis was conducted. The expression of OCT3/4, NANOG, NESTIN, OC (osteocalcin), DMP, DSPP, and BGP was observed. Moreover, the existence of AMELX was confirmed by immunohistological analysis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学

キーワード：iPS細胞 ameloblast 遺伝子工学

1. 研究開始当初の背景

近年、再生医療技術の進歩は目覚ましく、歯科領域でも智歯や乳歯に由来する幹細胞の性質を有する細胞群が徐々に単離され、これらの体性幹細胞を用いた歯の再生が精力的に展開されている。しかし、これら幹細胞のほとんどは、細胞分散剤による細胞解離後、FACS による分取によって得られる。そのため、単離できる細胞数は非常に少なく、詳細な培養条件も確立していないため、当該細胞の維持・供給の面からは多くの課題が残っている。

一方、iPS 細胞作製技術は、自家細胞による自己移植を可能とし、細胞自体が *in vitro* で無限に増殖するため、細胞供給源としては理想的である。しかし、iPS 細胞からどのようにして *in vitro* で歯形成に係わる目的の細胞を分化誘導させるかは未解明であり、何よりも分化誘導をかけた後の細胞の中から、iPS 細胞の特性である癌化という性質が再燃する可能性もあるので、iPS 細胞を臨床応用へ結び付けるには十分な基礎的研究が必要である。

歯は複雑な細胞間の相互作用を経て形成される。従って、歯組織から幹細胞を単離してもそれ単独ではエナメル質や象牙質を含む 3 次元構造を持つ歯にはなり得ない。Nakao ら (Nat Methods 4, 227-230, 2007) は、胎齢後期胎仔の口腔の歯胚部分の上皮細胞と間葉系細胞を混合し、この集合体 (再構成歯胚) をマウス臼歯抜歯後に窪みを作り、この孔に再構成歯胚を移植し、ほぼ完全な歯を再生させることに成功した。

しかし、どのような細胞がどのようにその再生に係わっているのか、詳細なメカニズムは不明のままである。しかも歯幹細胞、ameloblast、odontoblast などの歯関連細胞についても個々の詳細な機能は未だ不明な点が多い。それは *in vitro* で十分に維持可能な細胞株が得られていないことも理由の一つとして挙げられる。そのため、*in vitro* で無限に増殖できる iPS 細胞を材料に用いれば、歯形成に係わるそれぞれの細胞株を容易に樹立できると考えられる。しかし、*in vitro* で iPS 細胞から歯形成に係わる細胞群を分化誘導する条件が、現段階では不明なままであることが現状である。

2. 研究の目的

iPS/ES 細胞をヌードマウス皮下に移植すると奇形腫ができる。この中には、完全に分化を遂げた軟骨、腸上皮などの組織と未分化な細胞が混在する。これは、歯や軟骨などの特定の組織器官は、発生学的に初期の器官原基からそれぞれ独自に発達してくることを示唆する。また、奇形腫の名から言えるように、様々な発生段階の多種類の組織がその中に存在しているため、当然歯組織も含まれると考えられる。実際、ヒトの奇形腫ではエナ

メル様構造物が認められることがある。さらに重要な点は、*in vitro* では iPS/ES 細胞からの歯の分化誘導条件が不明な場合でも、それら細胞を *in vivo* で移植し奇形腫にすれば、iPS/ES 細胞由来の歯組織を得ることが現実的に可能という点である。そこで、本研究では、*in vivo* で作製された奇形腫に由来する歯関連細胞群のみを選択的に濃縮する独創的な *in vitro* 組織再構成法を用いて、まだ達成されていないヒト iPS 細胞から歯幹細胞、ameloblast、odontoblast などの歯関連細胞株の樹立を目指す。

本研究では、奇形腫からどのように iPS/ES 細胞由来の細胞群を得るかが重要となる。細胞が分化した時はじめて蛍光タンパクや薬剤耐性遺伝子が発動するように仕組んだプラスミドを遺伝子導入した iPS/ES 細胞をヌードマウスに移植し、奇形腫を作成する。その奇形腫を摘出後、ハサミでバラバラにほぐし、細胞分散剤で単一細胞レベルまで解離する。解離細胞を培養し、薬剤で細胞を選別する。薬剤存在下で生存する細胞群は、歯形成細胞であり、赤や緑の蛍光を発するものと期待される。

3. 研究の方法

本研究で提案する独創的な手法がヒト iPS 細胞由来の歯関連細胞株の樹立に実際に利用可能か検討する。まず、ameloblast や odontoblast で特異的に働く promoter を用いて、蛍光タンパク遺伝子と薬剤耐性遺伝子を同時発現するプラスミドを作製する。これをヒト iPS 細胞に遺伝子導入し、組換えヒト iPS 細胞を得る。組換えヒト iPS 細胞をヌードマウス精巢内に移植し、奇形腫を得る。次いで、奇形腫の初代培養と *in vitro* 細胞選別を行い、ヒト iPS 細胞由来の ameloblast や odontoblast の細胞株を樹立する。詳細は以下の通りである。

1) ameloblast、odontoblast に特異的な蛍光遺伝子/薬剤耐性遺伝子を発現するプラスミドの作製

ameloblast や odontoblast などの歯関連細胞に特異的に蛍光タンパクを発現するプラスミドを構築する。ameloblast には、amelogenin (AM) プロモーターを、odontoblast には Dspp (dentin asialophosphoprotein) プロモーターを用いる。また、細胞内で 2 種のタンパクを同時発現させるため、IRES (internal ribosomal entry site) を蛍光タンパク遺伝子と薬剤耐性遺伝子の間に置く。

2) ヒト iPS 細胞へのプラスミドの遺伝子導入と組換えヒト iPS 細胞の単離

2 種のプラスミドをヒト iPS 細胞に nucleofection システムを用いて遺伝子導入し、G418/blasticycline S の 2 重選別により、pARIPN、pDEIPB の 2 種を内蔵する組換

えヒト iPS 細胞を得る。この段階では未分化であるため、puro(-)/EGFP(-)/DsRed1(-)であるが、ameloblast や odontoblast などの歯形成細胞に分化した場合、puro(+)/DsRed1(+) あるいは puro(+)/EGFP(+) となる。

3) 組換えヒト iPS 細胞の in vivo 移植による奇形腫形成とその解析

2) で得られた組換えヒト iPS 細胞をヌードマウス精巢内へ注入し、奇形腫を形成させる。組換えヒト iPS 細胞を bFGF 不在下懸濁培養し、いくつかの初期分化細胞が存在する胚様体を移植する群(実験-1群)、組換えヒト iPS 細胞と妊娠後期 (Day 15-18) のマウス胎仔口腔近傍の細胞の混合物を移植する群(実験-2群)、組換えヒト iPS 細胞と BMP や GDF11 の混合物を移植する群(実験-3群)、組換えヒト iPS 細胞をそのまま移植する群(対照群)で検討する。細胞群を移植する場合、その分散を防ぐため、細胞をコラーゲンスポンジゲル支持体にくるみ移植する。

移植 1-1.5 ヶ月後に 10-15 mm に成長した奇形腫を摘出する。腫瘍内には未分化細胞と分化細胞とが混在しており、腫瘍のスライスを作製し、UV 下で赤蛍光を示す ameloblast 細胞群、緑蛍光を示す odontoblast 細胞群の検出を確認する。同時に歯特異的タンパクおよび mRNA 検出のための抗体を用いた免疫組織学的解析、RT-PCR 解析、H-E 染色による組織学的解析を行い、腫瘍内の歯関連組織の分化状態を分析する。

4) 固形腫瘍の初代培養と in vitro 薬剤選別

3) で歯形成が顕著であったと判明された奇形腫を選び、これを初代培養系に付す。具体的には、ヌードマウスから摘出した奇形腫をハサミでバラバラにほぐし、さらに細胞分散剤で単一細胞レベルまで解離する。その後通常培養を行い、puromycin 存在下で選別する。培養系に ameloblast や odontoblast が存在している場合、puromycin 耐性を示し、薬剤選別から生存が可能と考えられ、ameloblast は赤蛍光を odontoblast は緑蛍光を示す。それらの細胞を限界希釈法で cloning する。ameloblast と odontoblast の細胞株について、ameloblast 株は内在性の ameloblastin/amelogenin mRNA を発現していること、odontoblast 株は Dspp mRNA を発現していることを RT-PCR 法で調べる。

5) ヒト iPS 細胞由来株化細胞の癌再燃に関する問題

ヒト iPS 細胞は癌化の性質も有するため、それから分化した細胞でも癌の再燃が懸念される。今回、歯関連細胞の株化に成功した場合、当該細胞がそのようなポテンシャルを持つかの確認は、iPS 細胞を用いた歯再生を目指す上で重要な課題となる。そこで 4) 項

で得た細胞をヌードマウスに移植し、移植後 3 か月目に剖検し、癌発生の有無を確認する。

4. 研究成果

まず初めに、ameloblast と odontoblast の歯形成細胞に特異的に蛍光タンパクを発現する 2 種のプラスミドを構築した。

最初、これらプラスミドを乳歯歯髄細胞から得た iPS 細胞に同時導入しようと試みたが、導入効率が極端に低いせいか、2 種の薬剤 (G418, blasticidine S) による選別後、薬剤耐性コロニーは得られなかった。そこで、哺乳類細胞での遺伝子導入の効率が非常に高いとされるトランスポゾン的一种 PiggyBac (PB) の系を適用することとした。そのため、PB transposase が認識し、特異的に結合する PB acceptor の間に上記プラスミド内の発現ユニットを挿入した、いわゆる PB ベクター (pTA-ARIPN 及び pTA-DEIHB) を作成した。この 2 つのベクターと PB transposase 発現ベクターとを iPS 細胞に co-transfection させた。その結果、幾つかの薬剤耐性コロニーを得た。このコロニー由来の細胞が、導入された pTA-ARIPN 及び pTA-DEIHB を保有していることを、分子生物学的手法を用いて確認した。

残念ながら、組換え iPS 細胞をヌードマウスに移植し、生じた奇形腫を初代培養し、歯関連細胞の出現を蛍光発現で検索した結果、蛍光を発現する細胞を観察することができなかった。おそらく in vivo で奇形腫が形成される過程で導入された遺伝子にはサイレンシングなどの遺伝子発現抑制がかかっていた可能性がある。そこで、遺伝子導入前の iPS 細胞由来の奇形腫から得た初代培養細胞について、RT-PCR 解析を行った。その結果、OCT3/4、NANOG、NESTIN、OC (osteocalcin)、DMP、DSPP、BGP の発現が認められた。また、奇形腫の初代培養細胞について、免疫組織学的解析を行ったところ、amelogenin 遺伝子 (AMELX) の存在も確認された。以上より、in vitro で iPS 細胞から歯形成に係わる細胞群を分化誘導し、歯形成に係わるそれぞれの細胞株を樹立できる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 91 件中、一部抜粋)

1. Watanabe S, Haraguchi S, Nakamura S, Sakurai T, Mugikura S, Kajiwar K, Minoi K, Sato M: Novel cancer vaccination system based on human endo- β -N-Acetyl glucosaminidase gene delivery. Journal of Glycobiology, 2014, 3:1

DOI: <http://dx.doi.org/10.4172/2168-958X.1000106> (査読有)

2. Miura H, Inoko H, Inoue I, Okada Y, Tanaka M, Sato M, Ohtsuka M: piggyBac-mediated generation of stable transfectants with surface HLA expression from a small number of cells. *Analytical Biochemistry* 437, 29-31, 2013 DOI:10.1016/j.ab.2013.02.003. (査読有)
3. Sato M, Maeda S, Inada E, Saitoh I, Kubota N: Mosaic expression of pluripotency-related proteins oct-3/4 and alkaline phosphatase in human pancreatic carcinoma cell PANC-1. *Advanced Studies in Biology* 5, 157-172, 2013 <http://www.doaj.org/doaj?func=issueTOC&isId=150538&uiLanguage=en> (査読有)
4. Sato M, Kubota N, Inada E, Saitoh I, Ohtsuka M, Nakamura S, Sakurai T, Watanabe S: Hela cells consist of two cell types, as evidenced by cytochemical staining for alkaline phosphatase activity: A possible model for cancer stem cell study. *Advances in Stem Cells* Article ID 208514, 15 pages, 2013 DOI:10.5171/2013.208514 (査読有)
5. Sato M, Akasaka E, Saitoh I, Ohtsuka M, Nakamura S, Sakurai T, Watanabe S: Targeted toxin-based selectable drug-free enrichment of mammalian cells with high transgene expression. *Biology* 2, 341-355, 2013 DOI:10.3390/biology2010341 (査読有)
6. Nakamura S, Maehara T, Watanabe S, Ishihara M, Sato M: Improvement of hydrodynamics-based gene transfer of nonviral DNA targeted to murine hepatocytes. *BioMed Research International* Article ID 928790, 9 pages, 2013 DOI:10.1155/2013/928790 (査読有)
7. Ohtsuka M, Miura H, Hayashi H, Nakaoka H, Kimura M, Sato M, Gurumurthy CB, Inoko H: Improvement of pronuclear injection-based targeted transgenesis (PITT) by iCre mRNA-mediated site-specific recombination. *Transgenic Research* 22, 873-875, 2013 DOI:10.1007/s11248-013-9703-x (査読有)
8. Sato M, Inada E, Saitoh I, Ohtsuka M, Nakamura S, Sakurai T, Watanabe S: Site-targeted non-viral gene delivery by direct DNA injection into the pancreatic parenchyma and subsequent in vivo electroporation in mice. *Biotechnology Journal* 8, 1355-1361, 2013 DOI:10.1002/biot.201300169 (査読有)
9. Murakami T, Saitoh I, Inada E, Kurosawa M, Iwase Y, Noguchi H, Terao Y, Yamasaki Y, Hayasaki H, Sato M: STO feeder cells are useful for propagation of primarily cultured human deciduous dental pulp cells in view of elimination of contaminated bacteria and promotion of cellular outgrowth. *Cell Medicine* 6, 75-81, 2013 DOI:<http://dx.doi.org/10.3727/215517913X674234> (査読有)
10. Sato M, Inada E, Saitoh I, Matsumoto Y: Microbial and enzyme technology: an efficient and convenient method for MiniPrep analysis of recombinant plasmids. *Journal of Biomedical Science and Engineering* 7, 105-107, 2013 DOI:10.4236/jbise.2014.73013 (査読有)
11. Nakamura S, Maehara T, Ishihara M, Sato M: Liver lobe- and strain-difference in gene expression after hydrodynamics-based gene delivery in mice. *Animal Biotechnology (in press)* (査読有)
12. Sato M, Miyoshi K, Nagao Y, Nishi Y, Ohtsuka M, Nakamura S, Sakurai T, Watanabe S: The combinational use of CRISPR/Cas9-based gene editing and targeted toxin technology enables efficient biallelic knockout of the -1,3-galactosyltransferase gene in porcine embryonic fibroblasts. *Xenotransplantation* Article first published online: 21 FEB 2014 DOI:10.1111/xen.12089 (査読有)
13. Takashi K, Noguchi H, Saitoh I, Kataoka H, Watanabe M, Noguchi Y, Fujiwara T: Isolation efficiency of mouse pancreatic stem cells is age-dependent. *Cell Medicine*, 5, 69-73, 2013 DOI:<http://dx.doi.org/10.3727/215517913X666503> (査読有)
14. Kubota Y, Noguchi H, Seita M, Yuasa T, Sasamoto H, Nakaji S, Okitsu T, Fujiwara T, Kobayashi N: Maintenance of viability and function of rat islets with the use of ROCK inhibitor Y27632. *Cell Medicine*, 6, 15-23, 2013 DOI:<http://dx.doi.org/10.3727/215517913X674199> (査読有)
15. Sato M, Akasaka E, Saitoh I, Ohtsuka M, Watanabe S: Development of a technique for efficient gene transfer to antral

follicular cells in the mouse ovary. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 58, 136-141, 2012
DOI:10.3109/19396368.2012.656796. (査読有)

16. Ohtsuka M, Miura H, Nakaoka H, Kimura M, Sato M, Inoko H: Targeted transgenesis through pronuclear injection of improved vectors into *in vitro* fertilized eggs. *Transgenic Research*, 21, 225-226, 2012
DOI:10.1007/s11248-011-9505-y. (査読有)

17. Chi H, Sato M, Yoshida M, Miyoshi K: Expression analysis of a α -1,3-galactosyltransferase, an enzyme that creates xenotransplantation-related α -Gal epitope, in pig preimplantation embryos. *Animal Science Journal*, 83, 88-93, 2012
DOI:10.1111/j.1740-0929.2011.00964.x. (査読有)

18. Chi H., Shinohara M., Yokomine T., Sato M., Takao S., Yoshida M., Miyoshi K: Successful suppression of endogenous α -1,3-galactosyltransferase expression by RNA interference in pig embryos generated *in vitro*. *Journal of Reproduction and Development*, 58, 69-76, 2012
DOI:<http://dx.doi.org/10.1262/jrd.10-165M> (査読有)

19. Sato M, Akasaka E, Saitoh I, Ohtsuka M, Watanabe S: *In vivo* gene transfer in mouse preimplantation embryos after intraoviductal injection of plasmid DNA and subsequent *in vivo* electroporation. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, Posted online on, 58, 275-287, 2012
DOI:10.3109/19396368.2012.688088. (査読有)

20. Sato M, Ohtsuka M, Miura H, Miyoshi K, Watanabe S: Determination of the optimal concentration of several selective drugs useful for generating multi-transgenic porcine embryonic fibroblasts. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 759-765, 2012
DOI:10.1111/j.1439-0531.2011.01964.x (査読有)

21. Abe K, Araki K, Tanigawa M, Semba K, Ando T, Sato M, Sakai D, Hiyama A, Mochida J, Yamamura K-I: A Cre knock-in mouse line on the Sickletail locus induces recombination in the notochord and intervertebral disks. *Genesis*, Article

first published online, 50, 758-765, 2012
DOI:10.1002/dvg.22035 (査読有)

22. Ohnami N, Nakamura A, Miyado M, Sato M, Kawano N, Yoshida K, Harada Y, Takezawa Y, Kanai S, Ono C, Takahashi Y, Kimura K, Shida T, Miyado K, Umezawa A: CD81 and CD9 work independently as extracellular components upon fusion of sperm and oocyte. *Biology Open*, Advance Online Publication, 1, 640-647, 2012
DOI:10.1242/bio.20121420 (査読有)

23. Sato M, Akasaka E, Saitoh I, Ohtsuka M, Nakamura S, Sakurai T, Watanabe S: A simplified protocol for the semi-large scale recovery of plasmids from *Escherichia coli* grown on agar plates. *Journal of Biomedical Science and Engineering*, 5, 406-408, 2012.
DOI:[org/10.4236/jbise.2012.57051](http://dx.doi.org/10.4236/jbise.2012.57051). (査読有)

24. Sato M, Akasaka E, Saitoh I, Ohtsuka M, Watanabe S: Development of a technique for efficient gene transfer to antral follicular cells in the mouse ovary. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 58, 136-141, 2012
DOI:10.3109/19396368.2012.656796. (査読有)

25. Saitoh I, Sato M, Iwase Y, Akasaka E, Yamasaki Y, Noguchi H: Generation of a set of mouse STO feeder cell lines that confer resistance to several types of selective drugs. *Cell Medicine*, 3, 97-102, 2012.
DOI:<http://dx.doi.org/10.3727/215517912X639414> (査読有)

26. Ohtsuka M, Miura H, Sato M, Kimura M, Inoko H, Gurumurthy CB: PITT: Pronuclear injection-based targeted transgenesis, a reliable transgene expression method in mice, *Experimental animals* 61, 489-502, 2012 DOI: 10.1538/expanim.61.489 (査読有)

27. Ohtsuka M, Miura H, Gurumurthy CB, Kimura M, Inoko H, Yoshimura S, Sato M: Fluorescent transgenic mice suitable for multi-color aggregation chimera studies. *Cell and Tissue Research*, 350, 251-260, 2012 DOI: 10.1007/s00441-012-1470-0. (査読有)

28. Nakamura N, Ishihara M, Takikawa M, Kishimoto S, Isoda S, Fujita M, Sato M, Maehara T: Attenuation of limb loss in an experimentally induced hindlimb ischemic model by FGF-2/ F/P MPs as a delivery

system. Tissue Engineering Part A, 18, 2239-2247, 2012
DOI:10.1089/ten.TEA.2011.0741. (査読有)

〔学会発表〕(計 25 件中、一部抜粋)

1. Murakami T, Saitoh I, Iwase Y, Inada E, Mastuyama J, Ohshima H, Hayasaki H, Sato M, Multipotency of juvenile human buccal epithelial cells. AADR, 2014 年 3 月 (North Carolina).

2. 渡部 聡、梶原景正、麥倉真一郎、桜井敬之、中村伸吾、木村穰、佐藤正宏 : gcr2 タンパクは糖鎖を介して I 型 BMP 受容体と結合しシグナル伝達制御に関与する、第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月 (神戸)

3. 佐藤正宏、三好和睦、長尾洋三、西洋平、大塚正人、中村伸吾、桜井敬之、渡部聡 : RISPR/Cas9 による遺伝子編集と標的毒素法との組み合わせは、 α -1,3-galactosyltransferase 遺伝子を完全に KO したブタ胎仔性線維芽細胞の効率的作製に有効である、第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月 (神戸)

4. 中村伸吾、前原正明、渡部聡、石原雅之、佐藤正宏 : ハイドロダイナミクスに基づく生体内遺伝子導入における外来遺伝子発現のマウス系統差および肝臓ロブ間の差、第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月 (神戸)

5. Tada N, Kanai F, Nakamura E, Lu H, Saito M, Sato M: Syngenic grafting of a whole male juvenile gonadal tissue into the adult testes confers successful spermatogenesis in mice. The 3rd World Congress of the International Society for Fertility Preservation, Malia Valencia Hotel, Valencia, Spain, 7-9 November, 2013

6. 郡山美優、稲田絵美、齋藤一誠、三浦浩美、大塚正人、中村伸吾、桜井敬之、渡部聡、三好和睦、佐藤正宏、トランスポゾン PiggyBac システムによる複数遺伝子のブタ細胞への同時導入、第 106 回日本繁殖生物学会、2013 年 9 月 (東京).

7. 村上智哉、齋藤一誠、稲田絵美、岩瀬陽子、長谷川大子、窪田直子、松本祐子、大島邦子、岡 暁子、山崎要一、早崎治明、ヒト乳歯歯髓由来 iPS 細胞樹立におけるフィーダー細胞選択の重要性、第 51 回日本小児歯科学会、2013 年 5 月 (岐阜).

8. 大塚正人、三浦浩美、佐藤正宏、木村穰 : 受精卵への iCre mRNA 注入によるターゲットトランスジェネシス法 (PITT 法) の効率改善、第 60 回日本実験動物学会総会 2013 年 5 月

(茨城)

9. Sato M, Akasaka E, Ssaito I, Ohtsuka M, Watanabe S, Attempts to produce transgenic mice by a novel in vivo method, as an alternative to the pre-existing pronuclear microinjection-based transgenesis., 11th Transgenic Technology Meeting, Feb. 25 to 27, 2013 (Guangzhou City, P.R. China), 2013 年 2 月 (中国).

10. 佐藤正宏、赤坂恵理、齋藤一誠、大塚正人、渡部聡 : マウス成熟卵細胞への生体内遺伝子導入法の開発、第 35 回日本分子生物学会年会、2012 年 12 月 (福岡)

11. 乃村俊樹、齋藤一誠、稲田絵美、長谷川大子、松本祐子、窪田直子、山崎要一、初代ヒト乳歯歯髓細胞における幹細胞特異的遺伝子発現の探索、第 30 回日本小児歯科学会九州地方会大会、2012 年 11 月 (長崎).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川 大子 (HASEGAWA, Hiroke)
鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号 : 00295271

(2) 研究分担者

佐藤 正宏 (SATO, Masahiro)
鹿児島大学・医用ミニブタ先端開発研究センター・教授
研究者番号 : 30287099

齋藤 一誠 (SAITOH, Issei)
新潟大学・医歯学総合研究科・准教授
研究者番号 : 90404540

山崎 要一 (YAMASAKI, Youichi)
鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授
研究者番号 : 30200645

早崎 治明 (HAYASAKI, Haruaki)
新潟大学・医歯学総合研究科・教授
研究者番号 : 60238095

野口 洋文 (NOGUCHI, Hirofumi)
独立行政法人国立病院機構・千葉東病院臨床研究センター・研究員
研究者番号 : 50378733