

# Transdifferentiation of mouse adult fibroblasts by ribosomes

ドット, オナミカ

<https://hdl.handle.net/2324/7329414>

---

出版情報 : Kyushu University, 2024, 博士 (システム生命科学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :



|        |                                                                                          |         |                                |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------|--------------------------------|
| 氏 名    | ANAMIKA DATTA                                                                            |         |                                |
| 論 文 名  | Transdifferentiation of mouse adult fibroblast by ribosomes<br>(リボソームによるマウス成体線維芽細胞の形質転換) |         |                                |
| 論文調査委員 | 主 査                                                                                      | 九州大学教授  | 太田 訓正                          |
|        | 副 査                                                                                      | 九州大学准教授 | S. Chowdhury Vishwajit (基幹教育院) |
|        | 副 査                                                                                      | 九州大学講師  | 熱田 勇士                          |

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

iPS 細胞の樹立に続き、最近では、small molecule やペプチドを用いて多能性幹細胞が樹立されているが、これらの細胞は私たちの身体には存在しない人工細胞である。

本研究の発端は、古細菌や真正細菌が細胞に取り込まれ、宿主細胞と遺伝子のやりとりを行い、ミトコンドリアや葉緑体となり、真核細胞が誕生したと唱える細胞内共生説にヒントを得て、自然界に存在する細菌を細胞に取り込ませれば、新たな細胞が誕生するのではないかという仮説のもとスタートしたプロジェクトである。

本研究は、成体マウス耳からパンチングにより単離された線維芽細胞と、リボソーム L12 タンパク質に His タグが付加された大腸菌（内在性の L12 タンパク質の代わりに L12-His タンパク質が発現している）から His-タグカラムを用いて精製された L12-His リボソームを実験材料として用いて行われた。

本実験は、4-well-dish を用いて行った。各 well の細胞数を  $1.0 \times 10^5$  個とし、細胞塊を形成するために必要なリボソーム量の最適化を行ったところ、50 ug が最適であることが判明した。次に、リボソームを取り込んだ成体マウス耳由来線維芽細胞が形成する細胞塊が、多能性を有するかアルカリホスファターゼ染色を行い、細胞塊が紫色を呈したことから、この細胞塊は多能性を有することが示された。さらに、取り込まれたリボソームの局在を抗 His 抗体で免疫染色を行ったところ、リボソームは細胞質だけでなく核にも取り込まれていることが判明した。

さらに、成体マウス耳由来線維芽細胞にリボソームを取り込ませてから 2 週間後、細胞塊を分化誘導培養液で 2-3 週間培養した。その後、脂肪細胞、骨芽細胞、軟骨細胞への分化を、オイルレッド O 法、アリザリンレッド法、アルシアンブルー法により確認したところ、各々の細胞への分化誘導が観察された。さらには、神経・グリア細胞への分化を TuJ-1 抗体、NG2 抗体、GFAP 抗体を用いた免疫染色法により示した。

次に、リボソームを取り込むことで、線維芽細胞としての性質が変化しているかを調べるために、中胚葉マーカーである vimentin の発現を免疫染色法、ウェスタンブロット法、qRT-PCR 法により調

べた。全ての解析で vimentin の発現量が減少していたことから、リボソームが細胞を形質転換したことが示された。

成体マウス耳由来線維芽細胞にリボソームを取り込ませると、細胞塊を形成後、細胞増殖は抑制されることから老化マーカーである P16 と P19 の発現を qRT-PCR 法により調べたところ、これらのマーカーの発現量は増加していた。

成体マウス耳由来線維芽細胞にリボソームを取り込ませて形成された細胞塊において主要な多能性マーカーの発現を Oct4、Nanog、Sox2 に着目して調べたが、これらの転写因子の発現は観察されなかった。そこで、RNA-seq 法により他の分子の発現量の変化を調べたところ、Dnmt3I、Sox5、Tbx3、Cdc73 などのマイナーな多能性マーカーの発現が誘導されていることが判明した。観察した。

本論文では、成体マウス耳由来の線維芽細胞においても、リボソームによる細胞の形質転換は誘導されていることが明らかになったが、一般的に知られている多能性マーカー（Oct4、Nanog 等）の発現は亢進せず、Sox5、Tbx3 などの比較的稀な多能性マーカーの発現が誘導され、骨芽細胞、脂肪細胞、神経・グリア細胞へと分化する能力を獲得したことが示唆された。

本研究は、自然界で起こりうる細胞の多能性獲得機構の解明に大きく貢献する成果であり、幹細胞生物学分野において重要な知見を得たものとして価値ある業績である。よって、本論文は博士（システム生命科学）の学位論文に値するものと認める。