

雞誘導多能性 幹細胞株

的建立與未來應用

◎生理組／劉振發 陳立人

◎新竹分所／蕭振文

誘導多能性幹細胞（induced pluripotent stem cells, iPSCs）技術，是以人工的方式將體細胞反轉成未分化狀態的細胞，而且其具有類似胚幹細胞的分化多能性之特性。

iPSCs技術在生物醫學科技的應用上，可提供品質穩定的幹細胞株，供科學家進行研究。因此，iPSCs技術在生物醫學的研發應用廣受世界的矚目。行政院農業委員會畜產試驗所（以下簡稱本所）繼2015年豬iPSCs技術發表之後，經過2年半的研究，又成功建立臺灣第一株雞誘導多能性幹細胞（ciPSC）技術（圖1）。

家禽是一種很好的試驗模式動物，常被使用在發育生物學、疫苗開發與疾病模式之研究。一般在進行生物（醫）學的研究，模式動物測試是一種很關鍵的過程，然而活體動物使用與維持成本高。因此，發展出細胞模式來取代，除了可降低使用活體動物的成本外，細胞在實驗室中可得到好的管控，也可減少活體動物因個體差異所可能產生的誤差，提高準確性。然而，雞不像哺乳動物已經建立幹細胞株，可提供進行生物醫學等相關研究用。在於雞方面，可供做為研究的細胞株非常欠缺。

目前許多疫苗的生產是利用家禽（雞）的胚胎或是初代培養的雞胚胎纖維母細胞進行生產，但此方式確有潛在的生產風險，例如未受病原污染的「無特定病源雞蛋」短缺、病毒株毒性過強而無法利用雞胚蛋培養，以及胚蛋的個體差異造成的疫苗生產及品質管制的困難等，另一風險是卵清蛋白可

能引起過敏反應。相對的，運用細胞為基礎的疫苗製造是不存在此類風險。因此，分離與建立品質穩定的家禽幹細胞株，對於基礎科學研發和實際疫苗之生產及應用等研究均有迫切之需求。

另外，在種原的保存除了活體保種外，生殖細胞或胚的冷凍亦是被認為具有穩定安全與低成本的一種保種方式。大部分家畜的生殖細胞或胚是可以被凍存，但是在家禽部分除了精子可以被凍存外，家禽的卵子至今仍無法凍存。雖然有發展出家禽始基生殖細胞（PGC）轉殖技術，透過PGC凍存亦可達到種原保存的目的。但是PGC在體外培養時其生長效率不高而造成應用上的缺點。

胚幹細胞是一種具有自我更新、不斷裂殖及分化成三胚層與生殖細胞系等不同組織形態與生理功能之細胞，因此凍存胚幹細胞亦可達到種原保存的目的。故在雌家禽生殖細胞的保存有其先天的限制情況下，保存家禽iPSCs，亦是提供家禽保種的另一個方法。

家禽iPSCs除了提供家禽保種的另一個方法外，也是一個進行家禽基因轉殖研究很好的媒介。過去在家禽基因轉殖的研究常選用PGC作為媒介。但是因PGC在分離純化較為繁瑣、體外培養生長速度慢及形成嵌合體的潛力會隨著體外培養時間的增加而顯著降低，因此降低其應用的潛力。上述家禽PGC的缺失在iPSCs均獲得明顯的改善。

本所經過長達40次以上的繼代（400天）培養及相關的實驗證實（圖2、3），成

功誘導出臺灣第一株雞的iPSCs，這是一株穩定且具多元分化潛能的細胞株。此研發成果，獲邀在2017年9月份於日本沖繩縣所舉辦的「第四屆世界生殖生物學會議」中發表。本項雞iPSCs平台技術，未來除可應用

在人工生殖、細胞或性別分化的調控、動物疫苗或流感疫苗的穩定生產及轉基因家禽研發外，亦可應用在瀕臨絕種動物的保種和復育的保育工作上，為生命科學發展奠立革命性的一步。

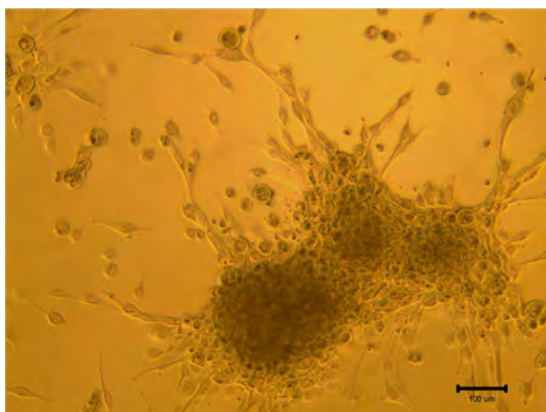


圖1. 雞誘導多能性幹細胞株之細胞群落形態。
Scale bar = 50 μ m.

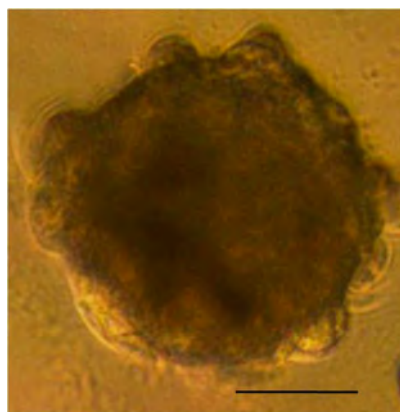


圖2. 雞誘導多能性幹細胞誘導形成類胚體。Scale bar = 100 μ m.

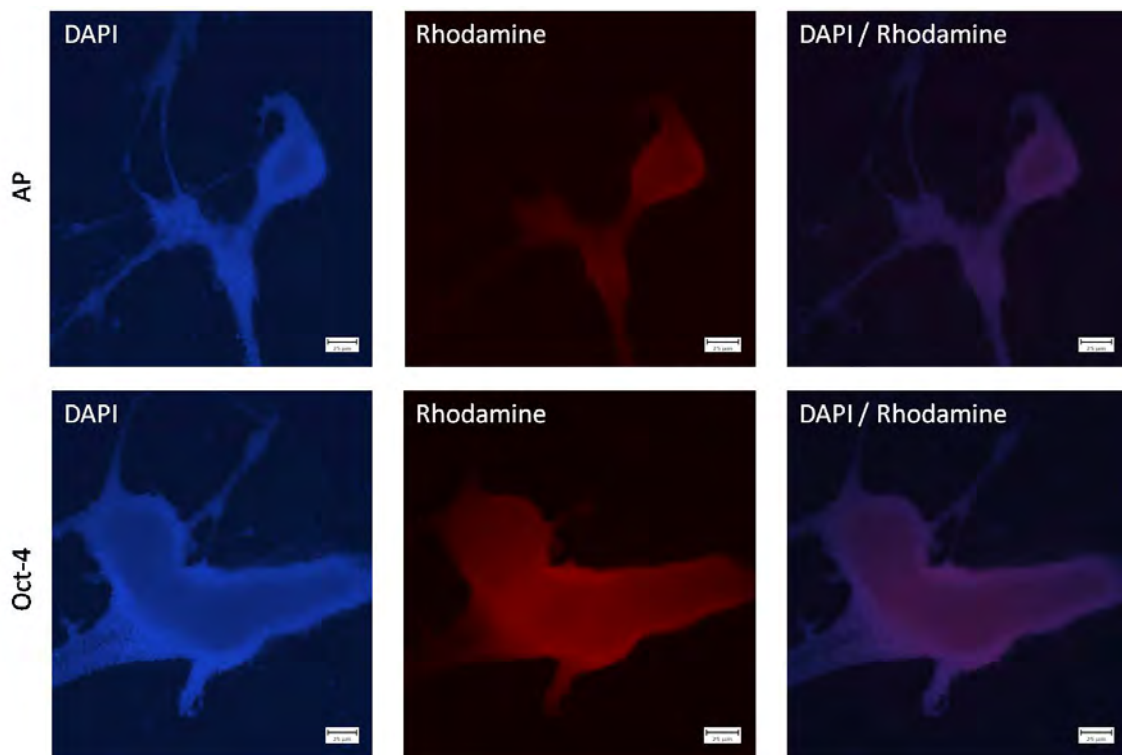


圖3. 利用 AP 及 Oct-4 抗體對培養 280 天的雞誘導多能性幹細胞 (ciPSC) 進行免疫組織學染色，呈陽性反應。Scale bar = 50 μ m.