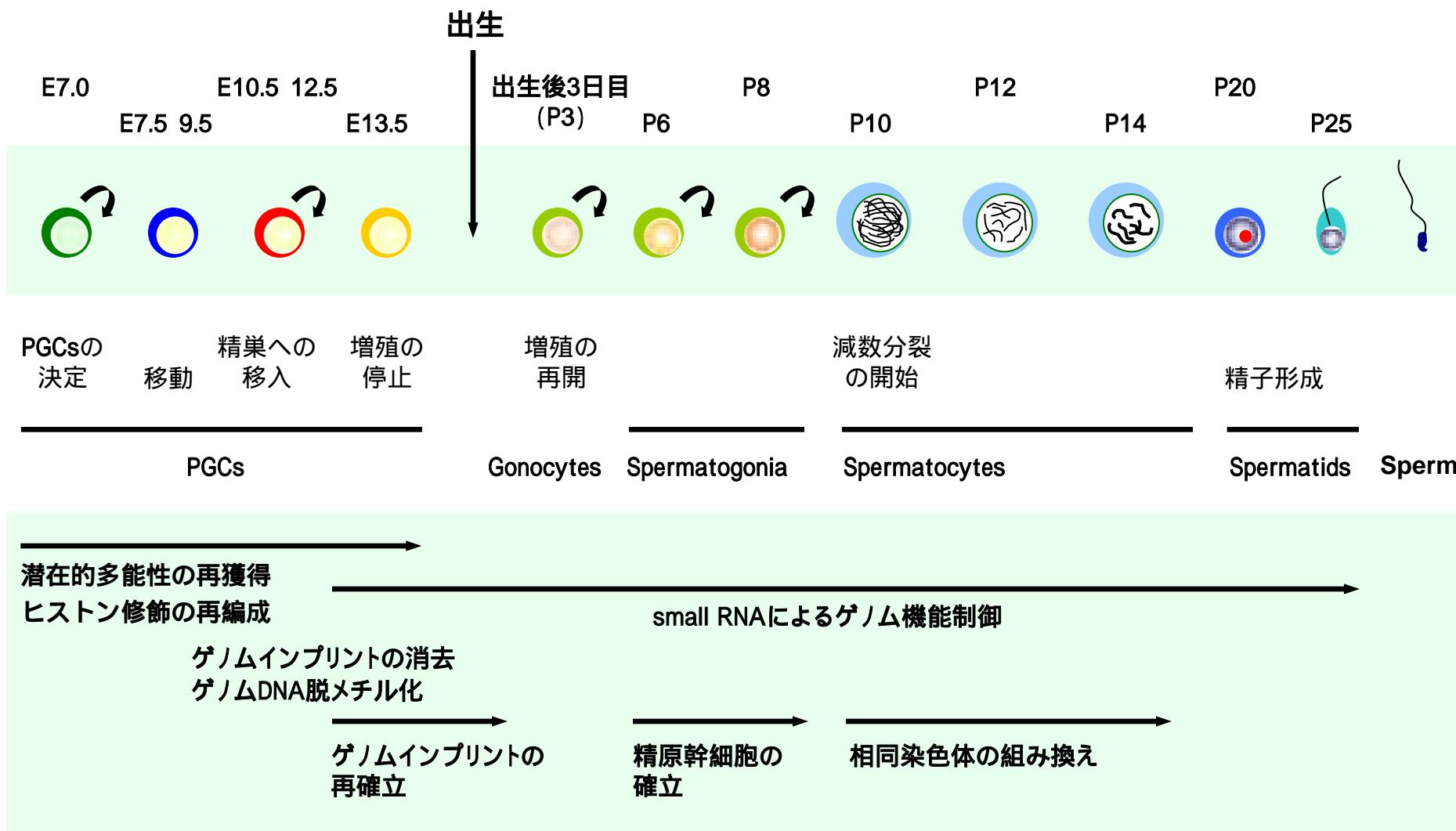


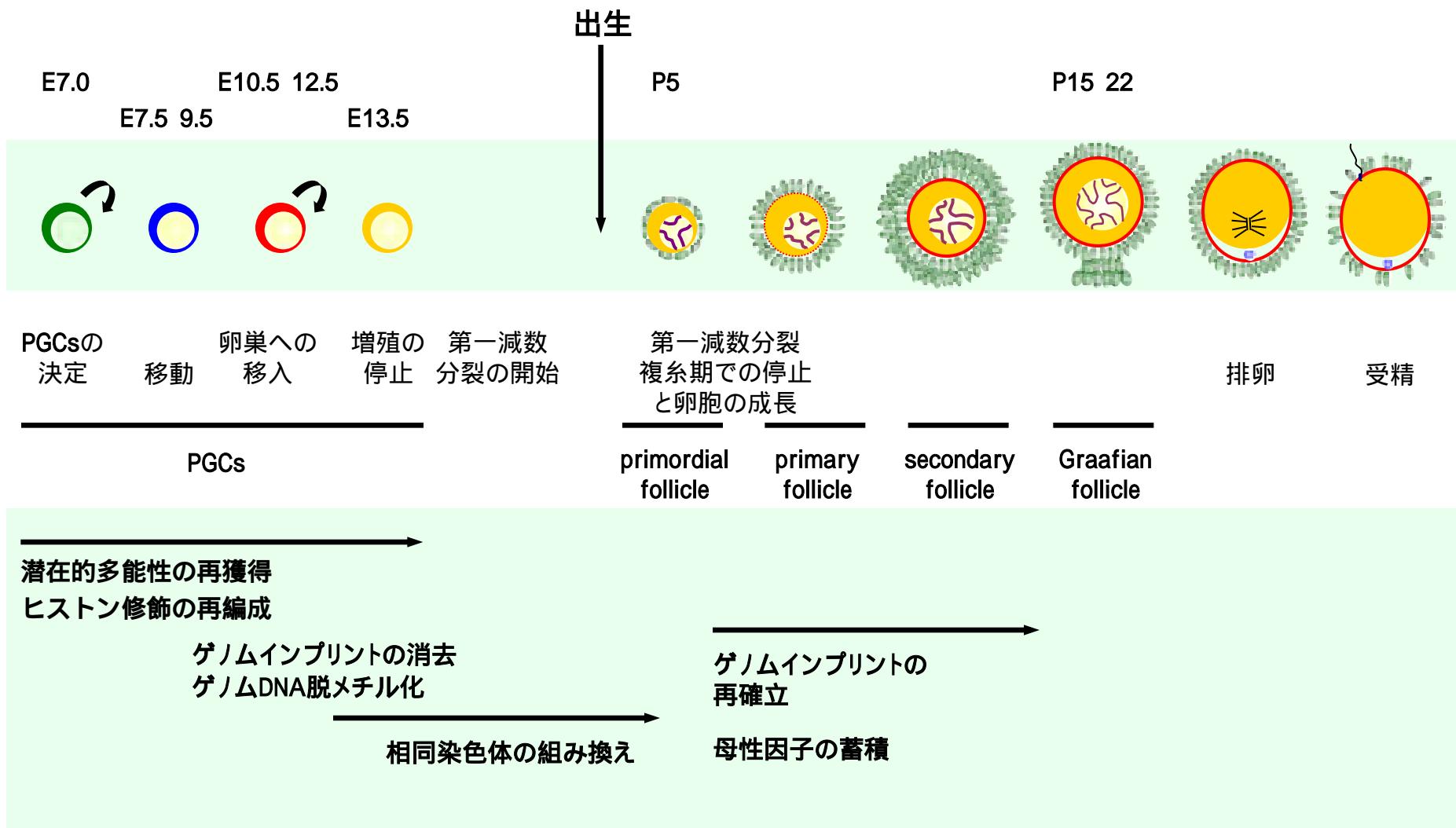
生殖細胞の発生は複雑である！

2) マウス始原生殖細胞(PGCs)から精子の発生

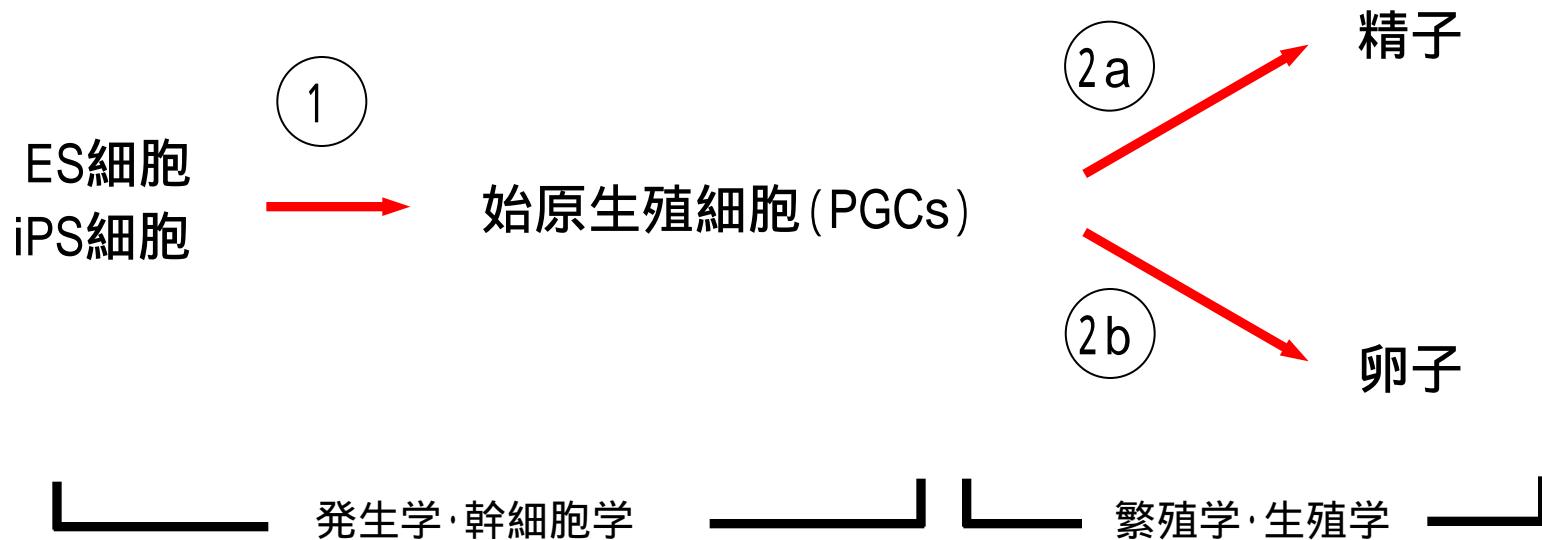


生殖細胞の発生は複雑である！

3) マウス始原生殖細胞(PGCs)から卵子の発生



多能性幹細胞(ES/iPS細胞)からの生殖細胞作成方法



1. ES/iPS細胞から配偶子を作成する場合も必ず始原生殖細胞(あるいはそれに類似した細胞)を経由する。
2. よってES/iPS細胞から生殖細胞を作成する研究は、大きく始原生殖細胞の前後、とに分けて整理できる。

これまでの方法の問題点

これまで報告してきた多く(すべて)の方法では、ES細胞をランダムに分化させ、その中で比較的後期の始原生殖細胞マーカーを発現する細胞を、試験管内誘導始原生殖細胞とし、それらをさらにランダムに分化させて、いくつかのマーカーを発現する細胞を、精子様細胞もしくは卵子様細胞と呼んできた。

その結果： 作成効率が低い

作成の再現性が著しく乏しい

中間産物である始原生殖細胞様細胞の品質評価が行われていない

最終産物(精子様もしくは卵子様細胞)が全く機能しない

という状態であった。

考えられる解決法： 生体内での生殖細胞発生機構に基づき、選択的にkey processを再現させ、機能的な始原生殖細胞を作成することが研究の第一歩である。

→ 生体における始原生殖細胞発生機構の理解が不可欠

我々の研究のこれまでの成果

マウスを用いて:

1. 生殖系列の起源の同定
2. 生殖系列形成のシグナル原理の解明
3. 生殖系列決定に必須な転写調節因子の同定
4. 生殖系列決定過程にエピゲノムリプログラミングを誘導する機構が内包されているという概念を樹立
5. 単一細胞マイクロアレイ法の開発
6. 多能性幹細胞を用いて生殖細胞形成過程の試験管内再構成

胚体外胚葉(エピプラスト)からの始原生殖細胞様細胞誘導

発生 6 日目胚



臓側内胚葉を除く



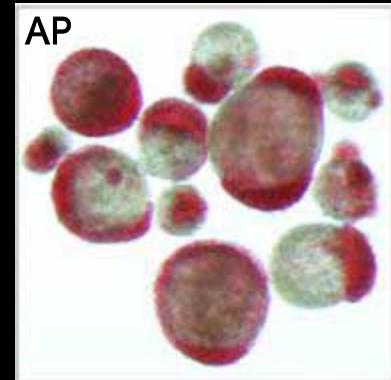
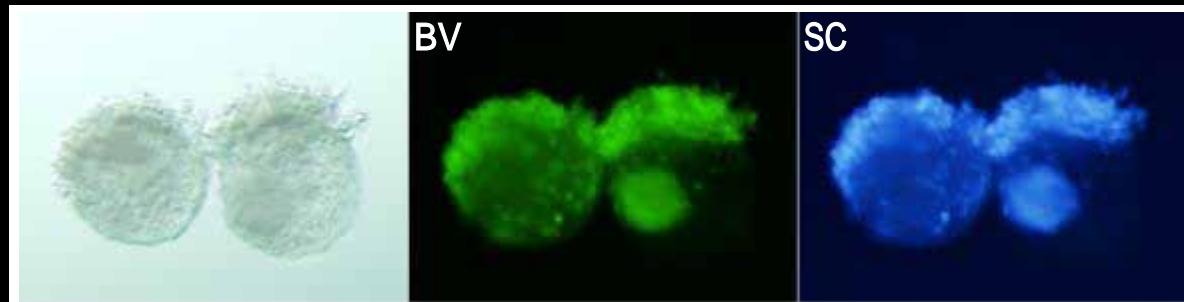
胚体外外胚葉を除く



132時間培養(in GMEM+KSR with BMP4, LIF, SCF, BMP8b, EGF)

Blimp1-mVenus:stella-ECFP(BVSC)

132 hr

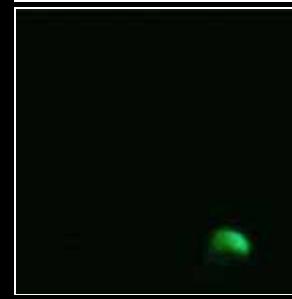


エピブラスト由来始原生殖細胞様細胞は移植により健常な精子及び子孫を形成

非移植精巣



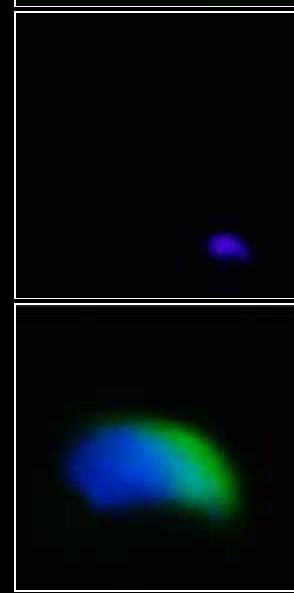
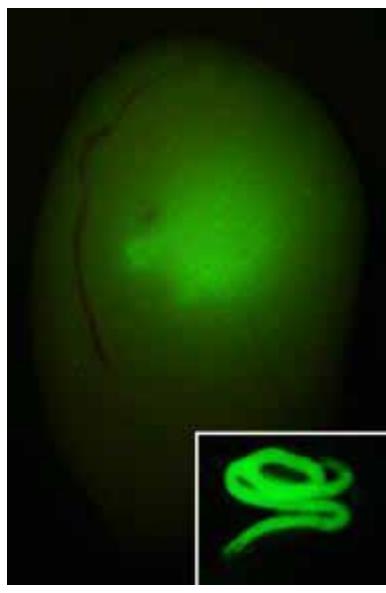
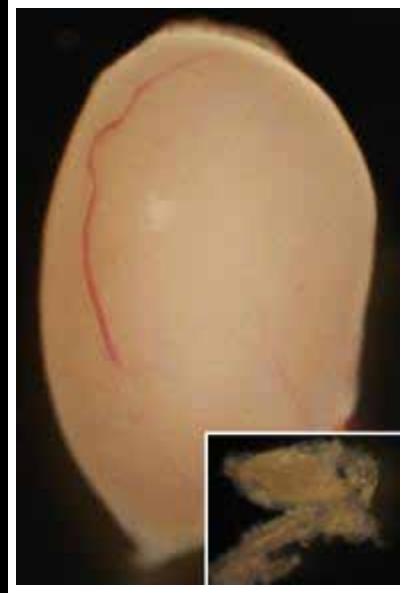
始原生殖細胞様細胞
由来精子



始原生殖細胞様細胞
由来精子による新生仔



始原生殖細胞様細胞移植精巣



(Ohinata et al., Cell, 2009)

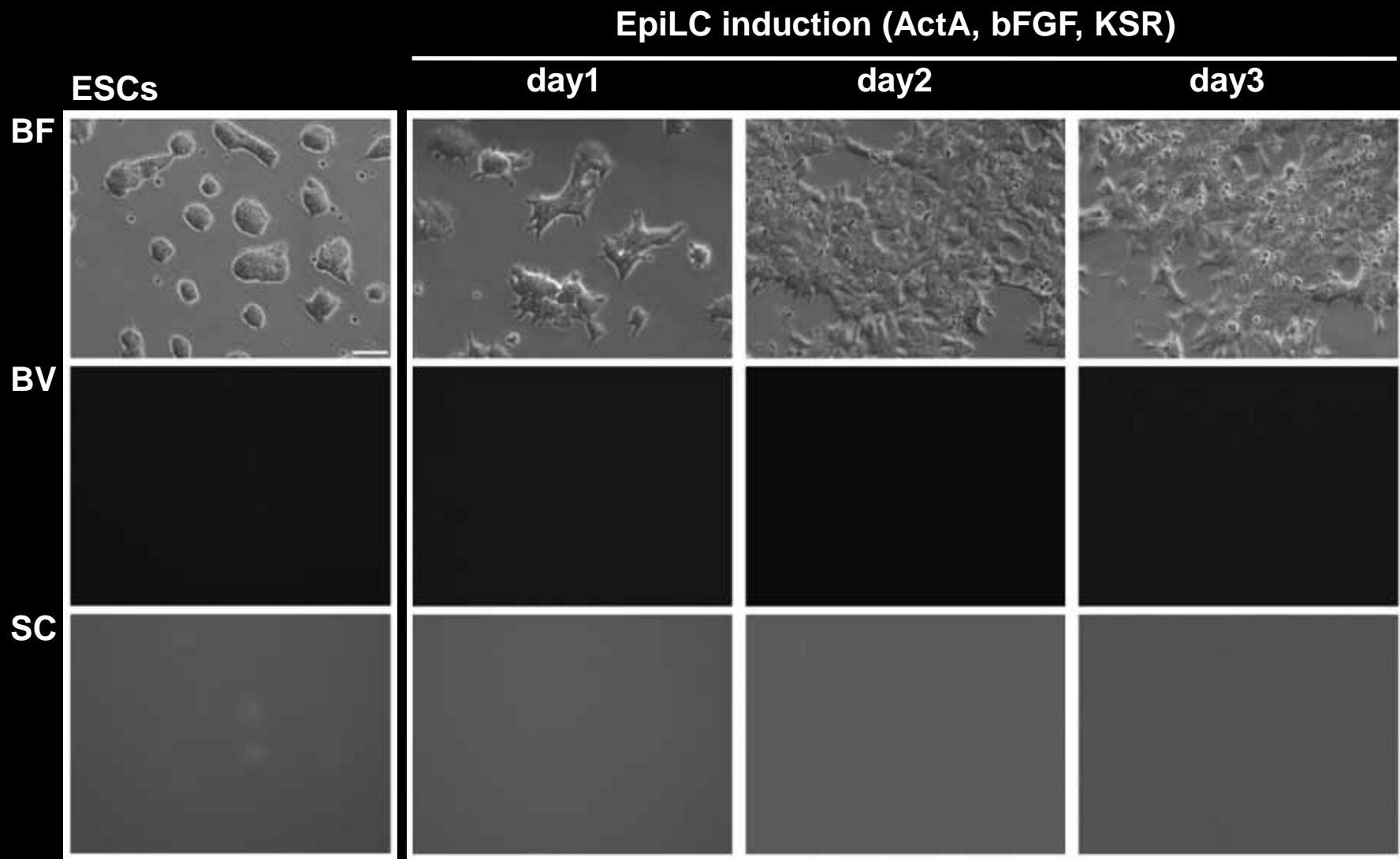
多能性幹細胞からの始原生殖細胞作成方法



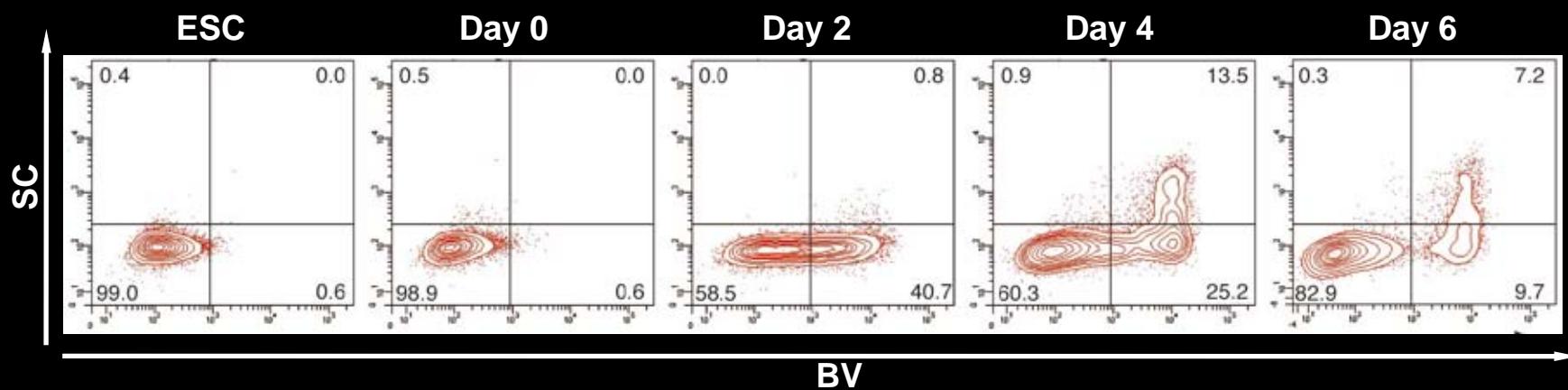
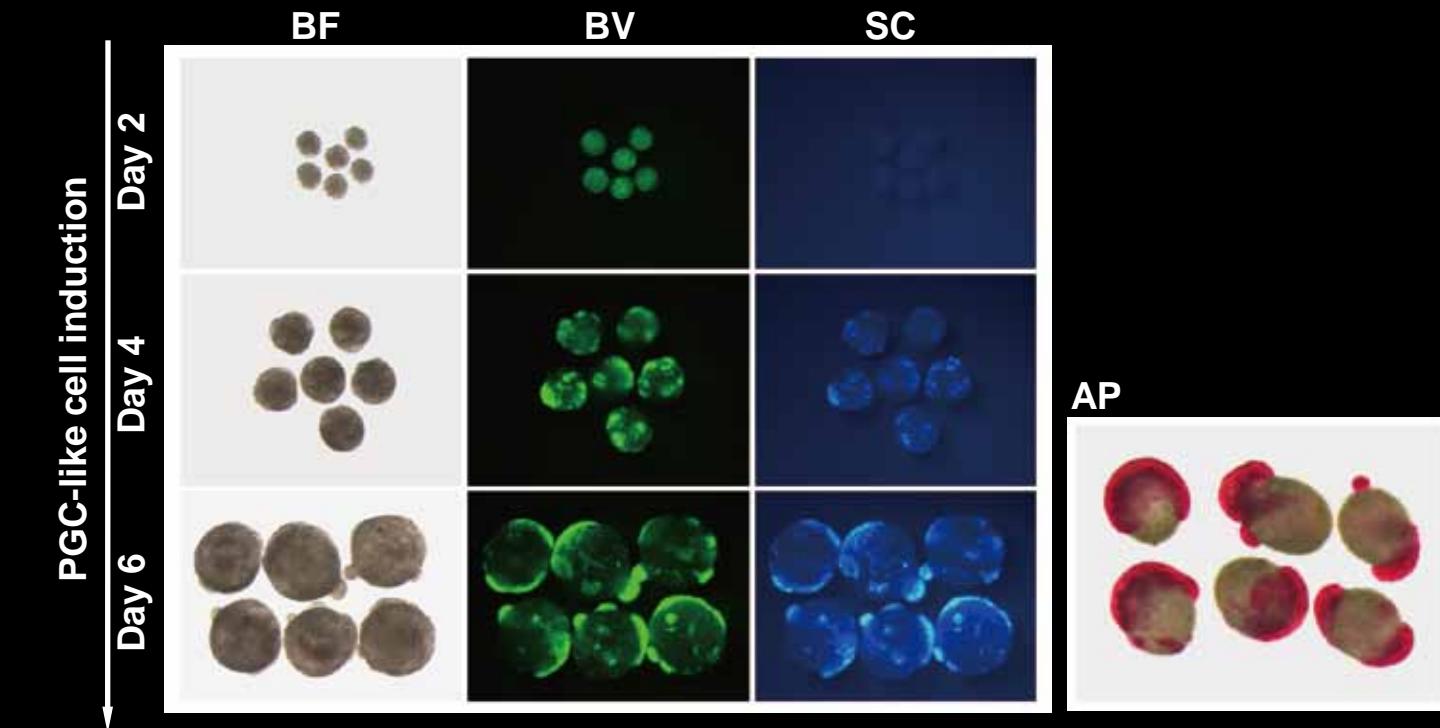
1. ES/iPS細胞から生殖細胞形成能を有するエピblast様細胞を誘導する(エピblast幹細胞の可能性)
2. エピblast様細胞(エピblast幹細胞)から始原生殖細胞様細胞を誘導する
3. 始原生殖細胞を試験管内で増殖させる

これらが成功して初めて、ES/iPS細胞からの配偶子作成実験がより科学的に遂行できると考えられる。

ES細胞からのエピプラスト様細胞 (EpiLCs) の誘導



エピプラスト様細胞 (EpiLCs) のからの始原生殖細胞様細胞 (PGCLCs) の誘導



多能性幹細胞を用いた始原生殖細胞形成過程の試験管内再構成

