

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：32658

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2013～2017

課題番号：25114008

研究課題名(和文) in vitro において卵を産生する新規技術の開発

研究課題名(英文) Establishment of novel in vitro systems to produce mammalian oocytes

研究代表者

尾畑 やよい(Yayoi, Obata)

東京農業大学・生命科学部・教授

研究者番号：70312907

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 101,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、世界に先駆けてマウス始原生殖細胞(PGC)から成熟卵を産生する培養系の確立に成功した。

これまでの培養系でPGCから成熟卵を産生できない主要因は卵胞形成不全にあった。原因究明のためRNA-seq解析を行った結果、培卵卵巣ではエストロゲンパスウェイが過度に活性化されていることがわかった。そこでエストロゲン受容体阻害剤を培地に添加したところ、培養卵巣で二次卵胞が形成された。これらの二次卵胞を高分子化合物添加培地で培養すると、非添加区より有意に多くの成熟卵が得られ、受精後、産仔へ発生することが示された。構築された培養系は卵形成解析あるいは成熟卵量産ツールとして今後が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we successfully established an in vitro system that produces mature oocytes from mouse primordial germ cells (PGC), for the first time.

The main challenge which we had to overcome was abnormal follicle formation in vitro. To understand the cause of abnormal follicle formation, RNA-seq analysis was conducted in the explants. We found that the estrogen pathway was excessively activated in the cultured ovaries. Therefore, an antagonist of estrogen receptor was added to the medium. This resulted in secondary follicle formation in the cultured ovary. The isolated secondary follicles were cultured in the medium supplemented with macromolecular compounds. Addition of macromolecular compounds to the medium increased the number of matured oocytes. These mature oocytes were able to develop to offspring after fertilization and embryo transfer. In the future, this in vitro system will be useful tools which assist in understanding oogenesis and producing a lot of mammalian oocytes.

研究分野：発生工学

キーワード：卵子形成 卵胞形成 in vitro 培養

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の卵母細胞はその形成過程で、減数分裂やインプリンティングを完了させる他、発生に必要な mRNA・タンパク質を合成・蓄積し細胞質を成熟させる。しかし、卵の機能を左右する要因は多岐にわたり、その全容は明らかにされていない。一方、卵巣内で卵母細胞は非成長期卵母細胞の状態プールされており、動物種固有の性周期と排卵数に応じて、一部の非成長期卵母細胞のみが成熟卵へと発育する。そのため、生体内で産生される成熟卵はごくわずかであり、増殖期の始原生殖細胞から *in vitro* で卵母細胞を分化・成熟させることが可能になれば、機能的な成熟卵を量産し家畜育種や希少動物の保護に役立つことが期待される。さらに、生体内では見えない複雑な発生現象を可視化でき、卵母細胞の分化・成熟に必要な分子機構を解明するツールになりうる。

これまでに申請者らは、体外培養系により、卵形成の全過程を *in vitro* で再現できるか否か検討してきた。胎齢 12.5 日のマウス胎仔から採取した始原生殖細胞のみが含まれる生殖巣をスタートとして、培養 28 日目に卵胞より卵母細胞を採取したところ、ごく一部の卵母細胞は生体由来に匹敵するほど成長したが、これらの卵母細胞が自律的に第二減数分裂中期へ成熟することはなかった。このように、卵形成の全過程を *in vitro* で再現する培養法は、国内外を通じてこれまで確立されていない。

2. 研究の目的

本研究は、*in vitro* においてマウス始原生殖細胞から成熟卵を産生するための新規技術の開発を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

1) マウス胎仔生殖巣の器官培養

C57BL/6N 雌マウスと DBA/2J 雄マウスを同居させ、膣栓が確認された日の正午を妊娠 0.5 日 (days post coitum; dpc) とした。12.5 dpc で C57BL/6N 雌マウスより BDF1 胎仔を採取し、雌の生殖巣のみ回収した。回収した生殖巣は 6-well プレートにセットされた Transwell-COL 24 mm インサートメンブレン (Corning) 上で 10% ウシ胎子血清 (fetal bovine serum; FBS) 添加 α -MEM 培地 (Gibco) を用いて培養した。培地は 1 日おきに半量交換した。

2) 卵胞培養

卵巣からタングステン針で二次卵胞を回収し 35 mm ディッシュにセットされた Millicell メンブレンインサート (Millipore) 上で 5%FBS、2% ポリビニルピロリドン (polyvinylpyrrolidone; PVP) および 0.1 IU/ml FSH 添加 α -MEM 培地にて 3 日間培養した。次いで、これらの卵胞を 0.1% コラゲナーゼ添加 L15 培地にて 37 °C でインキュベートした。コラゲナーゼ処理後、L15 培地で卵胞を洗浄

し、ガラスキャピラリーによるピペッティングで莖膜細胞層を可能な限り除去した。これらの卵胞は、6-well プレートにセットされた Transwell-COL 24 mm インサートメンブレン上で 5%FBS、2% PVP および 0.1 IU/ml FSH 添加 α -MEM 培地にて、さらに 9-11 日間培養した。培地は 1 日おきに半量交換した。

3) 成熟培養

培養卵胞から卵丘細胞-卵母細胞複合体 (cumulus-oocyte complex; COC) を採取し、5%FBS、4 ng/ml EGF、1.2 IU/ml hCG および 0.1 IU/ml FSH 添加 α -MEM 培地にて、17 時間培養した。

4) 得られた卵母細胞の発生能解析

第二減数分裂中期に成熟した卵母細胞は、BDF1 成熟雄マウスより採取した精子を用いた体外受精に供試し、媒精 6 時間に 2 前核の形成と第二極体の放出が認められた正常受精卵を KSOMaa 培地にて培養した。2 細胞期まで発生させた後、偽妊娠 0.5 日目の受胎マウス卵管に移植し個体発生能を評価した。また、一部は胚盤胞期まで培養し、着床前発生能を評価した。

5) 卵巣の RNA-seq 解析

培養 7 日目の培養卵巣と出生後 0 日目の新生仔マウス由来卵巣より RNA を抽出し、cDNA ライブラリーは TruSeq RNA Sample Preparation Kit v2 (Illumina) を用いて作製した。50 bp のシングルエンドリードを HiSeq 2500 sequencer (Illumina) で解読した。マッピングは CASAVA ソフトウェア (Illumina) を用いマウスゲノム GRCm/mm10 を参照データとした。以後の解析は Strand NGS v2.1 (Strand Genomics) と Ingenuity Pathway Analysis (Ingenuity) ソフトウェアを用いて解析した。

6) その他の解析

定量 RT-PCR、免疫染色、および DNA メチル化解析などは定法に従って行った。

4. 研究成果

マウス胎仔生殖巣を採取し、中腎を切り離し、Transwell-COL 上で培養した。培養 0 日目では生殖巣の生殖細胞で減数分裂マーカー SYCP3 のシグナルは検出されなかったが、培養 5 日目には対合する染色体上にシグナルが検出され、生殖細胞は培養下で減数分裂に移行し卵母細胞に分化していることが示された。培養 17 日目には培養卵巣に 100 以上の成長期卵母細胞が観察された。さらに卵巣培養を継続したが、卵巣内の細胞は退行し、成熟卵を分化させるまで卵巣培養を継続することは困難と考えられた。そこで卵巣から二次卵胞を単離し、卵胞培養を行うことにした。しかし、*in vitro* で分化した卵巣からは二次卵胞を採取することが困難で、明瞭な卵胞構造も確認できなかった。卵胞の基底膜を構成するラミニンの免疫染色を行ったところ、生体由来の二次卵胞は基底膜で完全に覆われているのに対し、*in vitro* で分化した卵巣内

の卵胞では、基底膜は不完全に途切れていた。また、*in vitro* で分化した卵巣内の組織学的解析では、隣り合う卵胞と顆粒膜細胞層や莢膜細胞層を不規則に共有していた。

そこで二次卵胞が形成されない原因を解明するために、表現型が生じる前の培養 7 日目の *in vitro* 由来卵巣と同時期の 0 日齢マウス由来卵巣の遺伝子発現解析を行うことにした。RNA-seq 解析の結果、卵巣では 30000 を超える遺伝子の発現が認められ、*in vitro* 由来卵巣と生体由来卵巣の遺伝子発現プロファイルには高い相関が認められた ($R = 0.99$)。したがって、*in vitro* において卵巣の発生・分化プログラムは概ね正常に動いていることがわかった。次にこれらの遺伝子群から *in vitro* 由来卵巣と生体由来卵巣で発現に有意差が認められるものを抽出し ($p < 0.05$)、ここから発現量が低いものを除外した (RPKM < 5)。さらに、*in vitro* 由来卵巣と生体由来卵巣で 3 倍以上の差次的発現を呈する遺伝子を抽出した。これら 547 遺伝子の Gene Ontology 解析の結果、Reproduction 関連のタームにこれらの遺伝子は有意に濃縮されていることが明らかとなり、遺伝子発現異常が卵胞形成に影響を及ぼすことが既に報告されている *Amh*、*Inhb*、および *Rfn3* が含まれた。次に差次的発現を呈した 547 遺伝子のパスウェイ解析を実施し、有意に共通性の高い上流制御因子を推定した。その結果、 β -エストロジオール、HP1、および β -カテニンが上位 3 因子としてこの順で抽出された。驚くべきことに、これら 3 因子はいずれもエストロジェン受容体に結合し転写を制御することが知られる因子であった。そのため、*in vitro* で分化した卵巣における遺伝子発現の異常の多くは、エストロジェン受容体を介して生じている可能性が示唆された。

マウスでは出生前後にエストロジェンなどの環境ホルモンに暴露されると、原始卵胞形成に異常が生じることも報告されていた。これらの事実から、*in vitro* 環境ではエストロジェンシグナルが活性化し、原始卵胞形成が阻害されているのではないかと考えた。しかし、*in vitro* ではエストロジェンの供給源となりうる母体や胎盤からは既に切り離されている。そこでエストロジェンシグナルが *in vitro* で過度に活性化する可能性として、1) *in vitro* の卵巣ではエストロジェン受容体の発現が上昇している、2) 培養卵巣自体がエストロジェンを過剰に合成している、3) 培地の成分にエストロジェンが含まれる、以上 3 つの可能性を検証することにした。エストロジェン受容体には *Esr1*、*Esr2*、および *Gpr30* の 3 種が知られている。これらの遺伝子の発現を定量 PCR により解析した結果、*in vitro* 由来卵巣と生体由来卵巣で差は認められなかった。そのため、1) の可能性は否定された。次に、エストロジェンの合成経路で最後の反応を触媒するアロマターゼに着目し、培地にアロマターゼ阻害剤 (アナストロゾー

ル) を原始卵胞が形成される培養 5 日目から培養 11 日目まで添加した。しかし、二次卵胞の形成はアナストロゾール非添加区と比較して改善されることはなかった。そのため、2) の可能性は否定された。最後に、培地にエストロジェンあるいはエストロジェン様物質が存在する可能性に着目した。培地に含まれるフェノールレッドあるいは培地に添加している FBS が最も疑わしいと考え、フェノールレッド不含の α -MEM 培地を用いて卵巣培養を行ったが、この方法でも二次卵胞の形成に改善は認められなかった。そこで、培養 5 日目から培養 11 日目の期間のみ、FBS の代わりに代替血清 (serum protein substitute; SPS) を使用した。その結果、*in vitro* 由来卵巣に明瞭な二次卵胞が形成され、平均で 1 卵巣あたり 27 ケの二次卵胞が回収された。FBS のみを添加した培地の卵巣では 1 卵巣あたり 6 ケしか回収されず、有意に回収卵胞数は増加した。さらに、培養 5 日目から培養 11 日目の期間のみ、FBS の他にエストロジェン受容体阻害剤 (ICI 182,780; ICI) を 1、5、および 10 μ M 添加した結果、ICI の濃度依存的に 1 卵巣あたりの回収卵胞数は 44 ケ、53 ケ、および 82 ケと増加した。SPS に 1 nM のエストロジオールあるいは ICI に同濃度のエストロジオールを添加すると再び卵胞形成は阻害された。以上の結果から、FBS 中にはエストロジェンシグナルを活性化する物質が存在し、卵胞形成期にこの作用を阻害することで *in vitro* においても二次卵胞が形成されることが示された。

得られた二次卵胞を回収直後にコラゲナーゼ処理すると、卵胞培養開始直後に卵母細胞が顆粒膜細胞層から裸化し、卵母細胞の生存と成長が困難な状況となった。一方、コラゲナーゼ処理を行わずに卵胞培養を実施したところ、卵胞の生存率は大幅に向上したが、複数層の莢膜細胞層に卵胞が覆われたことにより、卵胞内の細胞が培地と直接的に接することがなくなり、卵母細胞を囲む卵丘細胞層が貧弱になった。得られた卵母細胞は第二減数分裂中期まで成熟し、ごく一部は受精に成功するものの第一卵割を行う卵はほとんど得られなかった。卵胞培養により、卵母細胞を機能的に成長・成熟させるためには、莢膜細胞層を除去し、顆粒膜細胞と卵母細胞の複合体を培地に露出する培養法が必要と考えられた。そこで、培養卵巣から回収した二次卵胞を培養 3 日目にコラゲナーゼ処理し、顆粒膜細胞層を除去した顆粒膜細胞と卵母細胞の複合体を培養した。この方法で培養することで、卵母細胞の生存率は有意に 3 倍以上増加した。

これまでの申請者らの生体由来二次卵胞の先行研究で、卵胞培養培地に高分子化合物である PVP を添加することで得られた卵の受精後の発生能を向上させることなどを見出してきた。そこで、本研究においても、PVP 添加培地による卵胞培養を実施した。PVP 添

加の影響は、生体内で産生された二次卵胞の培養時よりも顕著であり、卵胞培養3日後の生存率および成長率は、高分子化合物非添加区と比較して有意に上昇した。また、サイトカインをコードする遺伝子の発現も有意に上昇し、PVP のもたらす粘度がオートクリンあるいはパラクリン因子の拡散を防止しているのではないかと推察した。PVP 添加により、最終的に成熟卵の回収率も非添加区のおよそ3倍有意に増加した。

種々の *in vitro* 系の検討の結果、卵胞培養12-14日後に、COCs が形成され、この COCs の成熟培養を実施した。得られた第二減数分裂中期卵子の核型を解析した結果 $n=20$ の半数体像が確認された。体外受精で正常に受精した受精卵のほとんどが2細胞期まで発生した。また、正常受精卵の50%以上が胚盤胞期へ発生することが認められ、さらに、2細胞期胚を偽妊娠雌マウスに移植した結果、産仔が誕生することが示された。生殖巣1ヶから最大で7匹のマウスが得られ、これまでに100匹を超えるマウスが誕生したが、出生時の体重や表現型、加えてマウスの寿命に差は認められなかった。誕生したマウスで卵母細胞に由来するエピジェネティック修飾、すなわち、インプリント遺伝子の DNA メチル化修飾が正常か否か解析したが、解析の限りにおいて異常は認められなかった。以上の結果から、ほ乳類で初めて、*in vitro* で始原生殖細胞から産仔へと発生しうる機能的な成熟卵の産生に成功し、*in vitro* で成熟卵を産生する新規技術を確立した。

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 15 件)

- 1 Mizumachi S, Aritomi T, Sasaki K, Matsubara K, and Hirao Y: Macromolecular crowded conditions strengthen contacts between mouse oocytes and companion granulosa cells during growth *in vitro*. *J Reprod Dev*, 64, 153-160 (2018) 査読有
doi: 10.1262/jrd.2017-162.
- 2 Morohaku K, Hirao Y, and Obata Y: Development of fertile mouse oocytes from mitotic germ cells *in vitro*. *Nat Protoc*, 12, 1817-1829 (2017) 査読有
doi: 10.1038/nprot.2017.069.
- 3 Hayashi K, Hikabe O, Obata Y, and Hirao Y: Reconstitution of mouse oogenesis in a dish from pluripotent stem cells. *Nat Protoc*, 12, 1733-1744 (2017) 査読有
doi: 10.1038/nprot.2017.070.
- 4 Hirao Y: Recent advances in understanding the regulation of oogenesis and its recapitulation *in vitro*: mouse and bovine models. *J Mamm Ova Res*, 34, 23-29 (2017) 査読有
doi: 10.1274/032.034.0105.

- 5 Morohaku K, Hirao Y, and Obata Y: Differentiation of Mouse Primordial Germ Cells into Functional Oocytes *In Vitro*. *Ann Biomed Eng*, 45, 1608-1619 (2017) 査読有
doi: 10.1007/s10439-017-1815-7.
- 6 Somfai T and Hirao Y: Synchronization of *In Vitro* Maturation in Porcine Oocytes. *Methods Mol Biol*, 1524, 255-264 (2017) 査読有
doi: 10.1007/978-1-4939-6603-5_16.
- 7 Hikabe O, Hamazaki N, Nagamatsu G, Obata Y, Hirao Y, Hamada N, Shimamoto S, Imamura T, Nakashima K, Saitou M, and Hayashi K: Reconstitution *in vitro* of the entire cycle of the mouse female germ line. *Nature*, 539, 299-303 (2016) 査読有
doi: 10.1038/nature20104.
- 8 Morohaku K, Tanimoto R, Sasaki K, Kawahara-Miki R, Kono T, Hayashi K, Hirao Y, and Obata Y: Complete *in vitro* generation of fertile oocytes from mouse primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113, 9021-9026 (2016) 査読有
doi: 10.1073/pnas.1603817113.
- 9 Morohaku K, Hirao Y, and Obata Y: Developmental competence of oocytes grown *in vitro*: Has it peaked already? *J Reprod Dev*, 62, 1-5 (2016) 査読有
doi: 10.1262/jrd.2015-148.
- 10 Obata Y: Epigenetic modification in mouse oocytes. *J Mamm Ova Res*, 31, 62-69 (2014) 査読有
doi: 10.1274/jmor.31.62.
- 11 Hara S, Takano T, Ogata M, Yamakami R, Sato Y, Kono T, and Obata Y: Establishment of a conditional transgenic system using the 2A peptide in the female mouse germline. *J Reprod Dev*, 60, 250-255 (2014) 査読有
doi: 10.1262/jrd.2013-143.
- 12 Hara S, Takano T, Fujikawa T, Yamada M, Wakai T, Kono T, and Obata Y: Forced expression of DNA methyltransferases during oocyte growth accelerates the establishment of methylation imprints but not functional genomic imprinting. *Hum Mol Genet*, 23, 3853-3864 (2014) 査読有
doi: 10.1093/hmg/ddu100.
- 13 Hirao Y, Somfai T, and Naruse K: *In vitro* growth and maturation of vitrified-warmed bovine oocytes collected from early antral follicles. *J Reprod Dev*, 60, 68-72 (2014) 査読有
doi: 10.1262/jrd.2013-089.
- 14 Obata Y, Wakai T, Hara S, and Kono T: Long exposure to mature ooplasm can alter DNA methylation at imprinted loci in non-growing oocytes but not in prospermatogonia. *Reproduction*, 147, H1-6 (2014) 査読有
doi: 10.1530/REP-13-0359.
- 15 Hirao Y, Naruse K, Kaneda M, Somfai T, Iga K, Shimizu M, Akagi S, Cao F, Kono T, Nagai T, and Takenouchi N: Production of fertile

offspring from oocytes grown in vitro by nuclear transfer in cattle. *Biol Reprod*, 89, 1-11 (2013)
査読有
doi: 10.1095/biolreprod.113.109439.

〔学会発表〕(計 28 件)

- 1 尾畑やよい: in vitro 卵形成から学ぶ卵胞形成のメカニズム. 第 13 回日本生殖発生医学会シンポジウム・招待講演 (2018)
- 2 府川夏実、佐々木恵亮、尾畑やよい: CRISPR/Cas9 システムによる新規 KRAB-ZFP 遺伝子機能欠損マウスの作製とその表現型解析. 第 13 回日本生殖発生医学会 (2018)
- 3 Sasaki K, Nakajima A, Morohaku K, Hara S, Asanuma Y, Sotomaru Y, Kono T, and Obata Y: Parental origin-derived primary memories are erased in Zfp57-deficient embryonic stem cells. 4th World Congress of Reproductive Biology (2017)
- 4 Aritomi T, Obata Y, and Hirao Y: A novel culture system to recapitulate mouse oogenesis from fetal gonads of 12.5 day post-coitum: toward a large scale production of mature oocytes. 4th World Congress of Reproductive Biology (2017)
- 5 Tanimoto R, Morohaku K, Kono T, Hirao Y, and Obata Y: Control of oocyte cyst breakdown and granulosa cell differentiation via inhibition of the estrogen pathway is required for normal follicle assembly. 4th World Congress of Reproductive Biology (2017)
- 6 Obata Y: Maturing Embryonic Ovarian PGCs into Functional Oocytes in Culture. Gordon Research Conference 2017, Germinal Stem Cell Biology. Invited speaker (2017)
- 7 尾畑やよい、平尾雄二: マウス始原生殖細胞から卵子を産生する新規 in vitro 系の開発. 第 39 回日本分子生物学会年会ワークショップ・招待講演 (2016)
- 8 隈本宗一郎、雉岡めぐみ、高橋望、外丸祐介、小川英彦、尾畑やよい、河野友宏: Dlk1-Dio3 ドメイン BAC TG マウスの致死性に対する miRNA の影響. 第 39 回日本分子生物学会年会 (2016)
- 9 Hirao Y and Obata Y: Complete in vitro generation of fertile oocytes from mouse primordial germ cells. 2016 ART World Congress (2016)
- 10 隈本宗一郎、雉岡めぐみ、高橋望、外丸祐介、小川英彦、尾畑やよい、河野友宏: Dlk1-Dio3 ドメイン BAC TG マウスにおける網羅的 miRNA 発現解析. 第 109 回日本繁殖生物学会 (2016)
- 11 諸白家奈子、谷本連、佐々木恵亮、林克彦、平尾雄二、尾畑やよい: マウス胎仔卵巣のガラス化保存と体外培養による始原生殖細胞の高度利用技術の開発. 第 109 回日本繁殖生物学会 (2016)
- 12 有富大輝、武田久美子、尾畑やよい、平尾雄二: マウス始原生殖細胞を成熟卵子へ

- と誘導する新規培養系の開発. 第 109 回日本繁殖生物学会 (2016)
- 13 谷本連、諸白家奈子、河野友宏、平尾雄二、尾畑やよい: ステロイドホルモン受容体の制御が in vitro におけるマウス卵胞形成に果たす役割. 第 109 回日本繁殖生物学会 (2016)
 - 14 日下部央里絵、浜崎伸彦、永松剛、尾畑やよい、平尾雄二、濱田律雄、島本走、今村拓也、中島欽一、斎藤通紀、林克彦: 多能性幹細胞から卵母細胞を作出する体外培養技術の開発. 第 109 回日本繁殖生物学会 (2016)
 - 15 Tanimoto R, Morohaku K, Sasaki K, Kawahara-Miki R, Kono T, Hayashi K, Hirao Y, and Obata Y: Abnormal Follicle Assembly In Vitro Correlates with Ectopic Expression of Amh in Mice. 49th Annual Meeting of The Society for the Study of Reproduction (2016)
 - 16 谷本連、諸白家奈子、河野友宏、平尾雄二、尾畑やよい: in vitro で分化したマウス胎仔卵巣における網羅的遺伝子発現解析. 第 108 回日本繁殖生物学会 (2015)
 - 17 尾畑やよい、平尾雄二: in vitro において産生されたマウス卵の発生能. 第 108 回日本繁殖生物学会シンポジウム・招待講演 (2015)
 - 18 佐々木恵亮、原聡史、山上怜奈、竹内秀斗、長谷川 沙紀、小肩実央、河野友宏、尾畑やよい: 胚発生過程において DNA メチル化酵素がアクセス可能な遺伝子座のスクリーニング. 第 108 回日本繁殖生物学会 (2015)
 - 19 尾畑やよい、平尾雄二: in vitro における機能的卵母細胞の作出. 第 36 回日本炎症・再生医学会シンポジウム・招待講演 (2015)
 - 20 Morohaku K, Kono T, Hirao Y, and Obata Y: In vitro growth of primordial follicles derived from neonatal mouse ovaries. Gordon Research Conference 2015, Fertilization & Activation of Development (2015)
 - 21 Sasaki K, Hara S, Yamakami R, Takeuchi S, Hasegawa S, Ogata M, Kono T, and Obata Y: Ectopic expression of DNMT3A2 and DNMT3L during embryogenesis leads to abnormal methylations at certain gene promoters but not at the imprinted loci. Gordon Research Conference 2015, Fertilization & Activation of Development (2015)
 - 22 尾畑やよい: in vitro における卵母細胞の成長・成熟. 第 60 回日本生殖医学会シンポジウム・招待講演 (2015)
 - 23 尾畑やよい: DNA メチル化による卵子特異的インプリントの確立機構. 第 59 回日本生殖医学会シンポジウム・招待講演 (2014)
 - 24 諸白家奈子、平尾雄二、河野友宏、尾畑やよい: 新生仔マウス由来卵胞から体外培養で得られた卵の発生能解析. 第 107 回日本繁殖生物学会 (2014)

- 25 尾畑やよい、原聡史、河野友宏: DNAメチル基転移酵素過剰発現により卵母細胞で早期に誘導されたメチル化インプリントの機能. 第55回日本卵子学会(2014)
- 26 原聡史、川原玲香、尾畑やよい、河野友宏: マウス卵母細胞におけるゲノム刷込みの分子機構. 第106回日本繁殖生物学会(2013)
- 27 尾畑やよい: 卵子形成過程におけるエピジェネティクス. 第31回日本受精・着床学会シンポジウム・招待講演(2013)
- 28 Hara S, Kono T, and Obata Y: Mechanisms for oocyte-specific methylation imprints. 46th Annual Meeting of The Society for the Study of Reproduction (2016)

〔図書〕(計 3 件)

- 1 『哺乳動物の発生工学』 佐藤英明、河野友宏、内藤邦彦、小倉淳郎編 総ページ数200 朝倉書店: 「発生学とエピジェネティクス」 尾畑やよい pp 13-26 (2014)
- 2 『哺乳動物の発生工学』 佐藤英明、河野友宏、内藤邦彦、小倉淳郎編 総ページ数200 朝倉書店: 「卵子のIVGMFC」 宮野隆、平尾雄二 pp 27-40 (2014)
- 3 『繁殖生物学』 日本繁殖生物学会編 総ページ数213 インターズー: 「遺伝的性」 尾畑やよい pp 122-147 (2013)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: 始原生殖細胞を機能的に成熟した卵母細胞へと分化させる培養方法
発明者: 尾畑やよい、平尾雄二、林克彦
権利者: 東京農業大学、農研機構、九州大学
種類: PCT
番号: PCT/JP2016/077574
出願年月日: 2016年9月16日
国内外の別: 国外

〔その他〕

アウトリーチ活動

- 1 研究内容寄稿「農系学校進学ガイド2018」イカロス出版 尾畑やよい
- 2 オープンキャンパス模擬講義「生命を生き出しつなげる細胞“配偶子”」 尾畑やよい 2017年8月5日-6日 東京農業大学(東京)
- 3 出張講義「卵子と精子のはなし」 尾畑やよい 2016年12月19日 東京都立小石川中等教育学校(SSH指定校、東京)
- 4 出張講義「卵子と精子のはなし」 尾畑やよい 2014年11月7日 埼玉県立和光国際高等学校(埼玉)
- 5 出張講義「卵子と精子のはなし」 尾畑やよい 2013年7月9日 東京都立豊多摩高等学校(東京)

6. 研究組織

(1)研究代表者

尾畑 やよい (OBATA, Yayoi)
東京農業大学・生命科学部・教授
研究者番号: 70312907

(2)研究分担者

平尾 雄二 (HIRAO, Yuji)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・ユニット長
研究者番号: 10355349