

領域略称名:配偶子構築

領域番号:7002

令和2年度科学研究費助成事業  
「新学術領域研究(研究領域提案型)」  
に係る中間評価報告書

「配偶子インテグリティの構築」

領域設定期間

平成30年度～令和4年度

令和2年6月

領域代表者 九州大学・大学院医学研究院・教授・林 克彦

# 目 次

## 研究組織

1 総括班・総括班以外の計画研究	2
2 公募研究	3

## 研究領域全体に係る事項

3 研究領域の目的及び概要	5
4 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況	7
5 研究の進展状況及び主な成果	8
6 研究発表の状況	12
7 研究組織の連携体制	17
8 若手研究者の育成に関する取組状況	18
9 研究費の使用状況・計画	19
10 今後の研究領域の推進方策	20
11 総括班評価者による評価	22

**研究組織**（令和2年6月末現在。ただし終了した研究課題は終了時現在、補助事業廃止の研究課題は廃止時現在。）

**1 総括班・総括班以外の計画研究**

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
X00 総	18H05544 配偶子インテグリティの構築	平成30年度 ～ 令和4年度	林 克彦	九州大学・医学研究院・教授	7
A01 計	18H05545 多能性幹細胞による配偶子産生システムの in vitro 再構築	平成30年度 ～ 令和4年度	林 克彦	九州大学・医学研究院・教授	3
A01 計	18H05546 高インテグリティを実現する in vitro 精子形成系の開発	平成30年度 ～ 令和4年度	小川 毅彦	横浜市立大学・生命医科学研究科・教授	3
A01 計	18H05547 高インテグリティを実現する in vitro 卵子産生系の開発	平成30年度 ～ 令和4年度	尾畑 やよい	東京農業大学・生命科学部・教授	1
A01 計	18H05548 種を越えた配偶子産生システムの in vitro 再構築	平成30年度 ～ 令和4年度	小林 俊寛	生理学研究所・行動代謝分子解析センター・助教	1
A02 計	18H05549 染色体イメージングによる卵子インテグリティの予見	平成30年度 ～ 令和4年度	北島 智也	理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・チームリーダー	1
A02 計	18H05550 非破壊的可視化による配偶子インテグリティの予見	平成30年度 ～ 令和4年度	八幡 穰	筑波大学・生命環境系・助教	1
A03 計	18H05551 個体発生における生殖細胞集団のレパートリー動態の解明	平成30年度 ～ 令和4年度	吉田 松生	基礎生物学研究所・生殖細胞研究部門・教授	2
A03 計	18H05552 生殖細胞発生過程における選択機構の解明	平成30年度 ～ 令和4年度	小林 悟	筑波大学・生存ダイナミクス研究センター・教授	1
A03 計	18H05553 組織学的情報とリンクした単一細胞遺伝子発現プロファイル動態の解明	平成30年度 ～ 令和4年度	栗本 一基	奈良県立医科大学・医学研究科・教授	1
総括班・総括班以外の計画研究 計 10 件（廃止を含む）					

[1] 総:総括班、計:総括班以外の計画研究、公:公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数(辞退又は削除した者を除く。)

## 2 公募研究

研究項目 [1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
A01 公	19H05237 精細管内フローと精子インテグリティ	令和元年度 ～ 令和2年度	原 健士朗	東北大学・農学研究科 ・准教授	1
A01 公	19H05242 卵胞発育プロファイリングを利用した 汎用型体外培養系の開発	令和元年度 ～ 令和2年度	諸白 家奈子	信州大学・学術研究院農学 系・助教	1
A02 公	19H05243 1配偶子定量プロテオミクスによる配 偶子インテグリティ評価マーカー探 索	令和元年度 ～ 令和2年度	松本 雅記	新潟大学・医歯学系・教授	1
A02 公	19H05239 光干渉断層画像化法を応用した生 殖細胞インテグリティ評価技術の開 発	令和元年度 ～ 令和2年度	阿部 宏之	山形大学・理工学研究科・ 教授	1
A02 公	19H05244 高転写状態獲得を理解するための エピゲノム・トランスクリプトーム解析 技術の開発	令和元年度 ～ 令和2年度	大川 恭行	九州大学・生体防御医学研 究所・教授	1
A03 公	19H05243 プラナリア生殖戦略のインテグリティ を支える新奇機構の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	小林 一也	弘前大学・農学生命科学部・ 准教授	1
A03 公	19H05236 生殖幹細胞インテグリティ制御にお けるホルモンと神経伝達物質の役割 の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	丹羽 隆介	筑波大学・生存ダイナミクス 研究センター・教授	1
A03 公	19H05241 精子形成の品質保証と luminal flow による精上皮クリアランス機構	令和元年度 ～ 令和2年度	金井 克晃	東京大学・農学生命科学研 究科・准教授	1
A03 公	19H05238 代謝調節を介したオス胎仔生殖細 胞のインテグリティ構築機構の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	林 陽平	東北大学・加齢医学研究所・ 助教	1
A03 公	19H05247 原始卵胞に顕在する新規細胞質顆 粒が担う原始卵胞の品質管理機構	令和元年度 ～ 令和2年度	加藤 譲	国立遺伝学研究所・遺伝形 質研究系・助教	1
A03 公	19H05248 共生微生物による配偶子インテグ リティの構築とその制御	令和元年度 ～ 令和2年度	重信 秀治	基礎生物学研究所・生物機 能情報分析室・教授	1
A03 公	19H05249	令和元年度 ～ 令和2年度	高瀬 比菜子	理化学研究所・生命機能科 学研究センター・研究員	1

	卵子成熟過程のインテグリティを支える Wnt の原始卵胞活性化メカニズム				
公募研究 計 12 件 (廃止を含む)					

[1] 総:総括班、計:総括班以外の計画研究、公:公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数(辞退又は削除した者を除く。)

## 研究領域全体に係る事項

### 3 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「革新的・創造的な学術研究の発展が期待される研究領域」であるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

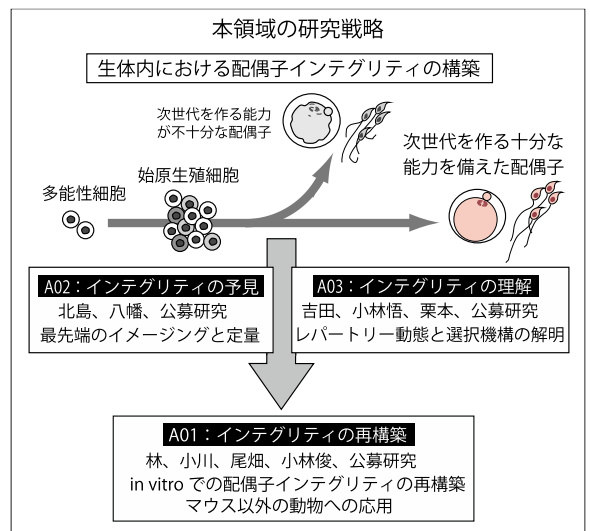
#### 研究領域の背景と目的

生殖細胞は次世代の個体を作るという特殊な性質をもつことから、長らく生物学の中心的研究対象である。その特性を解明するために、多くの基礎研究が展開されてきたと同時に、その利用は発生工学分野を創成し、基礎生物学・医学・畜産学・水産学等に大きな影響を及ぼしてきた。長い歴史をもつ生殖細胞研究は、配偶子形成過程を体外培養で再現する「*in vitro* gametogenesis」によりひとつの転機を迎えた。体外培養系で配偶子を分化誘導するという、極めて単純な発想に基づく方法論が完成すれば、世代サイクルの循環にもはや動物個体は不要となり、生殖細胞の分化メカニズムの解明や経時的な観察が培養皿上で可能となる。また *in vitro* gametogenesis で作られた配偶子の利用は、モデル動物から産業的価値の高い動物や稀少動物へ拡大するだろう。

本研究領域の研究班の代表者らは、マウスを用いて *in vitro* gametogenesis の開発に先駆的な役割を担ってきた。これまでにマウスの生殖器官の培養や多能性幹細胞からの分化誘導により機能的な配偶子を体外培養で得ることが可能になっている。しかしながら、*in vitro* gametogenesis で作られる配偶子の発生能(配偶子インテグリティ)は、生体内で作られる配偶子に遠く及ばない。このことから、生体内では配偶子のインテグリティを効率的に構築するシステムが存在するという概念に至る。本研究領域では、生体内の配偶子産生システムの理解のもと、高い配偶子インテグリティを担保する *in vitro* gametogenesis を革新的技術として確立することを目的とする。

#### 研究領域の概要

この目的を達成するために、本研究領域ではこれまでの *in vitro* gametogenesis の開発過程で得られた知見や経験を有する A01 が基盤となり、それに A02 と A03 が全く新しいアプローチを導入して研究を展開する(右図)。A01 (インテグリティの再構築)は、培養条件および技術の最適化を行うと同時に、配偶子形成を支える支持細胞を人工的に作製することにより動物胚に依存しない *in vitro* gametogenesis を確立し、その適用範囲を広げる。A02 (インテグリティの予見)は最先端のイメージング技術や情報処理技術を用いて、配偶子の発生能を非破壊的に予見する。A03 (インテグリティの理解)は生体内で高い発生能をもつ配偶子が作られるプロセスを、「細胞の不均一性と選択」という新しい観点から理解する。以上の計画研究に加えて、独特な培養方法論、研究領域を支える卓越した測定技術、または新しい研究の展開を吹き込む独自の視点をもつ公募班を組織化する。これらの各研究班が緊密に連携して、配偶子インテグリティを再構築・予見・理解することにより、*in vitro* gametogenesis を革新的技術として確立することを目指す。各研究項目の研究内容は以下通りである。



#### 【A01: インテグリティの再構築】

A01 では、培養条件および技術の改善により高い発生能をもつ配偶子を作り出すほか、他の動物種に対応できる *in vitro* gametogenesis の開発を目指す。林、尾畑、小川 (いずれも計画班) はこれまでの *in vitro* gametogenesis の開発で得られた知見、材料、経験を共有して培養条件の最適化を行う。これと並行して、生体における生殖細胞の分化過程と *in vitro* gametogenesis をトランスクリプトーム解析やプロテオーム解析により比較し、体外培養系で制御すべき因子を見つけ出す。候補とする因子はタンパクや脂質などの生理活性物質のみならず、精巣内での組織液の流れや卵胞の発育などにより生じる物理的刺激を含む。これらの因子の作用を効率的に検討するために、培養液の組成や水流などを精密に制御できる培養デバ

イスを開発する。新しい培養条件で得られた配偶子は、既存の方法により発生能を検討するほか、A02 と協力して発生能を予見する。また A03 により得られる生殖細胞系列の分化様式についての新しい知見を素早く取り入れ、新たな視点から培養条件の検討を行う。これらの計画班研究に加え、独創的な培養の方法論をもつ公募班とも連携し、高い発生能をもつ配偶子を作り出す *in vitro* gametogenesis を開発する。これと同時に、配偶子の産生に必須な生殖腺の支持細胞を多能性幹細胞から分化誘導する。すなわち精巣や卵巣の環境を再構築することにより、動物胚や組織を必要としない *in vitro* gametogenesis を実現させ、他の動物種への応用の足がかりとする。他の動物種への応用は、小林俊（計画班）がこれまで開発してきたラット、ウサギ、ブタにおける *in vitro* gametogenesis の知見に、マウスで得られた知見を加えることにより迅速に達成する。

### 【A02: インテグリティの予見】

研究項目 A02 では、これまで Retrospective に（つまり産仔が得られたか否かにより）判断されてきた発生能について予見かつ定量的に判断する革新的な技術の開発を目指す。この達成のために、八幡（計画班）は独自に開発した網羅的な細胞の内在性蛍光パターンの特徴を機械学習で識別する CRIF (Confocal Reflection microscopy-assisted single-cell Innate Fluorescence analysis) 解析を応用して、配偶子の内在性蛍光パターンを定量的に判定し、発生能との相関を調べる。また北島（計画班）は卵子が異数体となる過程をリアルタイムに可視化できるハイスループットかつ高解像度のイメージングを用いて、卵母細胞の染色体動態を解析し、染色体数異常分配を予測できる特徴を同定する。この特徴の有無と CRIF 解析による評価との相関を見出すことで、配偶子の染色体数異常を非破壊的に予見する技術を開発する。さらに A02 では、これらの技術により予見された発生能を規定する因子の同定を目指す。このために卓越した測定技術をもつ、または開発している研究班を公募研究班として加える。これらの研究班は A01 と協力して、*in vitro* gametogenesis で作られた配偶子の予見的評価系を確立する。

### 【A03: インテグリティの理解】

研究項目 A03 では、生殖細胞の集団が「いつ、どこで、どのようにして変化しているか？」を理解することを目指す。この達成のために、吉田（計画班）は 100 万種類以上の細胞を個別に標識できるバーコード解析によりマウス生殖細胞系列の集団が「いつ」変化するかを理解する。また栗本（計画班）はその変化が「どこで」起こっているかを単一細胞レベルで明らかにする手段として、空間的な位置情報を維持した単一細胞遺伝子発現解析法を開発を行う。次に「どのように」起こっているかについて、小林悟（計画班）が生殖細胞の選択という仮説を検証する。この研究では人為的なトランスポゾン活性化により様々なレベルのゲノム損傷を生殖細胞に誘導し、それらの細胞の選択について検証する。これには世代交代の早いショウジョウバエを用いることにより、迅速な検証を実現するほか、それらが破綻した場合における個体の妊孕性や子孫への影響を調べる。これらの計画班研究に加え、生殖細胞の集団の変化に関する現象に独自の視点でアプローチしている研究班を公募班として加える。これらの研究班は A01 と協力して、生体内と *in vitro* gametogenesis における生殖細胞の集団の変化を比較する。

### 領域設定期間終了後に期待される成果等

独創的な研究から様々な波及効果が期待される。まず *in vitro* gametogenesis が最適化され、多くの関連する研究者が利用できる培養システムを供給できる。これに加え、支持細胞を分化誘導する方法が確立されれば、他の動物への *in vitro* gametogenesis の応用が進むほか、動物個体・胚を使用することなく生殖細胞と体細胞の両面から配偶子形成過程を解明する研究が進展すると予想される。支持細胞は生殖細胞系列の分化のみならず、性分化やステロイドホルモンの産生にも中心的な役割を担うことから、多くの分野において利用可能な培養系になる。非破壊的な配偶子の発生能の予見は、これまでに類似の研究はなく、大きな波及効果が期待される。発生能を規定する分子メカニズムの解明に貢献するほか、応用面では個体作製の効率が改善される。これは、妊娠に長い時間を要する動物や、胚を移植する母体の確保が困難な動物において特に有効であろう。また、この技術はヒトの配偶子に応用できる可能性もある。生殖細胞系列のレパートリーの変動についての大規模な解析例はこれまでにない。生殖細胞の不均一性や選択は様々な動物に保存されている可能性が高く、その成果は生殖細胞研究における新しい研究分野を作り出す可能性がある。また細胞集団レベルでの配偶子インテグリティの構築機構の解明は、様々な動物種における生殖戦略や進化を考える上で重要な知見となる。

#### 4 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

本新学術領域研究の採択時の審査所見は、以下の通りである。

-----審査所見-----

本研究領域は、生体内において極めて高いインテグリティを持つ配偶子が形成されるメカニズム、つまり配偶子形成の再構築、品質管理、配偶子産生機序の全貌を解明し理解することで、試験管内で配偶子インテグリティの再構築を目指すという先駆的かつ極めて意欲的な課題である。生殖系列細胞での単一細胞レベルでのヘテロジェネイティを解明しようとした、初めての試みである。また、*In vitro gametogenesis* は領域代表者が世界をリードする成果を挙げており、本研究領域は生物分野での重要性・発展性を共に備えたものである。過去に採択された新学術領域研究「動物における配偶子産生システムの制御」（平成25～29年度）での研究成果として、効率は低いが *In vitro gametogenesis* は確立されている。生体内における高い個体発生を可能とする配偶子インテグリティの解明と予見の実現により、ヒトを含む各種動物において発生能の高い配偶子形成が非破壊的に可能になる大きな成果が見込まれる。また、領域組織を構成する研究者がそれぞれの分野の世界的なエキスパートである計画研究を中心として、多岐にわたり、若手研究者の育成などにも配慮がされている。ただし、研究領域を補完する公募研究に更なる広がりが必要とされる。

（留意事項）

・公募研究1件当たりの配分額を研究項目ごとに見直すなどして、公募研究の採択件数を10件よりも増やすことが必要である。

-----  
上記所見中の下線で示した点および留意事項に関して対応状況を下記に記す。

領域計画書に記載されている公募研究の規模は10件の採択、研究経費は各年度500万円であったが、留意事項を考慮し、研究経費を600万円と400万円に分け、12件（600万円クラス3件、400万円クラス9件）を採択した。



## 5 研究の進展状況及び主な成果

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか、(2) 本研究領域により得られた成果について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。(1)は研究項目ごと、(2)は研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

### A01: インテグリティの再構築

領域設定期間内において林(計画班)は、これまでの *in vitro* gametogenesis では不可能であった原始卵胞の静止状態を再構築する。その後この状態が卵母細胞の質の向上に貢献するか検証する。また卵成熟の培養条件を卵成熟特異的なレポーターを用いて検討する。これらに加え、小川班と協力して卵巣および精巣の環境を多能性幹細胞を用いて再構築する。小川(計画班)は AlbMax 中に含まれる精子形成に重要な因子を分画抽出や質量解析などにより同定する。これにより合成培地(CDM 培地)による精子形成技術の確立を目指す。これと同時に精巣の培養において、栄養・酸素供給を均一化できるマイクロデバイスを開発する。これらの技術を統合し、人為的な制御下で精子形成を評価するシステムを構築する。尾畑(計画班)は、生体内または *in vitro* gametogenesis で作られた卵子の遺伝子発現を比較し、*in vitro* 卵子の脆弱性の原因を究明する。また小川班と協力して、卵子形成を可能とする CDM 培地を開発し、生理活性物質や化学物質の添加が発生能に及ぼす影響を検討する(*in vitro* 卵子産生系のリノベーション)。これと同時に卵子を CRIF 解析したのちに発生能を検討し、発生率の高い CRIF パターンを特徴付けする。小林俊(計画班)はマウスで得られた知見をもとにラット、ウサギを用いて *in vitro* gametogenesis を開発する。このほか諸白(公募班)、平尾(分担)、原(公募班)、吉崎(分担)はそれぞれウサギの卵成熟、ウシの原始卵胞の成熟、ウシ精細管フローの再構築、ニジマスの精原細胞の培養により *in vitro* gametogenesis の開発を進める。

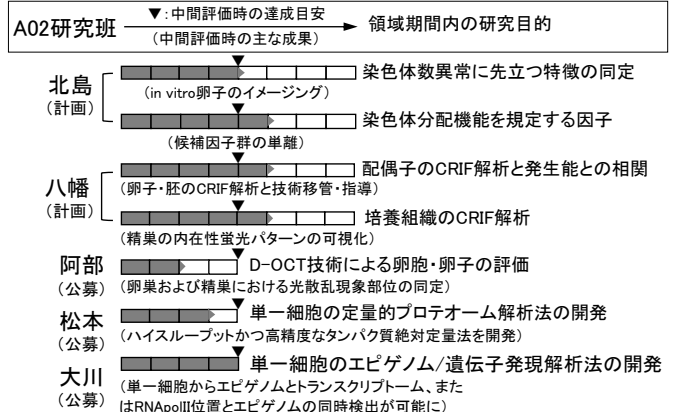
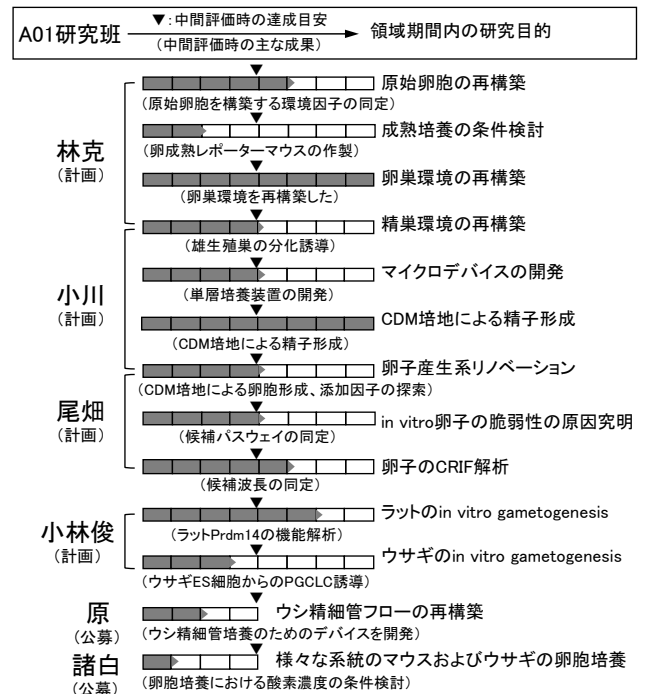
【中間評価時までの研究の進展】  
右図のように中間評価までに研究は順調に進展している。想定より早い研究の進展の中で特筆すべきは、林克班による卵巣環境の再構築と小川班による精子形成を可能にする CDM 培地の開発である。そのほか、マイクロデバイスの開発、研究の基盤となる *in vitro* 卵子の遺伝子発現解析、ラットへの応用などは順調に推移している。具体的な研究成果は(2)に記載する。

### 【中間評価時までの研究の進展】

右図のように中間評価までに研究は順調に進展している。想定より早い研究の進展の中で特筆すべきは、林克班による卵巣環境の再構築と小川班による精子形成を可能にする CDM 培地の開発である。そのほか、マイクロデバイスの開発、研究の基盤となる *in vitro* 卵子の遺伝子発現解析、ラットへの応用などは順調に推移している。具体的な研究成果は(2)に記載する。

### A02: インテグリティの予見

領域設定期間内において北島(計画班)は生体内または *in vitro* gametogenesis で作られた卵子の染色体動態をイメージングにより解析し、染色体数異常に先立って見られる特徴を同定する。これと同時に、生体内における卵子のインテグリティを予見し得る分子として、卵母細胞で染色体分配機能を規定する因子を同定する。八幡(計画班)は生体内および *in vitro* gametogenesis で作られた配偶子の不均一性を CRIF 解析により定量的に判定し、発生能との相関を調べる。また CRIF 解析法を組織レベルで解析できるように改良し、培養組織の評価に応用する。阿部(公募班)は光干渉信号の強度変化を利用するドップラー光干渉断層画像化法(D-OCT)技術を確立する。これにより卵細胞質における光散乱現象の時間的変化を高精度で検出し、卵子の評価への応用を試みる。松本は(公募班)はこれまで開発してきた革新的なタンパク質絶対定量法 iMPAQT 法を発展させ、単一の卵母細胞から定量的なタンパク質発現プロファイルが得ら



れる方法を開発する。大川は（公募班）は単一配偶子のエピゲノムと遺伝子発現の状態を高い精度でプロファイリングできるシステムの構築を行う。これらを用いて配偶子の不均一性について解析を行う。

**【中間評価時までの研究の進展】**

右図のように中間評価までに研究はおおむね順調に発展している。北島班は林班と、八幡班は小川班・尾畑班と協力して、それぞれイメージング解析および CRIF 解析を進め、中間評価時までに一定の成果を得ることができた。また公募班を含めて独自の技術が発展してきており、実際に *in vitro* で作られた配偶子の評価をできる体制が整った。具体的な研究成果は（2）に記載する。

**A03: インテグリティの理解**

領域設定期間内において吉田（計画班）は、生殖細胞系列の集団の変化をバーコード標識法により解析する。その後 *in vitro* gametogenesis における選択機構についても同様の解析を行い、生体内のものと比較する。また中村（分担）は、他の動物種における生殖細胞の不均一性と選択を検証するために、ニワトリの生殖細胞系列を時期特異的に多色の蛍光タンパク質で標識して、細胞集団サイズの変移を解析する。栗本（計画班）は凍結切片組織からレーザーマイクロダイセクションにより得た単一細胞を用いて正確な遺伝子発現解析方法の確立を行う。この後に吉田と協力して、選択される生殖細胞系列の組織学的分布を明らかにする。小林悟（計画班）は、ショウジョウバエを用いて、トランスポゾン活性化によりゲノムに損傷を受けた生殖細胞や、母性因子の取り込み不足により運命決定に異常を示す生殖細胞が排除される機構を解明する。またこれら排除機構が破綻した時の子孫に及ぼす影響を解明する。これらに加え以下のような公募班により新しい視点から「生殖細胞の不均一性と選択」について研究の展開を図る。丹羽はキイロショウジョウバエの生殖幹細胞の増殖を遠隔操作するシグナルを同定する。金井はマウス精子形成におけるセルトリバルブの機能を解明する。林陽は胎児生殖細胞に特異的な代謝調節を明らかにする。重信、小林一はそれぞれアブラムシおよびプラナリアにおいて共生細菌が宿主の生殖細胞の分化を制御する機構を解明する。加藤は原始卵胞に認められる新規細胞顆粒の機能を解明する。高瀬は原始卵胞における Wnt シグナルの機能を解明する。

**【中間評価時までの研究の進展】**

右図のように中間評価までに研究は順調に発展している。想定より早い研究の進展の中で特筆すべきは、Myc の低下が DNA に損傷をうけた生殖細胞の排除に必要であることを示した小林悟班の成果であろう。これは本領域が想定している「細胞の不均一性と選択」に、一定のエビデンスを加えた点で大きい前進である。生殖細胞のバーコード標識、および位置情報を維持した単一遺伝子発現解析法も基盤が構築されつつあり、今後の研究の進展が期待される。具体的な研究成果は（2）に記載する。



**(2) 本研究領域により得られた成果**

**A01: インテグリティの再構築**

**● 計画研究 ●**

**林克班: (研究目的達成のための重要な成果)** 生体内と *in vitro* の卵母細胞系列のトランスクリプトームの比較をもとに低酸素条件が原始卵胞の成立に重要であることを突き止めた。ES 細胞からの卵母細胞の誘導を低酸素下で行なうと原始卵胞が多く出現した (*PNAS*, 2019)。

**林克班:** 原始卵胞の成立には周囲の組織からのメカニカルストレスが必要であることを明らかにした。胎児卵巣を高圧力条件下で培養すると、大気圧中では出現頻度の低い原始卵胞が出現した (*Sci. Adv.*, 2019)。

**小川班: (研究目的早期達成)** AlbuMAX から抽出した脂溶性物質に精子形成誘導物質が含まれていることを見だし、その責任因子がビタミン E 等の抗酸化物質とリゾリン脂質であることをつきとめた。これにより化学組成が明らかな CDM 培地を用いて精子形成の誘導が可能となった (*FASEB J*, 2020)。

**尾畑班: (研究目的達成のための重要な成果)** 生体内と *in vitro* 由来の卵子の RNA-seq 解析の結果、*in vitro* 卵子では、母性 mRNA の早期分解と胚性 mRNA の早期転写が認められた。また、*in vitro* 卵子では、未受精であるにも関わらず、生体内の卵子より顕著にオートファジーが誘導されていた。

尾畑班: FBS 添加培地で培養した卵巣では、エストロゲン受容体 ESR1 により促進される AMH の早期発現が卵胞形成の異常の原因になることを明らかにした。一方、胎仔の肝臓から分泌される AFP を培地に添加することで、卵胞形成異常が回避されることをつきとめた (論文投稿中)。

尾畑班: FBS 添加培地で得られた卵母細胞では合成培地で培養したものよりも ATP 量が 2 倍多く、脂肪滴も有意に多く蓄積していることがわかった。FBS により過多の脂質が供給され、ATP を過剰に産生し、卵子の発生能に影響している可能性が示唆された。小川班との共同研究

小林俊班: (研究の基盤確立) 始原生殖細胞 (PGCs) に特異的な *Prdm14* の遺伝子座に Venus を組み込んだラットを作製し、ラット PGCs の発生動態を明らかにした。また *Prdm14* 欠損ラットは PGCs を欠損しており、*Prdm14* の機能はマウスとラットで保存されていた (*Development*, 2020)。栗本班との共同研究

## A02: インテグリティの予見

### ●計画研究●

北島班: (研究の基盤確立) *in vitro* 卵母細胞はマイクロインジェクションのダメージに弱いいため、北島研究室での使用実績 (Mouse Oocyte Development, Springer, 2018) をもとに培地添加型の蛍光プローブ siR-DNA、siR700-Tubulin を採用した。これらを用いて染色体・紡錘体イメージングを確立した。

北島班: 卵子の紡錘体安定性に関わる分子の探索を行い、Ndc80 複合体が Prc1 (アンチパラレルな微小管の架橋因子) を動原体に濃縮させることで紡錘体形成を促進することを見出した (*Nat. Commun.* 2020)。

八幡班: (研究の基盤確立) 内在性蛍光パターンをスキャンするために、各励起波長の強さを記録する顕微鏡制御プログラムと、得られた撮影データから一細胞ごとの内在性蛍光パターンを再構築するアルゴリズムを作成した。これによりマウス精巣の内在性蛍光パターンの分布を可視化した。小川班との共同研究

### ○公募研究○

阿部班: (研究の基盤確立) 超高速画像処理技術と D-OCT 技術により微小卵胞の 3 次元イメージングを可能とする超高速画像計測技術を構築した。これにより直径 100  $\mu\text{m}$  以上の二次卵胞と胞状卵胞を非破壊的に検出し、卵母細胞質に強い光散乱現象を認めた。

阿部班: D-OCT システムによりマウスの精巣と精巣上体の管腔内部における物質等の動きを非破壊的に解析した。精巣の精巣網と輸出管において強い光散乱像が観察され、その局在から輸出管および精細管内のフローまたは上皮細胞の繊毛の動きを捉えている可能性が示唆された。金井班との共同研究

松本班: マウス卵子の 1 細胞プロテオームへの適用を達成するために、1 細胞プロテオーム解析に資する質量分析技術の超高感度化を行なった (*Anal. Chem.*, 2020)。

松本班: 独自に開発してきた革新的なタンパク質絶対定量法である iMPAQT 法を応用して、高速代謝酵素定量マッピング法の確立を行なった (*Nat. Commun.* 2020)。

松本班: (研究の基盤確立) マウス卵子およびその初期発生過程のショットガンプロテオミクスを行い、マウス卵子関連プロテオームのデータベース化を行なった。

大川班: (研究の基盤確立) 独自に開発した ChILT 法を改良し、単一細胞レベルでトランスクリプトームとエピゲノムを同時に検出する技術を開発した。これに加えて、RNA pol II のゲノム上へのリクルートとエピゲノムを同時に検出できる multi-targeted ChILseq を開発した (*Nat Protoc., in press*)。

大川班: 1 分子 smFISH によるトランスクリプトーム検出技術を取り入れ、NGS を必要としないハイスループットな 1 細胞エピゲノム解析技術を進めている。これまでに国内で唯一となる網羅的な 1 分子 FISH 解析用のデバイス開発を行い、13,000 遺伝子の検出が可能な seqFISH+解析システムを構築した。

## A03: インテグリティの理解

### ●計画研究●

吉田班: (研究の基盤確立) 生殖細胞に組み込まれた Polylox 配列に対して、時期および細胞特異性に組み換えを誘導できるトランスジェニックシステムを新たに作出した。このシステムを用いた解析により、大規模な生殖細胞のレパートリーの削減を示唆する予備的知見を得ている。

吉田班: 様々な温度で *in vitro* gametogenesis を行い、精子形成の高温障害を解析した。その結果、第一減数分裂前期における DNA 二重鎖切断修復と相同染色体対合が 37-38 度で特異的に障害され、障害を受けた細胞は減数分裂チェックポイントで除去されることが明らかとなった。小川班との共同研究

小林悟班: (研究目的早期達成) ショウジョウバエの生殖細胞系列では P 因子の転移によりゲノムが損傷して配偶子の産生能が低下する。本班は P 因子の転移により Myc の発現が低下すること、そこに Myc を強制発現すると配偶子の産生能が回復すること、さらに回復した状況下でつくられた生殖細胞はゲノムの損傷を多く持つことを明らかにした。これはゲノムに損傷をもつ生殖細胞が Myc の低下により積極的に除去されていることを意味しており、生殖系列の品質管理の分子機構を明らかにした画期的な研究成果である (*Commun Biol*, 2020)。

小林悟班: (研究目的達成のための重要な成果) PGCs を決定する母性因子 *Nanos* および *Pgc* はともに PGCs において体節形成に関わる体細胞遺伝子の発現を抑制することを明らかにした (*PLoS Genetics*, 2019)。また、*Pgc* が PGCs の細胞分裂を抑制することも明らかにした (*iScience*, 2020)。

栗本班: (研究の基盤確立) 乾燥・固定・染色を行った凍結切片から切り出した単一細胞から効率的に cDNA を増幅する方法を開発した。この増幅効率は未固定の細胞を用いた場合とほぼ同等であることが示唆されている。

栗本班: 野生型と *Prdm14* 変異ラットの始原生殖細胞を単一細胞遺伝子発現解析することにより、生殖細胞発生過程の動物種間多様性を評価した (*Development*, 2020)。 小林俊班との共同研究

## ○公募研究○

丹羽班: キイロショウジョウバエのメス生殖幹細胞を制御する遠距離シグナルとしてオクトパミンを同定した。脳・神経系由来のオクトパミンは受容体 *Oamb* を介してニッチ細胞を含む卵巣体細胞に受容され、これに応じてニッチシグナルが増強されて、生殖幹細胞の増殖が促されることが明らかとなった。

(*bioRxiv*, 2020 (および論文投稿中))

小林一班: プラナリアの有性を阻害している共生細菌を、有性個体と無性個体の細菌叢の比較により、1 株同定した。またメタボローム解析により、有性化阻害因子の候補を 6 個同定した。 (*Sci. Rep.* 2019)

### 重信班との共同研究

小林一班: *D. ryukyuensis* のゲノム解読のための初段階を完了した。 重信班との共同研究

林陽班: 胎仔生殖細胞の代謝特性の性差と分化に応じた変化を明らかにした (論文投稿中)。さらに代謝攪乱条件で生殖巣の培養を行い、雌雄生殖細胞分化に関わる代謝系を特定した。 尾畑班との共同研究

重信班: アブラムシの生殖細胞の形成に必須な共生細菌 *ブフネラ* を抗生物質で除去する方法、及び候補分子や阻害剤を直接体内に顕微注入する実験手法を確立した。

重信班: アブラムシの生殖細胞をシングルセル RNA-seq 解析する実験手法を確立した。

## 6 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、ホームページ、主催シンポジウム、一般向けのアウトリーチ活動等の状況。令和2年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に\*印を付すこと。

### A01：インテグリティの再構築

#### ●計画研究1：林克彦・吉崎悟朗（分担）・平尾雄二（分担）●

雑誌論文（査読あり、抜粋7件ほか共著原著論文3件、英語総説5件）：

1. Iwasaki-Takahashi Y, Shikina S, (著者8名略), \*Yoshizaki G. Production of functional eggs and sperm from in vitro-expanded type A spermatogonia in rainbow trout. *Commun. Biol. in press*
2. Hamada N, Hamazaki N, Shimamoto S, Hikabe O, Nagamatsu G, Takada Y, Kato K, \*Hayashi K. Germ cell-intrinsic effects of sex chromosomes on early oocyte differentiation in mice. *PLoS Genet.* 16:e1008676. (2020)
3. \*Haraguchi S, Ikeda M, Akagi S, Hirao Y. Dynamic changes in pStat3 are involved in meiotic spindle assembly in mouse oocytes. *Int J Mol Sci* 21(4): 1220. (2020)
4. Ichida K, Kawamura W, Miwa M, Iwasaki Y, Kubokawa T, Hayashi M, Yazawa R, \*Yoshizaki G. Specific visualization of live type A spermatogonia of Pacific bluefin tuna using fluorescent dye-conjugated antibodies. *Biol Reprod.* 100, 1637-1647. (2019)
5. \*Nagamatsu G, Shimamoto S, Hamazaki N, Nishimura Y, \*Hayashi K. Mechanical stress accompanied with nuclear rotation is involved in the dormant state of mouse oocytes. *Sci Adv.* 5:eaav9960. (2019)
6. Hayashi M, Ichida K, Sadaie S, Miwa M, Fujiwara R, Nagasaka Y, \*Yoshizaki G. Establishment of novel monoclonal antibodies for identification of type A spermatogonia in teleosts. *Biol Reprod.* 101, 478-491. (2019)
7. Shimamoto S, Nishimura Y, Nagamatsu G, Hamada N, Kita H, Hikabe O, Hamazaki N, \*Hayashi K. Hypoxia induces the dormant state in oocytes through expression of Foxo3. *PNAS* 116:12321-12326. (2019)

学会発表（抜粋2件、ほか22件）：

1. Hayashi K: Oocytes from stem cells and back, ESHRE 2018年7月1-4日 バルセロナ（基調講演）
2. Yoshizaki G: Development of germ cell manipulation technology in fish. International Symposium of Reproductive Physiology in Fish, Manaus, Brazil, June 4-8, 2019（基調講演）

産業財産権：

1. 永松剛、林克彦：始原生殖細胞を in vitro で原始卵胞に分化する方法、出願番号：PCT/JP2019/21209  
ホームページ（抜粋1件、ほか2件）：研究領域 HP <https://www.gamete-integrity.com/achievement/2019>  
一般向けのアウトリーチ活動（抜粋1件、ほか1件）：  
1. 林克彦：平成30年度福岡県生物部会二学期研修会 2018年10月

#### ●計画研究2：小川毅彦・木村啓志（分担）・鈴木貴紘（分担）●

雑誌論文（査読あり、抜粋5件ほか共著原著論文1件、英語総説1件）：

1. Sanjo H, Yao T, (著者12名略), \*Ogawa T. Antioxidant vitamins and lysophospholipids are critical for inducing mouse spermatogenesis under organ culture conditions. *FASEB J.*, June 2. (2020)
2. Komeya M, Yamanaka H, Sanjo H, Yao M, Nakamura H, Kimura H, Fujii T, Sato T, \*Ogawa T. In vitro spermatogenesis in two-dimensionally-spread mouse testis tissues. *Reprod Med Biol.* 18: 362-369. (2019)
3. Ogawa T. Live Offspring after Testis Tissue Transplantation. *N Engl J Med.* 381:1477-1479. (2019)
4. \*Sato T, Ogawa T. Generating Genetically Engineered Mice Using a Spermatogonial Stem Cell-Mediated Method. *Methods Mol Biol.* 1874: 87-98. (2019)
5. Kojima K, Nakamura H, (著者8名略), Kimura H, \*Ogawa T. Neonatal testis growth recreated in vitro by two-dimensional organ-spreading. *Biotechnol Bioeng.* 115:3030-3041. (2018)

学会発表（抜粋1件、ほか3件）：

1. 小川毅彦：「体外での精子形成」日本アンドロロジー学会 第38回学術集会 シンポジウム2「生殖細胞の発生・分化」2019年6月21日大阪国際会議場、大阪

#### ●計画研究3：尾畑やよい●

雑誌論文（査読あり）：

1. Sasaki K, Hara S, Yamakami R, Sato Y, Hasegawa S, Kono T, Morohaku K, \*Obata Y. Ectopic expression of DNA methyltransferases DNMT3A2 and DNMT3L leads to aberrant hypermethylation and postnatal lethality in mice. *Mol Reprod Dev.* 86, 614-623. (2019) **Top Downloaded Paper 2018-2019 in Mol Reprod Dev.**
2. 諸白家奈子, \*尾畑やよい. 哺乳類の卵子を体外で産生する. *生物工学会誌* (2019) 97, 212.

学会発表（抜粋2件、ほか7件）：

1. 佐々木恵亮, 尾畑やよい：卵母細胞特異的遺伝子ノックダウンシステムの開発. 第42回日本分子生物学会フォーラム 招待公演. (2019)
2. 尾畑やよい：卵子形成を再現する in vitro 系の開発. 第33回日本生殖免疫学会 招待公演. (2018)

書籍：

1. 尾畑やよい：遺伝的性の決定、繁殖生物学 改訂版. 日本繁殖生物学会編. インターズー. (2020)

#### ●計画研究4：小林俊寛●

雑誌論文（査読あり、抜粋4件ほか共著原著論文4件、英語総説1件）：

1. Kobayashi T, Kobayashi H, (著者8名略), Kurimoto K, \*Hirabayashi M. Germline Development in Rat Revealed by Visualization and Deletion of *Prdm14*. *Development*. 147: dev183798. (2020)
2. Goto T, Hara H, (著者5名略), Kobayashi T, Nakauchi H, \*Hirabayashi M. Generation of pluripotent stem cell-derived mouse kidneys in *Sall1*-targeted anephric rats. *Nat Commun*. 10: 451. (2019)
3. Cheetham SW, Gruhn WH, (著者4名略), Kobayashi T, \*Surani MA, \*Brand AH. Targeted DamID reveals differential binding of mammalian pluripotency factors. *Development*. 145: dev170209 (2018)
4. Yamaguchi T, Sato H, Kobayashi T, (著者9名略), Ota Y, Hirabayashi M, \*Nakauchi H. An Interspecies Barrier to Tetraploid Complementation and Chimera Formation. *Sci Rep*. 8:15289. (2018)

学会発表（抜粋2件、ほか5件）：

1. Toshihiro Kobayashi: Conservation and diversity of germline development in mammals 1st CU- KU Symposium and 4th CU-NIPS Symposium (招待講演) タイ・バンコク (2020)
2. Toshihiro Kobayashi: Generation of organs from pluripotent stem cells via blastocyst complementation 2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium (招待講演) (国際学会) 韓国・ソウル (2019)

#### ○公募研究：原健士朗○

雑誌論文（査読あり、抜粋3件ほか共著原著論文1件、英語総説1件）：

1. Rezende-Melo CA, Caldeira-Brant AL, (著者5名略), Hara K, Yoshida S, Meistrich ML, and \*Chiarini-Garcia H: Spermatogonial asynchrony in *Tex14* mutant mice lacking intercellular bridges. *Reproduction* (2020) in press.
2. \*Umezumi K, Hara K, Hiradate Y, Numabe T, \*Tanemura K. Stromal cell-derived factor 1 regulates in vitro sperm migration towards the cumulus-ocyte complex in cattle. *PLoS One*. 15: e0232536. (2020)
3. Kurata S, Hiradate Y, Umezumi K, Hara K, \*Tanemura K. Capacitation of mouse sperm is modulated by gamma-aminobutyric acid (GABA) concentration. *J Reprod Dev*. 65: 327-334. (2019)

学会発表（抜粋1件、ほか1件）：

1. Hara K: Sperm stem cell behaviors in mammalian testis, International symposium on new insights on animal nutrition, breeding and reproduction, Yangzhou, (2019).

#### ○公募研究：諸白家奈子○

学会発表：

1. Morohaku K, Kohama T: “In vitro growth of early preantral follicles by two culture protocols”, Society for the Study of Reproduction, 52th Annual conference, San Jose, CA, USA 2019年7月18日～7月21日  
一般向けのアウトリーチ活動
1. 諸白家奈子：Cryopreservation Conference 2019, 文部科学省研究交流センター 2019年11月18日

#### A02: インテグリティの予見

##### ●計画研究5：北島智也●

雑誌論文（査読あり、抜粋4件ほか共著原著論文1件）：

1. Yoshida S, Nishiyama S, (著者9名略), Herbert M, and \*Kitajima TS. Prc1-rich kinetochores are required for error-free acentrosomal spindle bipolarization during meiosis I in mouse oocytes. *Nature Commun.*, doi:10.1038/s41467-020-16488-y. (2020)
2. \*Kouznetsova A, Kitajima TS, Brismar H and Höög C. Post-metaphase correction of aberrant kinetochore-microtubule attachments in mammalian eggs. *EMBO reports* 20(8): e47905. (2019)
3. \*Kyogoku H, Wakayama T, Kitajima TS and Miyano T. Single nucleolus precursor body formation in the pronucleus of mouse zygotes and SCNT embryos. *PLOS ONE* 13(8): e0202663. (2018)
4. Ding Y, Kaido M, Llano E, Pendas AM and \*Kitajima TS. The post-anaphase SUMO pathway ensures the maintenance of centromeric cohesion through meiosis I-II transition in mammalian oocytes. *Current Biology* 28(10): 1661-1669. (2018)

学会発表（抜粋1件、ほか6件）：

1. Kitajima TS: “Causes of aneuploidy in eggs” The 15th Transgenic Technology Meeting. 2019.4.8, Kobe

書籍（抜粋2件、ほか1件）：

1. Courtois, A., Solc, P., and Kitajima, T.S. Triple-color live imaging of mouse oocytes. *Mouse Oocyte Development*. Springer, 1818:89-97. (2018)
2. Kyogoku, H., Yoshida S., and Kitajima, T.S. Cytoplasmic removal, enucleation, and cell fusion of mouse oocytes. *Methods in Cell Biology*. Elsevier, 144:459-474. (2018)

ホームページ：理化学研究所生命機能研究センター <http://chromosegr.riken.jp/index.html>

## ●計画研究6：八幡穰●

雑誌論文（査読あり）：

1. Hirayama T, Takabe K, Kiyokawa T, Nomura N, \*Yawata Y, Reconstruction of Single-Cell Innate Fluorescence Signature by Confocal Microscopy, *Journal of Visualised Experiments* 159, (2020)
2. \*Yawata Y, Kiyokawa T, Kawamura Y, Hirayama T, Takabe K, \*Nomura N. Intra and inter species variability of single-cell innate fluorescence signature of microbial cell, *Applied and Environmental Microbiology* 85, e00608-19 (2019)

学会発表（抜粋2件、ほか6件）：

1. Yawata Y, Single-Cell Innate Fluorescence Analysis by Confocal Microspectroscopy TSB2019, 2019.11 Thailand
2. Takabe K, Nomura N, Yawata Y, Construction of the analysis method for monitoring the physiological properties of individual cells in biofilm/ EUROBIOPILMS 2019. 2019年9月、Glasgow UK

ホームページ：<https://yawatalab.jp>

## ○公募研究：松本雅記○

雑誌論文（査読あり、抜粋4件ほか共著原著論文8件）：

1. Kito Y, \*Matsumoto M, Hatano A, Takami T, Oshikawa K, Matsumoto A, \*Nakayama KI. Cell cycle-dependent localization of the proteasome to chromatin. *Sci.Rep.* 10(1): 5801. (2020)
2. Hata K, \*Izumi Y, Hara T, \*Matsumoto M, Bamba T. In-line sample processing system with an immobilized trypsin-packed fused-silica capillary tube for proteomic analysis of a small number of mammalian cells. *Anal. Chem.* 92(4): 2997-3005. (2020)
3. Oshikawa K, \*Matsumoto M, Kodama M, Shimizu H, \*Nakayama KI. A fail-safe system to prevent oncogenesis by senescence is targeted by SV40 small T antigen. *Oncogene* 39(10): 2170-2186. (2020)
4. Kodama M, Oshikawa K, (著者7名略), \*Matsumoto M, and \*Nakayama KI. A shift in glutamine nitrogen metabolism contributes to the malignant progression of cancer. *Nat. Commun.*, 11(1):1320, 2020

学会発表（抜粋1件、ほか2件）：

1. Matsumoto M: New platform for protein absolute quantification: a tool for pathway structure determination 1st International symposium on Interdisciplinary Approaches to Integrative Understanding of Biological Signaling Networks, Tokyo (2019)

## ○公募研究：阿部宏之○

雑誌論文（査読あり、抜粋2件ほか共著原著論文2件）：

1. \*Nishizono H, Darwish M, Endo TA, Abe H, Glycine receptor  $\alpha 4$  subunit facilitates the early embryonic development in mice. *Reproduction*. in press. (2020)
2. \*Sato M, Eto K, Goto T, Kurotani R, Abe H, Nishidate I. In-vitro rat brain imaging through full-field optical coherence microscopy using ultrathin short multimode fiber probe. *Applied Sciences*. 9 (2), 216. (2019)

学会発表（抜粋1件、ほか4件）：

1. 近藤綾香、坂原聖士、高倉啓、黒谷玲子、阿部宏之：卵管液アミノ酸組成を基本とするウシ胚培養液の開発、第60回日本卵子学会、第60回日本卵子学会、広島市。(2019)

## ○公募研究：大川恭行○

雑誌論文（査読あり、抜粋3件ほか共著原著論文12件）：

1. Handa T, Harada A, Maehara K, (著者4名略), Ohkawa Y\*, Kimura H.\* “Chromatin integration labeling for mapping DNA-binding proteins and modifications with low input”. *Nat. Protocols*.
2. Kurihara M, Kato (著者2名略) Ohkawa Y, Fuchigami T, Miyanari Y. Genomic Profiling by ALA-P-Seq Reveals Transcriptional Regulation by PML Bodies through DNMT3A Exclusion. *Mol Cell* 78:493-505. (2020)
3. Oka M, Mura S, (著者7名略), Ohkawa Y “Chromatin-bound CRM1 recruits SET-Nup214 and NPM1c onto HOX clusters causing aberrant HOX expression in leukemia cells.” *Elife* 8. Pii: e46667. (2019)

書籍：

1. 原田 哲仁, 大川 恭行：実験医学「クロマチン挿入標識法 (ChIL) による単一細胞エピゲノム解析」羊土社 (2019)

産業財産権：

1. 大川恭行、原田哲仁：対象核酸の塩基配列を1細胞レベルで並列に検出する方法、出願番号：特願2020-017027 [2020.2.4]、出願人：国立大学法人九州大学

## A03: インテグリティの理解

### ●計画研究7：吉田松生●

雑誌論文（査読あり、抜粋4件ほか共著原著論文1件、英文総説1件）：

1. Rezende-Melo CA, Caldeira-Brant AL, (著者6名略), Yoshida S, Meistrich ML, and \*Chiarini-Garcia H: Spermatogonial asynchrony in Tex14 mutant mice lacking intercellular bridges. *Reproduction* (2020) in press.
2. Kitadate Y, D.J. Jorg, M. (著者19名略), \*B.D. Simons and \*S. Yoshida: Competition for Mitogens Regulates Spermatogenic Stem Cell Homeostasis in an Open Niche. *Cell Stem Cell* 24, 79-92 (2019)

- Nakamura Y, Nakane Y and \*Tsudzuki M: Developmental stages of the blue-breasted quail (*Coturnix chinensis*). *Anim Sci J* 90, 35-48 (2019)
- Sakamoto S, \*Thumkeo D, (著者 8 名略), Yoshida S, Ikawa M, Watanabe N, Saitou M and \*Narumiya S: mDia1/3 generate cortical F-actin meshwork in Sertoli cells that is continuous with contractile F-actin bundles and indispensable for spermatogenesis and male fertility. *PLOS Biology* 16, (2018)

学会発表 (抜粋 2 件、ほか 5 件) :

- Nakamura Y, Nakane Y, Tsudzuki M: Embryonic development of the blue-breasted quail (*Coturnix chinensis*). Asian Australasian Animal Production Congress 2018, Kuching, Malaysia, August 3, 2018
- Yoshida S: Towards a Better Understanding of Spermatogenic Stem Cells. The Society for the Study of Reproduction 51st Annual Conference, New Orleans, USA, July 10-13, 2018. (state-of-the-art plenary lecture)

書籍 :

- \*Yoshida S: Mouse Spermatogenesis Reflects the Unity and Diversity of Tissue Stem Cell Niche Systems. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, (2020)
- \*Yoshida S: Heterogeneous, dynamic, and stochastic nature of mammalian spermatogenic stem cells. *Curr Top Dev Biol* 135, 245-285 (2019)

一般向けのアウトリーチ活動 (抜粋 1 件、ほか 2 件) :

- 中村 隼明 「トビがタカを産む研究」, 広島市立基町高校 広島、2019 年 7 月 10 日

### ●計画研究 8 : 小林 悟●

雑誌論文 (査読あり、抜粋 6 件ほか共著原著論文 2 件) :

- Ota R and \*Kobayashi S. Myc plays an important role in *Drosophila* PM-hybrid dysgenesis to eliminate germline cells with genetic damage. *Communications Biology*, 3, 185. (2020)
- Morita S, Ota R, Hayashi M and \*Kobayashi S. Repression of G1/S transition by transient inhibition of miR-10404 expression in *Drosophila* primordial germ cells. *iScience*, 23, 100950. (2020)
- Nakamura S, Hira S, (著者 7 名略), Kobayashi S, and \*Mukai M. A truncated form of a transcription factor Mamo activates *vasa* in *Drosophila* embryos. *Communications biology*, 2: 422. (2019)
- Kutsukake M, Moriyama M, (著者 4 名略), Kobayashi S, and \*Fukatsu T. Exaggeration and co-option of innate immunity for social defence. *PNAS*, 116, 8950-8959. (2019)
- \*Asaoka M, Hanyu-Nakamura K, Nakamura A, and \*Kobayashi S. Maternal Nanos inhibits Importin- $\alpha$ 2/Pendulin-dependent nuclear import to prevent somatic gene expression in the *Drosophila* germline. *PLoS Genetics*, 15, e1008090 (2019)
- Morita S, Ota R, and \*Kobayashi S. Downregulation of NHP2 promotes proper cyst formation in *Drosophila* ovary. *Develop. Growth Differ.*, 60, 248-259. (2018)

学会発表 (抜粋 1 件、ほか招待講演 6 件、学会発表 25 件) :

- 小林 悟: 次代に生命をつなぐ生殖細胞の作られる仕組み 大隅基礎科学創発セミナー東京 2018 年 4 月

- Hayashi Y and Kobayashi S. Regulatory mechanism of the germline stem cell niche in *Drosophila melanogaster*. In "Reproductive and Developmental Strategies", Springer, pp19-35. (2018)

一般向けのアウトリーチ活動 (抜粋 1 件、ほか 7 件) :

- 小林 悟: 茨城県立竹園高等学校 先端科学講座「動物における生殖細胞形成メカニズム」2018 年 12 月

### ●計画研究 9 : 栗本一基●

雑誌論文 (査読あり、抜粋 2 件ほか英文総説 1 件) :

- \*Kobayashi T, Kobayashi H, (著者 8 名略), Kurimoto K and \*Hirabayashi M. Germline development in rat revealed by visualization and deletion of Prdm14. *Development*, 147, dev183798. (2020)
- Nagaoka S, Nakaki F, (著者 4 名略), Kurimoto K, Hayashi K, Nakamura T, Yamamoto T, and \*Saitou M. ZGLP1 is a determinant for the oogenic fate in mice. *Science*, 367, eaaw4115 (2020)

学会発表 (抜粋 1 件、ほか 1 件) :

- 栗本一基: 組織学にリンクした定量的な単一細胞遺伝子発現解析法の開発に向けて, 第 42 回日本分子生物学学会年会 有性生殖における染色体・クロマチン・核動態 3F-09 (招待講演) (2019 年)

### ○公募研究 : 加藤 讓○

雑誌論文 (査読あり) :

- \*Kato Y, Iwamori T, Ninomiya Y., Kohda T., Miyashita J., Sato M., \*Saga Y. ELAVL2-directed RNA regulatory network drives the formation of quiescent primordial follicles. *EMBO Reports*, 20:e48251, (2019)

学会発表 (抜粋 1 件、ほか 1 件) :

- 加藤 讓: 原始卵胞の形成と維持に関わる RNA 制御機構、遺伝研研究集会「有性生殖における染色体・クロマチン・核動態に関する研究会」、三島 (2019)、招待講演

ホームページ : 遺伝研 HP [https://www.nig.ac.jp/nig/ja/2019/10/research-highlights\\_ja/rh20191031.html](https://www.nig.ac.jp/nig/ja/2019/10/research-highlights_ja/rh20191031.html)



### ○公募研究：金井克晃○

雑誌論文（査読あり、抜粋 2 件ほか共著原著論文 1 件）：

1. Uemura M, Higashi M, (著者 10 名略), \*Kanai Y. Gallbladder wall abnormality in biliary atresia of mouse Sox17 +/- neonates and human infants. *Dis Model Mech.* 13(4) :pii: dmm.042119.(2020)
2. Nomura R, \*Kashimada K, (著者 5 名略), Kanai Y, Bowles J, Koopman P, Kanai-Azuma M, Morio T.: Nr5a1 suppression during the murine fetal period optimizes ovarian development by fine-tuning Notch signaling. *J Cell Sci.* 132(8):pii: jcs223768.(2019)

学会発表（抜粋 1 件、ほか 5 件）：

1. Uchida A and Kanai Y: Non-Cell Autonomous Regionalization of Sertoli Valve Niche in the Terminal Segment of the Seminiferous Tubules of Mouse Testes. "Germinal Stem Cell Biology" Gordon Research Conference, Hong Kong (2019)

書籍（抜粋 1 件、ほか 2 件）：

1. 金井克晃（編集委員、分担執筆）：繁殖生物学 [改訂版] 日本繁殖生物学会編 interzoo (2020)

### ○公募研究：小林一也○

雑誌論文（査読あり）：

1. Sekii K, Yorimoto S, (著者 5 名略), \*Furukawa R, \*Shigenobu S, \*Kobayashi K. Transcriptomic analysis reveals differences in the regulation of amino acid metabolism in asexual and sexual planarians. *Sci. Rep.* 9 :6132. (2019)

書籍：

1. Sekii K, Kobayashi K.: Sex-inducing substances terminate dormancy in planarian postembryonic reproductive development, In: Advances in Invertebrate (Neuro) Endocrinology, Volume 1: *Phyla Other Than Arthropoda*, Apple Academic Press, p25-61. (2020)

### ○公募研究：林陽平○

雑誌論文（査読あり）：

1. Watanabe K, Hong G, Tominami K, Izumi S, Hayashi Y, \*Kudo TA. Association between Beta3-Adrenergic Receptor Trp64Arg Polymorphism and Fat Preference in Healthy Young Japanese Women. *Tohoku J Exp Med.* 248: 181-192. (2019)

学会発表（抜粋 1 件、ほか 2 件）：

1. Hayashi Y: Regulation of metabolic signaling in mouse primordial germ cell development, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting: Metabolic Signaling (2019)

### ○公募研究：丹羽隆介○

雑誌論文（査読なし、抜粋 2 件ほか査読あり英語総説 1 件）：

1. Yoshinari Y, Ameku T, Kondo S, Tanimoto H, Kuraishi T, Shimada-Niwa Y, \*Niwa R. Neuronal octopamine signaling regulates mating-induced germline stem cell proliferation in female *Drosophila melanogaster*. *bioRxiv* DOI: 10.1101/2020.03.20.999938. (2020)

学会発表（抜粋 1 件、ほか 5 件）：

1. Yoshinari Y, Hoshino R, Kondo S, Shimada-Niwa Y, Tanimoto H, Niwa R. Sugar sensing midgut endocrine cells coordinate energy homeostasis through Adipokinetic hormone signaling in adult *Drosophila*. The 4th International Insect Hormone Workshop, Kolymbari, Greece. (2019) (国際学会招待講演)

一般向けのアウトリーチ活動：

1. 丹羽 隆介：土浦日本大学中等教育学校向け 出前授業および大学研究室見学 2019. 9. 17、9. 26.

### ○公募研究：高瀬比菜子○

学会発表

1. Takase HM. Wnt signaling-mediated differentiation of pre-granulosa cell is critical for primordial follicle activation. The 42nd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (MBSJ2019).

一般向けのアウトリーチ活動：

1. 高瀬比菜子：BDR Times | いきもんタイムズ 2020 年 5 月 <https://bdrtimes.riken.jp/2020/05/07/htakase/>

### ○公募研究：重信秀治○

雑誌論文（査読あり）：

1. Sekii K, Yorimoto S, (著者 5 名略), \*Furukawa R, \*Shigenobu S, \*Kobayashi K. Transcriptomic analysis reveals differences in the regulation of amino acid metabolism in asexual and sexual planarians. *Sci. Rep.* 9 :6132. (2019)

学会発表（抜粋 1 件、ほか 1 件）：

1. Shigenobu S: Genomic Revelations of a Mutualism: Aphids and the Endosymbiont. The 2nd NIBB-Princeton Joint Symposium (2019)

## 7 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本新学術領域研究では、3つの研究項目（A01、A02、A03）を設定し、9名の計画研究代表者、5名の研究分担者、12名の公募研究代表者で構成されている。研究者間の連携体制を下表にまとめる。

研究領域の連携体制			技術・情報・材料の提供																								
			A01												A02						A03						
			計画研究			分担			公募研究			計画研究			公募研究			計画研究			分担			公募研究			
技術・情報・材料の取得	A01	計画研究	林克	情報	情報	情報	材料	技術	技・情	技・情			技術		技術	技術	情報						情報	情報			
			小川	技・情・材	情報	情報	材料			技・情	技・情	情報		技・情	技・情	情報								材料		技・情	
			尾畑	情報	情報	情報								技・情	技・情												
		分担	小林俊	情報	材料							情報															
			平尾																								
			吉崎	情報										技・情	技・情												
	A02	計画研究	北島	材料																						情報	
			八幡		情・材	技・情			情・材	材料																	
			阿部																								
		公募研究	松本	材料																						材料	
			大川	材料																							
			吉田	情・材	技・情					技術								情報		技・情		技術				技・情	
A03	計画研究	小林悟						材料								情報				情報				技・情			
		栗本			情報	材料																					
		中村														技・情											
	公募研究	小林一			材料																				技・情		
		丹羽															材料										
		金井																									
公募研究	林陽	情報		技術																							
	加藤	技術					技術																				
	重信																										
高瀬	技術		技術												材料	情・材				材料							

技術 特殊な培養技術、ライブイメージング、CRIF解析、マイクロデバイスなどの独自性の高い技術の供与  
 情報 未発表の研究成果などの情報の供与  
 材料 解析に用いる細胞や生物の系統等の材料の供与

本領域研究の基盤はこれまで *in vitro* gametogenesis を推し進めてきた A01 の研究者が培養条件や培養デバイスなどの情報を共有し、*in vitro* gametogenesis の最適化を行うところにある。実際に A01 の計画班の研究代表者はこれらの情報を密に共有し、それぞれの研究を遂行している。A02 は独自の技術開発を行うとともに、A01 および A03 の研究材料の測定・解析を行っている。中間報告までに技術的な基盤や材料の調達手段が整い、今後の連携研究が加速するものと思われる。A03 は独自の研究で得られた情報や技術に関連する A01 の研究班に提供するとともに、A02 とも連携して生殖細胞の発生過程を新たな視点から解析している。表に示すように、各公募班は関連する計画研究班または他の公募班と連携して研究を遂行している。

これまでの連携により、すでに得られている特筆すべき成果を以下に示す。

1. 林班(A01 計画)-北島班(A02 計画)：新たに開発された方法で作製した *in vitro* 卵をイメージングし、染色体の異常分配の実態を明らかにした。（論文投稿中）
2. 尾畑班(A01 計画)-八幡班(A02 計画)：*in vitro* 由来卵子を CRIF 法で解析して発生能と相関するパターンを発見した。
3. 小林俊班(A01 計画)-栗本班(A03 計画)：ラット PGCs の単一細胞遺伝子発現解析 (*Development*, 2020)
4. 吉田班(A03 計画)-金井班(A03 公募)-小林悟班(A03 計画)：精巣内ビーズ移植法の技術提供により FGF シグナルの精子幹細胞の動態解析に協力した (*Cell Stem Cell*, 2019)。
5. 阿部班(A02 公募) -金井班(A03 公募)：D-OCT システムによりマウスの精巣と精巣上体の管腔内部における物質等の動きを非破壊的に解析した。
6. 小林一班(A03 公募) -重信班(A03 公募)：プラナリア の RNA-seq 及びゲノム解読を共同で推進した。 (*Sci. Rep.* 2019)

## 8 若手研究者の育成に係る取組状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（令和2年3月末現在で39歳以下。研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本研究領域では、若手研究者育成に関して以下の取組を行っている。

### 若手研究集会の開催

本研究領域は年に2回の領域会議を開催しているが、そのうち1回は若手自身が企画・進行を行う研究集会である。会の開催にあたっては、領域代表および開催地に近い計画研究代表者が必要に応じて支援を行なっている。この研究集会では、計画研究班と公募研究班に属する若手研究者（大学院生、ポスドク、若手スタッフ等）が自身の研究を発表する。現在までに2回の若手研究集会が開催されている（第2回集会は新型コロナウイルス感染拡大の影響で全体領域会議との合同開催）。第1回目の若手会議では、研究発表のほか、研究代表者が自身のキャリアパスにおける失敗談などを紹介する座談会を行った。このような若手研究者を中心とした研究集会により研究の進捗状況を共有するとともに、若手研究者がキャリアパス形成のイメージを作る機会を設けている。

### 若手研究者の海外派遣支援

研究推進のための情報収集、共同研究の遂行、または研究成果の発表のために、若手研究者を海外研究機関や海外研究集会へ積極的に派遣している。各研究班に加え、総括班はこれらの若手研究者の渡航を支援している。若手研究者がこれらの経験を通して、海外での研究活動をイメージできるように、継続的な支援を行う。これまでに7件9名の派遣を行った。

### 若手研究者への研究支援

各研究班の研究の推進にあたり、若手研究者への研究指導はもとより、特殊な培養技術や測定技術の習得のために若手研究者を積極的に他の研究班に派遣している。これは領域内の人的交流の促進にも役立っている。これらの研究支援のほか、若手研究者が学術振興会特別研究員制度（DC、PD）や財団等の研究助成制度に申請する際には、研究プロジェクトや申請書作成に関する助言を行っている。これまでに学術振興会 DC6件、PD4件、若手研究者が代表となった研究助成4件が採択されている。

### 国内研究集会等への参加支援

関連する国内の学会や講習会などに積極的な参加を促している。国内学会では、若手研究者が自身の研究内容の発表を行い、これまでに3名の若手研究者が優秀発表賞（繁殖生物学会、畜産学会）を受賞している。講習会においては、聴衆としての参加のほか、講師としても参加も奨励している。これまでに京極博久（研究員、北島班）が TT2019 ワークショップで顕微操作の実習トレーニングの講師を務めたほか、及川真実（研究員、小林俊班）が日本獣医生命科学大学において講師を務めた。

### 人的流動性の促進

若手研究者を育成するためには、上記のような支援のほか、ポストの確保や人的流動性が不可欠である。本研究領域では以下のようにポストを確保するとともに、大学教員などのアカデミックポストの獲得など人的流動性を高めるように努めている。まず、研究経費で7名のポスドク、7名のリサーチアソシエイトのポストを確保し、若手が研究を行える環境を整備した。次に、若手研究者のアカデミックポストへの就職を積極的に斡旋している。その結果、本研究に携わった若手研究者が博士課程修了後またはポスドク終了後に、4件の海外のポスドク（ワシントン大学、ケンブリッジ大学、ブラウン大学、カルフォルニア大学）および4件の講師または助教（慶應義塾大学、奈良県立医科大学、帝京大学、カセサート大学）のポストを得るに至っている。

## 9 研究費の使用状況・計画

研究領域全体を通じ、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況、研究費の使用状況や今後の使用計画、研究費の効果的使用の工夫について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 設備等の活用状況

研究領域全体を通じてデータサーバの共有とマイクロデバイスの供給を行っている。データサーバは栗本班により奈良県立医科大学内に設置され、すべての研究班の研究代表者にライセンスを配布している。研究者は一定の条件下でデータの閲覧が可能であり、新規性の高いデータを得ることができる。実験の重複を防ぐことにより、研究費の効果的な使用に貢献している。マイクロデバイスの開発については、木村が各研究班とのデザイン等の打ち合わせや、それに応じた機器や消耗品の購入を一元的に行うことにより安定かつ効率的な実験の遂行に貢献している。

当初の計画では、CRIF解析に必要な共焦点顕微鏡は、筑波大学に設置されたものを各研究班が使用する予定であったが、輸送負荷による卵子発生能の低下など、研究の進行を著しく妨げる問題が生じた。その解決策として、尾畑班（東京農業大学）にCRIF解析仕様の共焦点レーザー顕微鏡を設置した（研究費の前倒し申請により購入）。尾畑はこの顕微鏡を用いて卵子のCRIF解析を行い、その画像を研究領域のデータサーバを通じてリアルタイムに八幡班と共有する。八幡はそれらを即座に画像解析・機械学習に供して結果を伝えることにより、尾畑班が卵子の選別を進める。このようなワークフローはバーチャルなオープンラボの実践であり、遠隔地においても共同作業が可能であることを示している。特に移動や輸送に制約がある条件下では、このような手法は、設備投資とのバランスによっては、研究費を効果的に活用するためのオプションともなりうる。

このほか、実験材料の提供は連携する研究班の間で絶えず行われており、効果的な研究の推進に努めている。

### 研究費の使用状況や今後の使用計画

これまでの研究費の使用は概ね計画通りに進んでいる。物品費に関しては、各研究班が消耗品の単価比較や、機器の厳選などを行って節約していることは言うまでもないが、総括班の研究支援（マイクロデバイス支援、シークエンス支援）を利用しながら、研究費の効果的な利用に努めている。物品費の使用において生じた例外的な大きな変更点は、上記の尾畑班のほかは、林克班が購入予定であったフローサイトメーターを共焦点顕微鏡に変更した点である。この変更は研究の展開により共焦点顕微鏡の必要性が増したことに加え、所属機関に共通機器として高性能のフローサイトメーターが導入されたために生じた。人件費に関しては、研究費を利用して若手研究者の雇用を十分に確保することができた。またこれを継続することにより、研究推進と若手育成の双方が順調に進められている。その他、旅費等に関しては、領域会議の開催に大学等の施設を利用するなどして会場費を節約しているほか、国際会議等への参加には総括班の研究支援（海外学会等への派遣）などを利用して節約に努めている。

今後の研究費の使用について、計画と大きく異なる点はないが、新型コロナウイルスの感染状況により強いられる計画の変更には柔軟に対応する。具体的には、集会等の計画は変更を余儀なくされる可能性が高い。研究集会は研究の進捗状況の共有、共同研究の促進、人的流動性の促進という点で極めて有効な手段であり、これが妨げられる場合はオンライン開催などの代替策を講じる必要がある。集会のための費用はオンラインシステムの構築（PC機器やソフトウェアの購入）などに充てる。また若手研究者の海外留学が延期または中止されるなどの人的流動性が損なわれる可能性もある。この場合についても、人件費を確保して、若手研究者の雇用を確保するように努力する。最終年度には領域研究の総括として、国際シンポジウムが予定されているが、これについてもその時の状況を十分に考慮して、柔軟に対応する。

## 10 今後の研究領域の推進方策

研究領域全体を通じ、今後の本研究領域の推進方策について、「革新的・創造的な学術研究の発展」の観点から、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、今後公募する公募研究の役割を明確にすること。また、研究推進上の問題点がある場合や、国際的なネットワークの構築等の取組を行う場合は、その対応策や計画についても記述すること。

本領域研究は、各研究班で進捗状況に違いがあるが、全体としては当初の領域計画書に従って順調に進んでいると判断している。各研究班の研究において、計画の変更を余儀なくされるような遅れはなく、一部の研究課題においては、当初の予定よりも早い進捗が認められる。また連携研究でも一定の成果が得られている。このような状況を踏まえると、現状では特段の問題点は見出せないが、今後は以下のように領域研究を推進する。特にこれまで個々の研究班での開発や基盤整備に多くを費やした課題においては、今後はその成果をもとに他の研究班との連携を深めて、領域研究の発展を図る。

各研究項目における研究推進と連携の方策は以下の通りである。

### A01: インテグリティの再構築

培養条件の最適化に関しては、これまでに確立した CDM 培地を基盤として、高い発生能をもつ精子や卵子の構築に寄与する因子を同定する。これと同時に卵成熟を可視化できるレポーターマウスを導入してこれらの同定を加速させる（林克班-尾畑班）。また *in vitro* gametogenesis で得られた個体の健全性について解析する。マイクロデバイスの開発に関しては、マウスで開発したものをラット、ウサギ、ウシに応用する（小川班-小林俊班・公募班）。生殖腺の再構築に関しては、これまでに確立した卵巣の再構築系をもとに精巣の再構築系を確立する（林克班-小川班）。これに引き続きラットや他の動物への応用を試みる（林克班・小川班-小林俊班）。A02 との発生能の予見に関しては、これまでに見出している発生能と相関する特徴について、個体作製により確認するとともに、その物質的実体に切り込む（小川班・尾畑班-八幡班・A02 公募班、林克班-北島班・A02 公募班）。A03 において明らかになる生体内の生殖細胞集団の変化が体外培養でどのように変わるかを解析する（林克班・小川班-吉田班）。これらに加え、公募班として上記の研究成果を様々な動物に適用できる研究班を採択して、*in vitro* gametogenesis の普及を図る。

### A02: インテグリティの予見

計画班はこれまで開発してきたイメージング技術をさらに進化させる一方で、発生能と相関する特徴の詳細について明らかにする。染色体イメージングに関しては、*in vitro* 卵の染色体追跡解析を行うほか、紡錘体の複数の固有ドメインにおける形状変化解析を行う（林克班-北島班）。これと同時に生化学的な解析により、これらの形状変化を規定する分子を同定する。また、個別染色体を特異的に蛍光ラベリングシライブイメージングを行う新たな技術を開発することで、これまでにない解像度で染色体動態を解析する手法を確立する。CRIF 解析に関しては、オルガネラの形状を 3 次元的に可視化することを目指す。可視化された画像に基づいて各オルガネラの内部の内在性蛍光パターンを記録する画像処理アルゴリズムを開発する。これらを用いて、これまで得られている発生能と相関する特徴の詳細について明らかにする（尾畑班-八幡班）。またこれまで A02 各班により独自に発生能の予見技術を開発してきたが、今後それぞれの解析結果の相関について検討する（北島班-八幡班）。この検討には公募班により得られた結果も含める（北島班・八幡班-A02 公募班）。従って、公募班には独自の測定技術を持つ研究班を採択する。またこれらの方法により選別された配偶子の物質的な違いを、これまでに確立した高精度・高感度のプロテオームやエピゲノム解析により明らかにする（A02 公募班-林克班・小川班・尾畑班）。

### A03: インテグリティの理解

生殖細胞の集団変化を解析する研究に関しては、これまでの入念な予備実験により研究基盤が確立された。今後は様々な発生時期でのバーコードの導入と解析を行い、雌雄のマウス生殖細胞のレパートリー動態の全体像を解明する。これと同時に *in vitro* gametogenesis におけるレパートリー動態についても解析する（吉田班-林克班・小川班）。空間的な位置情報を維持した単一細胞遺伝子発現解析法の開発については、引き続き条件の検討を行うとともに、類似する技術を積極的に取り入れることにより、開発を加速させる。生殖細胞の排除機構に関しては、*Myc* 下流で働く因子を単離し、その機能を解析する。さらにシヨウジョウバエで認められた品質管理機構の普遍性についてマウスを用いて検証する（小林悟班-吉田班）。この他に母性因子の不均一性より生殖細胞が除去される機構についても解明する。公募班には「生殖細

胞の不均一性と選択」について独創的な研究を展開する研究班を採択し、生殖細胞の選択機構や品質管理機構についての理解を深める。

これらの研究をまとめることにより、以下のような革新的・創造的な学術研究の成果が期待される。

□ *in vitro* gametogenesis が配偶子研究において不可欠な選択肢となる。特に本研究の成果により、動物個体や胚を使用することなく生殖細胞と体細胞の両面から配偶子形成過程を解析することが可能となる。この手法は個体や胚の確保が困難である動物（ヒトを含む）への適用により、革新的な技術となる。これに加え、絶滅危惧種の保全等の遺伝資源の保存に一石を投じるであろう。

□ 配偶子の非破壊的評価システムが確立された場合は、これまで結果論的に考察されてきた発生能が予見かつ定量的に判断する可能性が拓ける。これは個体の生産効率を上げるばかりでなく、生殖細胞の品質を規定する分子やオルガネラの同定につながり、創造的な学術研究の発展に繋がる。

□ 生殖細胞レパトリーの変動を大規模に追跡した例はなく、その成果は生殖細胞研究におけるパラダイムシフトとなる可能性がある。これと合わせて、レパトリー変動を規定する分子やメカニズムの解明は、様々な動物種における生殖戦略や進化を考える上で重要な知見となる。

領域研究の最終年度に国際シンポジウムを開催して、これらの成果を国内外の関連分野研究者に広く発信するほか、本申請領域終了後の研究の新たな方向を考える機会とする。

## 11 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

本研究領域では、以下の評価委員が領域会議や総括班会議を通して、領域研究の進捗・方向性・成果に関して助言および評価を行う。それをもとに総括班は本研究領域における研究の進め方や、研究支援等の活動指針を策定し、本研究領域の発展に努めている。

### 評価委員

後藤由季子（東京大学大学院薬学系研究科・教授）

斎藤通紀（京都大学大学院医学研究科・教授）

丹羽仁史（熊本大学発生医学研究所・教授）

諸橋憲一郎（九州大学大学院医学研究院・教授）

吉村崇（名古屋大学大学院生命農学研究科・教授）

中間評価までの本研究領域に対する評価委員からのコメントは以下の通りである。

### 後藤由季子（東京大学大学院薬学系研究科・教授）

卵巣環境の再構築が達成され、また原始卵胞の再構築、精巣環境の再構築においても進展が見られた。精子形成を支持する合成培地開発においても大きな進展が見られた。これらの系を活用しつつ、染色体動態のイメージング、遺伝子発現、エピゲノム、CRIF、プロテオームなどの解析についても顕著な進展が見られている。また生殖系列の不均一性と選択、ゲノム損傷への応答についても着実かつ興味深い進展が得られている。班内研究チーム間での有機的な情報交換および共同研究がなされている。総合的に、予想を上回る大きな進展が得られている。

### 斎藤通紀（京都大学大学院医学研究科・教授）

本新学術領域研究は、高い発生能を有する配偶子の形成機構を理解し、それを予見・再構成し、配偶子形成過程を体外培養で再現する *in vitro* gametogenesis を革新的技術として確立することを目的とする。

領域代表者である林克彦博士のリーダーシップのもと、配偶子インテグリティの再構築・予見・理解を目的とする計画研究班・公募研究班が緊密に連携し、分子生物学・遺伝学・発生学・農学・水産学・工学にまたがる *interdisciplinary* な研究体制を構築、極めて精力的・建設的に研究が遂行されている。領域発足時の研究計画に基づき、ほぼすべての計画研究班・公募研究班が順調に研究を推進し、試験管内原始卵胞誘導技術の確立（林克班）、化学組成規定培地での精子形成の誘導（小川班）、精子幹細胞ホメオスタシス維持機構の解明（吉田班）、ラット *Prdm14* の機能解析（小林俊班）、卵子紡錘体安定機構の解明（北島班）、ショウジョウバエ生殖細胞の選択機構の解明（小林悟班）、ニジマス精子幹細胞培養技術の確立（林克班・分担吉崎）、をはじめとする成果がすでに報告されており、また、試験管内卵子形成を支持する雌性生殖単体細胞の試験管内誘導（林克班）、卵子様細胞の形成を誘導する4つの転写因子の同定（林克班）、ラット半数体の試験管内誘導（小川班）、ウサギ（小林俊班）・マーモセット・ミナミシロサイ（林克班）始原生殖細胞様細胞の誘導、*in vitro* マウス卵子の発生能の予見（八幡班・尾畑班）、を含む顕著な成果が挙げられつつあり、中間報告書の段階で、革新的技術としての *in vitro* gametogenesis の確立に向け、大きく前進したと評価される。

若手研究者の育成、本領域を支える多様な公募研究の採択と連携も適切に遂行されており、本領域研究全般に渡り今後さらなる成果が得られることが期待される。

### 諸橋憲一郎（九州大学大学院医学研究院・教授）

本領域は先の領域で達成した *in vitro* での配偶子産生の問題点を洗い出すことで生殖細胞のインテグリティの確保を前面に出す、意欲的な提案であった。この問題に対処すべく、インテグリティの再構築、インテグリティの予見、インテグリティの理解の各研究項目が効果的に配置され、順調に成果をあげていると評価できる。特に、インテグリティを定性的、定量的に計測する方法の確立に向けた試みは複数の研究グループの協力関係のもとに進められており、卵子のインテグリティの計測に威力

を發揮している。この方法を生殖細胞の環境を整える周囲の細胞に適用するなど、領域研究の後半で興味深い成果を期待したい。また、林らの低酸素の原始卵胞の形成促進効果や小川らの抗酸化物質とリゾリン脂質による精子形成の促進効果、また小幡らのデータによればエネルギー代謝の活性化とそのタイミングが卵子形成には重要であることが示されている。これらの成果はそれぞれに関連しているとの推測も可能で、特に *in vitro* の配偶子産生を *tuning* するにあたっては、代謝制御と配偶子形成の制御の関係を理解することは重要な視点であると思われた。このような新たな視点からの得られる基礎的な情報を基盤として配偶子インテグリティの理解が進むものと期待できる。

既に前の領域の経験があり、総括班活動や若手支援などは順調に進められている。領域研究に求められているのは、その領域が担当する学術研究の進展であり、発展著しい分野では若者は自然に育つはずである。そのような意味では、本領域の取り組みは自然な形で行われているとの印象を持っている。

#### 吉村崇（名古屋大学大学院生命農学研究科・教授）

本研究領域では生体内の配偶子産生システムを理解し、高い配偶子インテグリティを担保する *in vitro* gametogenesis を確立することを目的としている。インテグリティの再構築、予見、理解という三つの観点から目標の達成に取り組んでいるが、それぞれの計画班が情報や研究ツール、研究手法を共有するとともに、公募班も上手に取り込みながら有機的に結びついており、新学術領域研究のお手本ともいえる研究領域である。過去に採択されていた先行の研究領域と比べ、やや応用的側面が強くなっているが、それぞれの研究が好奇心駆動型で進められており、班員が一丸となって楽しそうに研究に取り組んでいるのが素晴らしい。今後の研究の発展が楽しみな研究領域である。

上記のようにいずれの評価委員からも概ね本研究領域の活動と成果に一定の評価を頂いている。特に連携研究における評価は高く、本領域研究の進行や研究支援が有効に行われていることを示唆している。今後は評価委員の助言をもとに、総括班と各研究班が一丸となって領域研究の発展に努める。