

自己評価報告書

平成23年5月6日現在

機関番号：14301

研究種目：特定領域研究

研究期間：2008-2012

課題番号：20062011

研究課題名（和文） 生殖細胞エピゲノム獲得機構の解明とその再構成

研究課題名（英文） The mechanism of the acquisition of germ cell-specific epigenome and its reconstruction in vitro.

研究代表者

斎藤 通紀 (Saitou Mitinori)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：80373306

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：発生・分化、遺伝子、ゲノム、シグナル伝達、再生医学

1. 研究計画の概要

本研究は、

(1) 生殖細胞形成機構を試験管内で再構成し、生殖細胞系列が獲得するユニークなエピゲノム情報とその獲得機構の解明、

(2) Prdm14 の胚性幹細胞 (Embryonic Stem Cells: ESCs) の多能性維持における役割解明、

(3) 生殖細胞形成能獲得における Wnt3 及び Bmp4 シグナルの作用機序解明、を目的とする。

2. 研究の進捗状況

(1) 生殖系列の起源となる始原生殖細胞 (Primordial Germ Cells: PGCs) の形成機構を明らかにし [PGC 形成に伴うゲノムワイドな遺伝子発現動態とそれを統合する Blimp1 の役割解明、PGC 形成に必須な遺伝子 Prdm14 の同定とその機能解析、PGC 二重モニターマウス及び ESCs の樹立、PGC 形成のシグナル原理解明、PGCs における Nanos3 の局在解明]、その知見に基づいて、ESCs から PGC 様細胞を試験管内で誘導すること、誘導した PGC 様細胞を、生殖細胞を有さない新生児精巣に移植することで、健全な精子に分化させることに成功した (Manuscript in revision)。

(2) Prdm14 が胚盤胞からの ESCs の樹立及び ESCs の維持に必須であることを明らかにした。Prdm14 欠損 ESCs は、ESCs を基底状態に保つ培養条件下では維持しうるが、その条件下でも増殖速度が遅く、いくつかの重要な遺伝子発現に以上を呈する。また血清が存在する通常の培養条件下では、すぐに分化を開始し、未分化状態で維持することが出来ない。こうした現象の背景となる、Prdm14

が ESCs において果たす役割の分子機構解明に端緒を付けた。

(3) PGC 形成過程に Wnt3 及び Bmp4 シグナルが必須であることを明らかにした。PGC 形成には、発生 5.0~5.5 日胚の胚体外胚葉に Wnt3 シグナルが作用し、さらにそれに Bmp4 シグナルが作用することが必須である。Wnt3 シグナルが作用しないと、Bmp4 シグナルを作用させても、PGC の形成は誘導されない。Wnt3 欠損胚体外胚葉及び試験管内 PGC 様細胞誘導系を用いて、それらシグナルが果たす役割、特に Blimp1 及び Prdm14 の発現が誘導される分子機構解明に端緒を付けた。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

上述したように、当初の目的であった PGC 形成機構の解明はほぼ順調に達成され、また ESCs から PGC 様細胞の試験管内誘導にも成功した (Manuscript in revision)。これらの成果は世界的にも評価されている。

4. 今後の研究の推進方策

開発した ESCs からの PGC 様細胞試験管内誘導系を用いて、PGC の獲得するエピゲノム情報を解明すること、さらには研究目的 (2)、(3) における分子機構解明を完成させることが重要となる。

5. 代表的な研究成果

(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22件)

Yabuta, Y., Ohta, H., Abe, T., Kurimoro, K.,

Chuma, S., and Saitou, M. TDRD5 is required for retrotransposon silencing, chromatoid body assembly and spermiogenesis in mice. The Journal of Cell Biology, 192, 781-795, (2011).
査読有

Yamaji, M., Tanaka, T., Shigeta, M., Chuma, S., Saga, Y., and Saitou, M. Functional reconstruction of Nanos3 expression in the germ cell lineage by a novel transgenic reporter reveals distinct subcellular localizations of Nanos3. Reproduction, 139, 381-393, (2010).
査読有

Ohinata, Y., Ohta, H., Shigeta, M., Yamanaka, K., Wakayama, T., and Saitou, M. A signaling principle for the specification of the germ cell lineage in mice. Cell, 137, 571-584, (2009).
査読有

Yamaji, M., Seki, Y., Kurimoto, K., Yabuta, Y., Yuasa, M., Shigeta, M., Yamanaka, K., Ohinata, Y., and Saitou, M. Critical function of *Prdm14* for the establishment of the germ cell lineage in mice. Nature Genetics, 40, 1016-1022, (2008).
査読有

Kurimoto, K., Yabuta, Y., Ohinata, Y., Shigeta, M., Yamanaka, K., and Saitou, M. Complex genome-wide transcription dynamics orchestrated by Blimp1 for the specification of the germ cell lineage in mice. Genes & Development, 22, 1617-1635, (2008).
査読有

[学会発表] (計 30 件)

Saitou, M. Germ cell specification in mice in vivo and in vitro.
Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Germ Cells
Cold Spring Harbor Laboratory, New York
平成 22 年 10 月 5 日

Saitou, M. Germ cell specification in vivo and in vitro.
ISSCR 8th Annual Meeting
San Francisco
平成 22 年 6 月 18 日

[図書] (計 1 件)

Kurimoto, K., and Saitou, M. A global single-cell cDNA amplification method for quantitative microarray analysis. Methods in Molecular Biology, 687, 91-111, (2011).

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称 : METHOD OF INDUCING DIFFERENTIATION FROM PLURIPOTENT STEM CELLS TO GERM CELLS

発明者 : 斎藤通紀、林克彦
権利者 : 国立大学法人京都大学
種類 : 特許
番号 : 61/373,563
出願年月日 : 2010 年 8 月 13 日
国内外の別 : 国外 (米国)

[その他]
ホームページ :
http://www.med.kyoto-u.ac.jp/J/grad_school/introduction/1103/