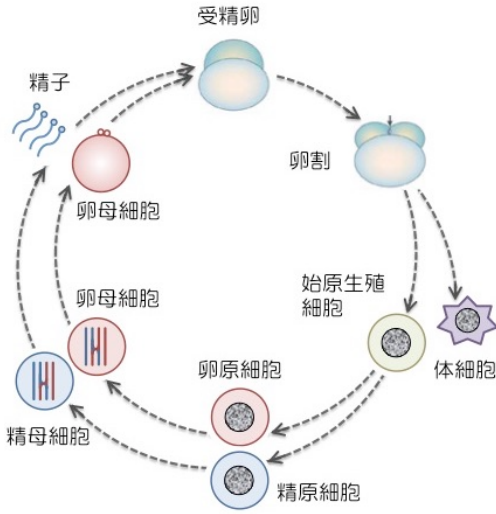


ゼブラフィッシュを用いた生殖細胞の研究



生殖細胞は発生初期に運命決定を受け、体細胞と異なった運命を辿ります。

始原生殖細胞は減数分裂を行う細胞と生殖系幹細胞に分化し、生殖系幹細胞は自己再生と分化により配偶子形成を維持します。分化した細胞は体細胞分裂により増幅した後、減数分裂を経て半数体の成熟配偶子へと至ります。

この過程で生殖細胞特徴的なメカニズムが認められ、例えば、減数分裂では染色体末端が核膜に接着し、相同染色体が対合して組換えを起こします。しかし、配偶子形成に至るプロセスには、まだ解明されていないことが数多く残されています。

ゼブラフィッシュで生殖細胞を研究するメリット

・精子形成全過程の細胞培養系 精子形成過程は、精原幹細胞の自己複製と分化、分化型精原細胞の体細胞分裂による増幅、減数分裂、精子への分化といった複雑なプロセスです。ゼブラフィッシュではこの全過程を細胞培養系で再現できます。生殖細胞のライブイメージングが容易になるばかりでなく、培養条件の操作や種々の薬剤の添加によって遺伝子機能の解析も容易になります。

精原幹細胞培養

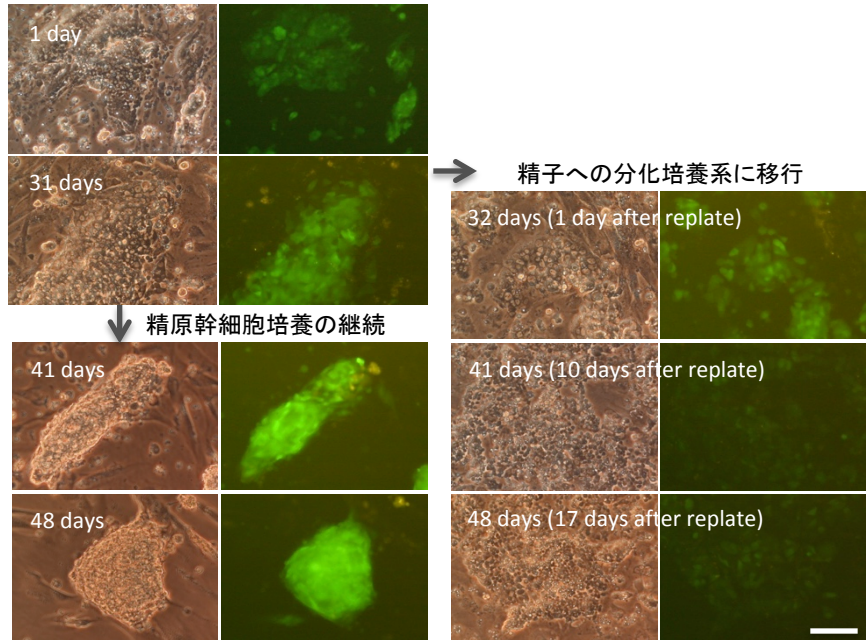
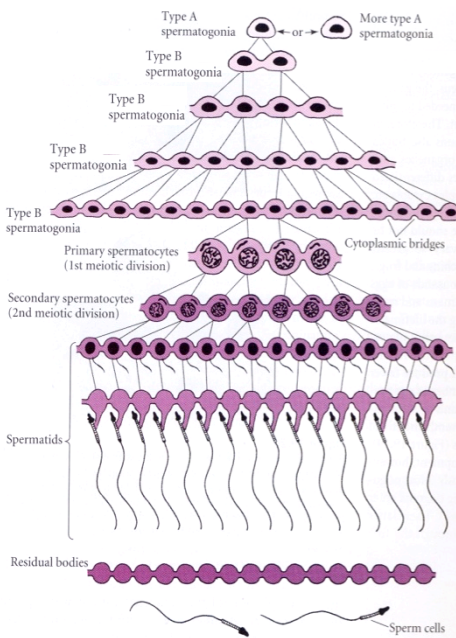


図1. ゼブラフィッシュの精子形成と細胞培養系 左パネルは精原幹細胞から精子までの模式図、右パネルは精原幹細胞培養系と精子への分化培養系の様子を示す。精原幹細胞はGFPを発現しており、分化するとその蛍光が消え、減数分裂を開始する。

・精原幹細胞の増幅が可能 ゼブラフィッシュではまれに精原幹細胞が過増殖した肥大化精巣が見つかります。通常、精原幹細胞は精巣中に少量しか存在しませんが、この肥大化精巣を用いることで精原幹細胞を大量調整できます。さらに、免疫不全ゼブラフィッシュの皮下に移植することで、この肥大化精巣の維持・増幅が可能になりました。精子分化培養系と組み合わせると、精原幹細胞と分化精原細胞の大量調整が可能になり、これまで難しかったタンパクレベルでの解析が容易になりました。

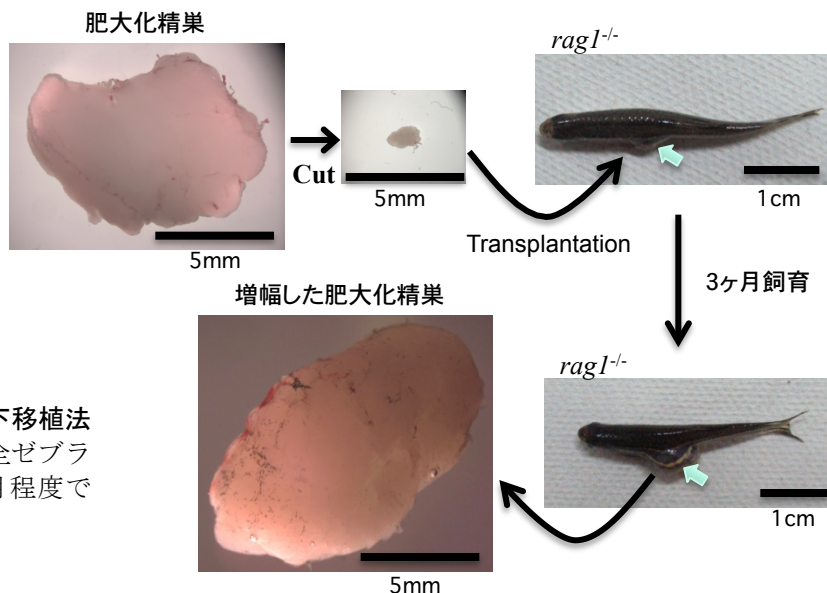


図2. ゼブラフィッシュ肥大化精巣の皮下移植法
肥大化精巣の一部分を切り取り、免疫不全ゼブラフィッシュ (*ragl^{-/-}*) に移植すると3ヶ月程度で再肥大化する。

どんな研究ができるのか

上記の実験系を用いて、精原幹細胞の維持と分化の制御メカニズムをRNAレベル、タンパクレベルで調べています。また、ゼブラフィッシュの染色体はヒトと同じようにセントロメアがテロメアから離れた構造を取っており、減数分裂時の染色体挙動も似ていることが分かり始めています。精子分化培養系を用いて染色体の挙動のライブイメージングや相同組換えを制御するタンパク群との相互作用の解析も進めています。

参考文献

- Kawasaki, T., Maeno, A., Shiroishi, T., Sakai, N. Development and growth of organs in living whole embryo and larval grafts in zebrafish. *Scientific Reports* **7**, 16508 (2017).
- Kawasaki, T., Siegfried, K.R., Sakai, N. Differentiation of zebrafish spermatogonial stem cells to functional sperm in culture. *Development* **143**, 566-574 (2016).
- Saito, K., Sakai, C., Kawasaki, T., Sakai, N. Telomere distribution pattern and synapsis initiation during spermatogenesis in zebrafish. *Dev. Dyn.* **243**, 1448-1456 (2014).
- Kawasaki, T., Saito, K., Sakai, C., Shinya, M., Sakai, N. Production of zebrafish offspring from cultured spermatogonial stem cells. *Genes Cells* **17**, 316-325 (2012).
- Saito K, Siegfried KR, Nusslein-Volhard C, Sakai N. Isolation and cytogenetic characterization of zebrafish meiotic prophase I mutants. *Dev. Dyn.* **240**, 1779-1792 (2011).
- Kawasaki T, Saito K, Shinya M, Olsen LC, Sakai N. Regeneration of spermatogenesis and production of functional sperm by grafting of testicular cell aggregates in zebrafish. *Biol. Reprod.* **83**, 533-539 (2010).
- 酒井則良 ゼブラフィッシュにおける*in vitro*の精子形成. *蛋白質核酸酵素* **52**, 2124-2129 (2007).
- Kurita K, Burgess SM, Sakai N. Transgenic zebrafish produced by retroviral infection of *in vitro*-cultured sperm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 1263-1267 (2004).
- Sakai, N. Transmeiotic differentiation of zebrafish germ cells into functional sperm in culture. *Development* **129**, 3359-3365 (2002).