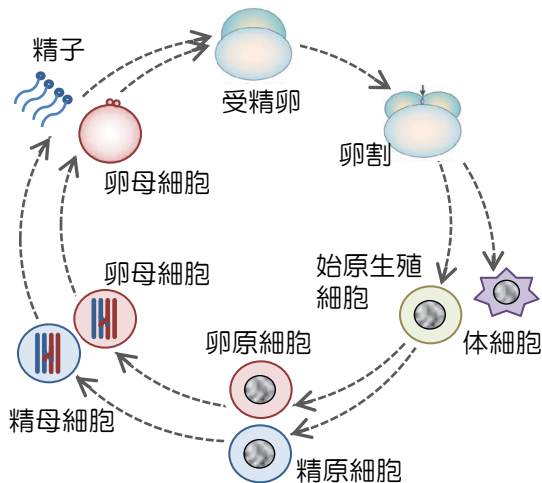


ゼブラフィッシュを用いた生殖細胞の研究

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。

運命決定を受けた細胞は始原生殖細胞と呼ばれ、増幅の後、生殖系幹細胞に分化します。生殖系幹細胞は自己再生と分化を繰り返して、配偶子形成を維持します。幹細胞から分化した卵原細胞や精原細胞は、体細胞分裂で数を増やした後、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、核の全能性が維持されつつ、母性父性由来の染色体が組み変わるといった、生殖細胞固有のゲノム統御が起きますが、その分子制御機構についてはまだ十分に理解できていません。



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。

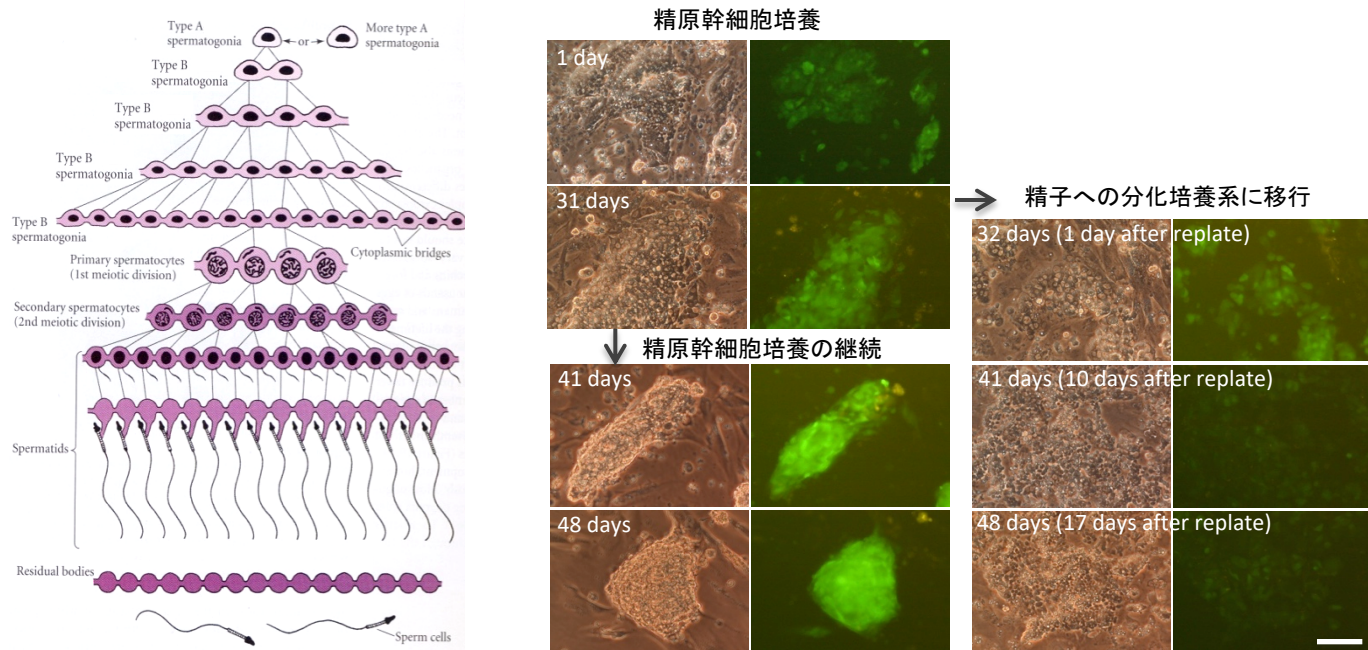


図1. ゼブラフィッシュの精子形成と細胞培養系 精原幹細胞が分化・増殖、減数分裂を経て精子に至る。幹細胞培養系でGFP陽性の精原幹細胞が増殖し、分化培養系ではその蛍光が消え、減数分裂し、精子に分化する。

・ **免疫不全系統を用いた皮下移植法** 成体に対して皮下移植が可能となり、解離精巣細胞塊や肥大化精巣、初期胚などを皮下で維持できます。これにより、精原細胞の幹細胞性のアッセイや、精原幹細胞の大量調整、胚性致死変異体の精子形成が可能になりました。大量調整した精原幹細胞は培養系により分化させられるため、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。

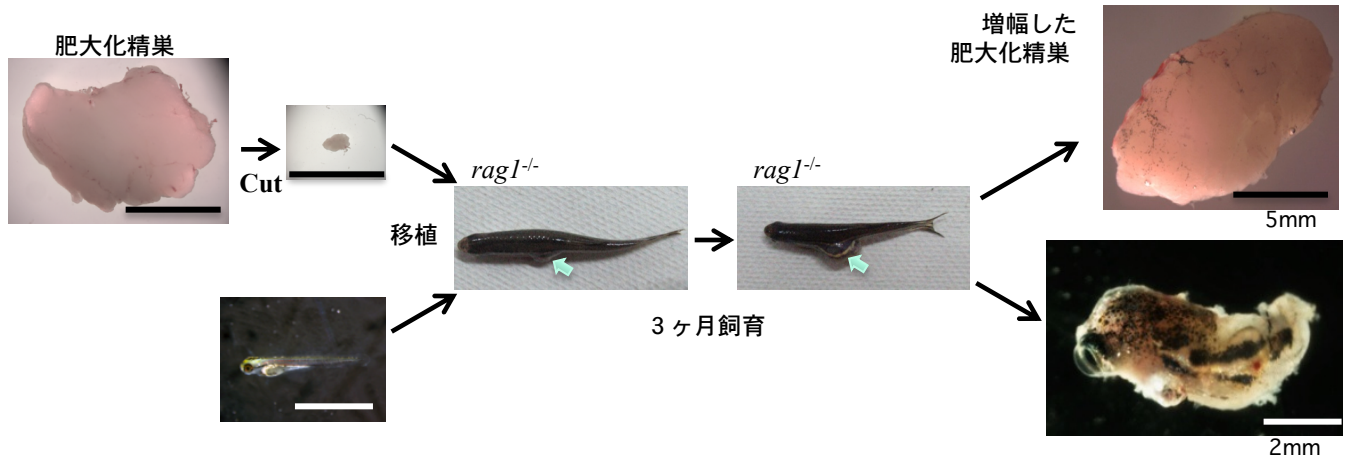


図2. 皮下移植法によるゼブラフィッシュの肥大化精巣と致死変異体の成長

・ヒトに似た減数分裂 減数分裂では、染色体末端テロメアの核膜の結合と相同染色体間の対合、という特有の染色体構造が認められます。この時の染色体動態はマウスとヒトで違っており、おそらく、これにより組換え部位の頻度に違いが生じると考えられます。ゼブラフィッシュは染色体動態や染色体構造がヒトと似ており、ヒトの減数分裂の染色体制御機構を調べるうえで良いモデルになると期待されます。

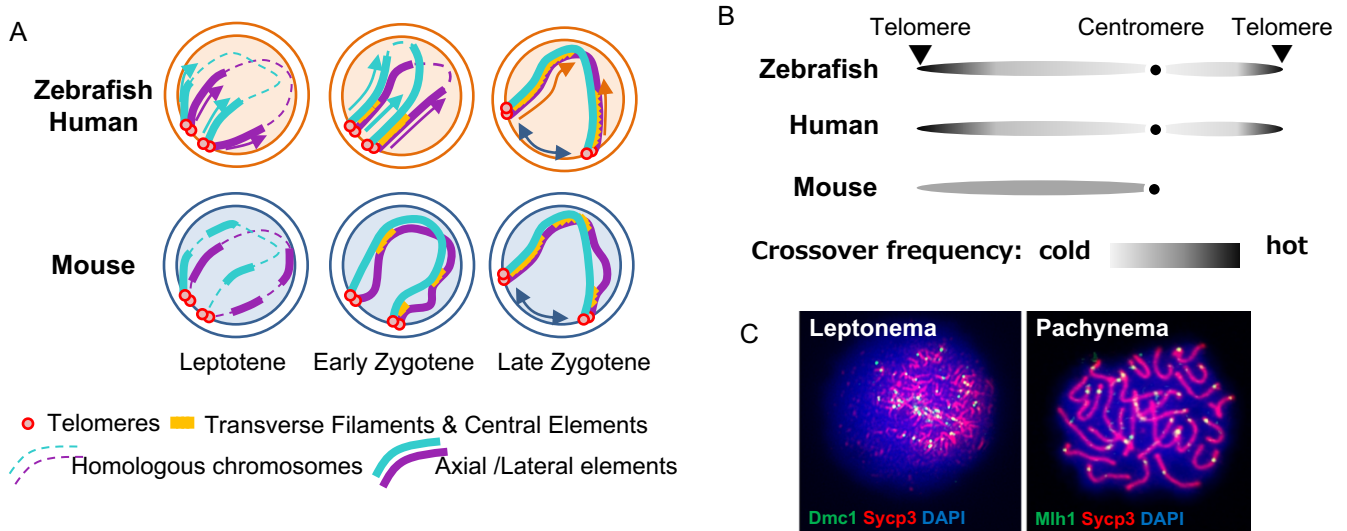


図3. ゼブラフィッシュとヒトは減数分裂時のシナプトネマ構造がテロメアから始まり(A)、組換えもテロメア付近で起こる(B, C)。一方、マウスではどちらも染色体全体で認められる。

参考文献

Kawasaki T, et al. Development and growth of organs in living whole embryo and larval grafts in zebrafish. *Sci Rep* **7**, 16508 (2017).
 Kawasaki T, et al. Differentiation of zebrafish spermatogonial stem cells to functional sperm in culture. *Development* **143**, 566-74 (2016).
 Saito K, et al. Telomere distribution pattern and synapsis initiation during spermatogenesis in zebrafish. *Dev Dyn* **243**, 1448-56 (2014).
 Kawasaki, T., et al. Production of zebrafish offspring from cultured spermatogonial stem cells. *Genes Cells* **17**, 316-25 (2012).
 Kawasaki T, et al. Regeneration of spermatogenesis and production of functional sperm by grafting of testicular cell aggregates in zebrafish. *Biol Reprod* **83**, 533-9 (2010).
 Kurita K, et al. Transgenic zebrafish produced by retroviral infection of *in vitro*-cultured sperm. *PNAS USA* **101**, 1263-7 (2004).
 Sakai, N. Transmeiotic differentiation of zebrafish germ cells into functional sperm in culture. *Development* **129**, 3359-65 (2002).