

研究課題別 中間評価結果

1. 研究課題名： 魚類精原幹細胞株からの個体の作出

2. 研究代表者： 吉崎 悟朗(東京海洋大学海洋科学部 准教授)

3. 研究概要：

本研究では、*in vitro* で培養している細胞から魚類個体を作成する技術の開発を目指し、精原細胞を可視化したニジマスモデルを用いて精原細胞の *in vitro* 培養条件の検討を行った。具体的には、1)ニジマス精原細胞の未分化性維持や、増殖、生存に効果があると予想されるニジマス由来の増殖因子の組換え体生産、2)精原幹細胞の分化に関わると考えられているセルトリ細胞の単離・精製と他のニジマス由来の支持細胞の株化、3)各種支持細胞を用いた精原細胞の培養、4)3)で培養した精原細胞の宿主孵化稚魚への移植を試みた。

その結果、1)ニジマス bFGF(塩基性繊維芽細胞成長因子)については組換え体の大量生産・精製に成功した。抑制因子である LIF(白血病阻止因子)についても組換え体は生産されており、現在精製中である。一方、昆虫細胞を用いての組換え体生産に難航したため、専門機関へ LIF、SCF(幹細胞因子)、GDNF(グリア由来神経栄養因子)の生産を外注済みである。2)精巣と脾臓から細胞株を樹立することに成功した。また、セルトリ細胞の貪食能を指標とした精製は可能であったものの、効率面で問題が残った。一方、*Inhibin-DsRed* を導入した遺伝子導入ニジマスは、オスではセルトリ細胞が、メスでは顆粒膜細胞で特異的に赤色蛍光が認められた。現在、セルソーターを用いた精製を行っているところである。3)、4)各種支持細胞を用いた精原細胞の培養を行った結果、ニジマス脾臓細胞を用いた場合に有意に増殖率が増加した。また、本細胞を宿主孵化稚魚へ移植した結果、宿主生殖腺への高いコロナイズ率が認められた。

4. 中間評価結果

4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

本研究では①増殖因子の生産、②種々の支持細胞株の樹立、③精原細胞の培養方法の確立、④宿主孵化稚魚への移植、の4つの課題テーマの達成を目指す。

低温で培養可能な魚由来細胞から、未精製の GDNF、SCF を入手することにより、精原細胞の培養実験が可能になった。また、増殖因子としてニジマスの bFGF と LIF の生産にも成功している。個体の再生実験が遅れているが、bFGF やニジマス脾臓細胞 RTS(rainbow trout spleen cell)が精原細胞増殖作用を有することを明らかにし、培養精原細胞の生殖腺への移植・生着に成功する等、研究は着実に進展している。

今後増殖因子の生産が軌道に乗れば、当初の計画に沿った進捗が期待出来る。

4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

精原細胞の増殖や生着率が低い等、未解決の技術的課題は残るが、精原細胞を培養する基本技術の開発は既に成功しており、精原細胞株から個体の作出に向けて十分な成果を出しつつある。

魚類の精原細胞から個体を作成する試みは斬新で、分化過程等に関する知見は学術的意義が大きい。本研究は水産学に新しい方法論を築くものでインパクトは非常に大きく、マウスやウズラ等の研究を促進するもので高く評価出来る。

今後、技術的課題を解決し増殖因子の特定に成功すれば、飛躍的發展が期待出来る。

4-3. 総合的評価

魚類の標的遺伝子改変による個体作出の技術基盤を確立しつつある。水産研究に新しい道を拓く意欲的な研究であり、成果も上がっている。極めて優れた研究であり、費用対効果も高い。