

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	ニホンウナギの完全養殖の高度化に資する育種技術の開発： ゲノム編集による生殖幹細胞の卵形成誘導				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	小林 亨
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	小林 亨

講演題目	ニホンウナギ幹細胞型精原細胞の分離と <i>in vitro</i> における増殖誘導条件の検討
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>本研究ではニホンウナギの高度育種技術の確立のための基盤情報整備のため、<i>in vitro</i> 培養条件における生殖幹細胞の増殖条件の検討を行った。</p> <p>養殖条件下のウナギ雄の精巣の生殖細胞のほとんどは生殖幹細胞型精原細胞で、精子形成の開始は見られない（幹細胞型精原細胞より精子形成の方向へ分化の進行した B 型精原細胞、精母細胞、精細胞、精子の形成は見られない）。この精巣組織を細切後、コラーゲナーゼ・ディスパーゼ処理した後、Nycodenz (Serumwerk)を用いた密度勾配遠心を行うことにより、幹細胞型精原細胞、セルトリ細胞、間充織体細胞に分離した。これらの体細胞をフィーダー細胞とした幹細胞型精原細胞、および、これらの分離細胞を再集合させた再構成精巣小塊を無血清 L-15 培地（10%BSA 含）下で様々な濃度の E2 を添加し、培養した。その結果、分離幹細胞型精原細胞、および、再構成精巣小塊中の幹細胞型精原細胞のいずれも 0.01～1 ng/mL E2 の範囲で濃度依存的な細胞増殖および増殖活性を示したが、精子形成の進行は起こらないことが明らかとなった。E2 処理で増殖した幹細胞型精原細胞は、アンドロゲンである 11-ketotestosterone の添加で精子形成の方向への分化（B 型精原細胞への分化）が誘導される。この培養条件を用いて、得られた精子形成細胞にエレクトロポレーション法により、DNA, mRNA の導入が可能であることを確かめた。現在、増殖させた生殖幹細胞において、crisper/cas9 法によるゲノム編集について検討を行っている。</p>