

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		1 細胞標識と長時間培養によるマウス初期胚細胞系譜解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Cell lineage study utilizing single cell labeling during early mouse embryogenesis			
研究氏 代表名 者	カカナ CC	姓)タケモト	名)タツヤ	研究期間 B	2014 ~ 2016 年
	漢字 CB	竹本	龍也	報告年度 YR	2016 年
	ローマ字 CZ	Takemoto	Tatsuya	研究機関名	徳島大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		徳島大学・先端酵素学研究所・助教			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>本研究では、体を構成する多様な体細胞系列が、胚のエピブラスト(胚盤葉上層)のどの領域に起源するのか、また、どういった細胞分岐によって産み出されるのかを明らかにする。申請者はこれまでの研究で、これまで重要視されてきた「三胚葉」分離が、あくまで組織の空間配置に過ぎず、最初期の細胞系列分岐ではないことを示した。そこで、マウス胚のエピブラストの 1 細胞を標識して、その子孫細胞が体のどの領域に分布するのかの研究を計画した。</p> <p>まず、マウス初期胚(妊娠 7-8 日目胚)のエピブラストを標識する方法の確立を行った。当該ステージの胚を取り出し、原条周辺のエピブラストの標識を行った。細胞の標識は、蛍光タンパク質を発現するプラスミドを電圧ポレーション法により細胞へと導入した。導入に用いたガラスキャピラリーの先端径や、電圧ポレーションの電圧、パルス長、パルス回数を検討することで、限定された細胞に導入することに成功した。より長期にわたる細胞標識を行なうため、Cre/loxP システムと組み合わせて行うことで、長期細胞標識を行なうことも可能となった。細胞標識された胚を全胚培養法により培養して、この細胞が発生の進行とともにどのように移動し、どういった細胞系列へと分化するのかを解析した。標識する発生段階を変えることで、発生の進行とともに原条周辺の細胞集団がどのように変化していくのかを解析できる。</p> <p>確立した細胞標識技術を活用して、妊娠 8 日目胚のエピブラストの標識を行い、24 時間培養を行い標識細胞が胚のどの領域に位置するのかを解析した。また、細胞分化マーカーの解析を行うことで、どういった細胞へと分化しているかを解析した。現在、引き続き細胞標識、解析を行っており、詳細な細胞系譜地図ができた時点で論文発表を行う予定である。</p>					
キーワード FA	細胞分化	原腸形成			

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

Our previous study clarified that neural plate and paraxial mesoderm originate from common precursor cells, axial stem cells. This results challenge classical view of three germ layer model, where neural plate and paraxial mesoderm are generated from different germ layers. Therefore, I revisit the cell lineages during gastrulation stage mouse embryos.

I firstly established the method to label a single epiblast cell of E7-8 mouse embryos. I planned to label a single cell by electroporating a plasmid expressing a fluorescent protein. By adjusting a pore size of glass capillary, voltage, pulse length and number of pulses, I succeeded in labeling a single cell.

Using this method, I labeled a single cell of E8 mouse embryos, cultured them for 24 hours in vitro, and analyzed the distribution of labeled descendent cells in embryos. I also analyzed cell fates by analyzing the expression of cell lineage markers. After finishing a large number analysis, I plan to publish a paper describing the fine cell lineage map.