助成番号　210348	５－２

研 究 成 果 報 告 書

研究テーマ（和文）	エピゲノムを安定化する Naive 型多能性幹細胞培養法の開発			
研究テーマ（英文）	Development of novel culture method for pluripotent stem cells			
研究期間	2021 年 ～ 2022 年		研究機関名　東京大学医科学研究所	
研究代表者	氏名	（漢字）	小林 俊寛	
		（カタカナ）	コバヤシ トシヒロ	
		（英文）	Toshihiro Kobayashi	
	所属機関・職名		東京大学医科学研究所 幹細胞治療研究センター ・ 特任准教授	
共同研究者（１名をこえる場合は、別紙追加用紙へ）	氏名	（漢字）		
		（カタカナ）		
		（英文）		
	所属機関・職名			

概要　（600 字～800 字程度にまとめてください。）

創薬や再生医療に用いられている多能性幹細胞 (ES 細胞, iPS 細胞) は長期間の培養後も染色体上のゲノムを比較的安定して維持できる一方、エピゲノム、特にゲノムにおける刷り込み(インプリンティング) が不安定であることが示されてきた。そこで本研究テーマではラットを用いて、Naïve 型多能性幹細胞におけるインプリンティング消失のメカニズムを明らかにし、その回避と未分化維持を両立させた新たな培養系を開発することを目的として研究を進めた。まずマウスでインプリンティング消失に重要な機能をもつと報告される *Prdm14* 遺伝子および MEK シグナルに着目し、ノックアウトおよび阻害剤を用いた検討を行った。その結果、マウスでの報告と一部異なり、ラットではこれら以外の遺伝子およびシグナルもインプリンティング消失に関わっている可能性が示唆された。一方で、インプリンティングの消失は胚発生中の始原生殖細胞が性分化前に起こす現象であり、ラットにおけるそれらメカニズムの理解や関連する重要な因子の同定が本研究テーマに繋がると考えられる。そこでラット多能性幹細胞から *in vitro* で始原生殖細胞を効率的に分化誘導できる培養系を開発した (Oikawa et al., ***Science*** 2022, Iwatsuki et al., *in revision*)。本培養系を用いればラット生殖細胞におけるインプリンティング消去に関わる重要な因子やシグナルを明らかにできると期待される。また実際にそれらのうち何がラット多能性幹細胞においても重要な機能を担うか効率的に絞り込むため、インプリンティングの状態を可視化できる新規のレポーターラットを作製した。今後は本レポーターラットから得られた多能性幹細胞を用いてインプリンティング消失に関わる因子を決定し、新たな培養法の開発を進める。

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	論文課題	Functional primordial germ cell- like cells from				
	著者名	Oikawa et al	雑誌名	Science		
	ページ	176 ～ 179	発行年	2 0 2 2	巻号	376(6589)
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	

英文抄録 （100 語～200 語程度にまとめてください。）

Pluripotent stem cells (PSCs) maintain a relatively stable genome during the long-term culture, while their epigenome, in particular genomic imprinting, has been shown to be unstable. In this project, we aim to develop a novel and stable culture system for naïve rat PSCs without cause of the loss of genomic imprinting (LOI). Firstly, we tested the effect of *Prdm14* gene and MEK signal, both play crucial roles in the LOI in mice. Unexpectedly, their function is not fully conserved between mouse and rat, suggesting additional factors may involve in the LOI in rats. On the other hand, LOI occurs during germline development. To understand the mechanism in rats, we developed a novel *in vitro* system to induce primordial germ cells from rat PSCs (Oikawa et al., ***Science*** 2022, Iwatsuki et al., *in revision*). This system will allow us to identify the factors related to LOI. Furthermore, to determine which factors are crucial for LOI in rat PSCs efficiently, we newly generated a reporter rat line that can visualize the status of genomic imprinting. By using PSCs derived from this reporter rat, we plan to screen genes or small molecules which can prevent the LOI.