

医学部発生学(6)



医学系研究科附属創生応用医学研究センター
脳神経科学コアセンター
発生発達神経科学分野助教
吉川貴子

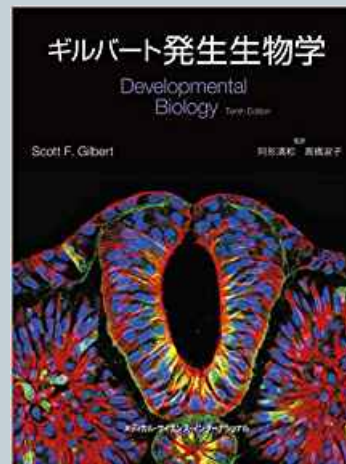
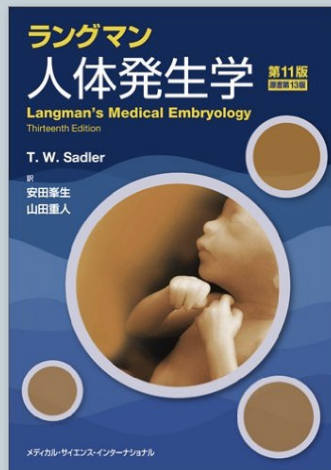
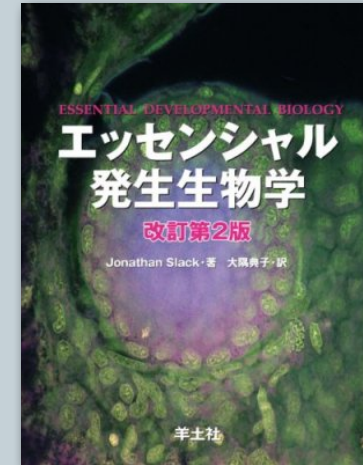
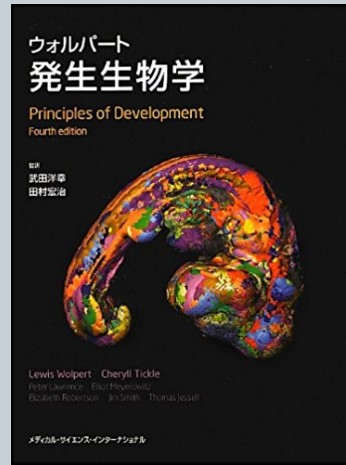


Center for
Neuroscience,
ART

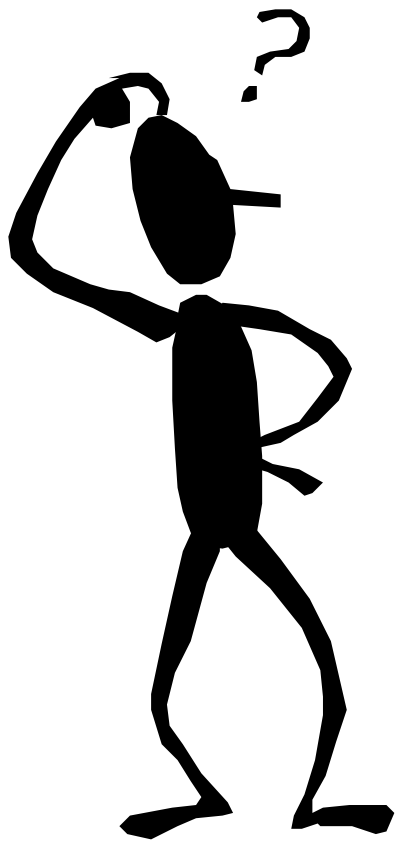


TOHOKU
UNIVERSITY

参考書



発生に影響を与える要因は？

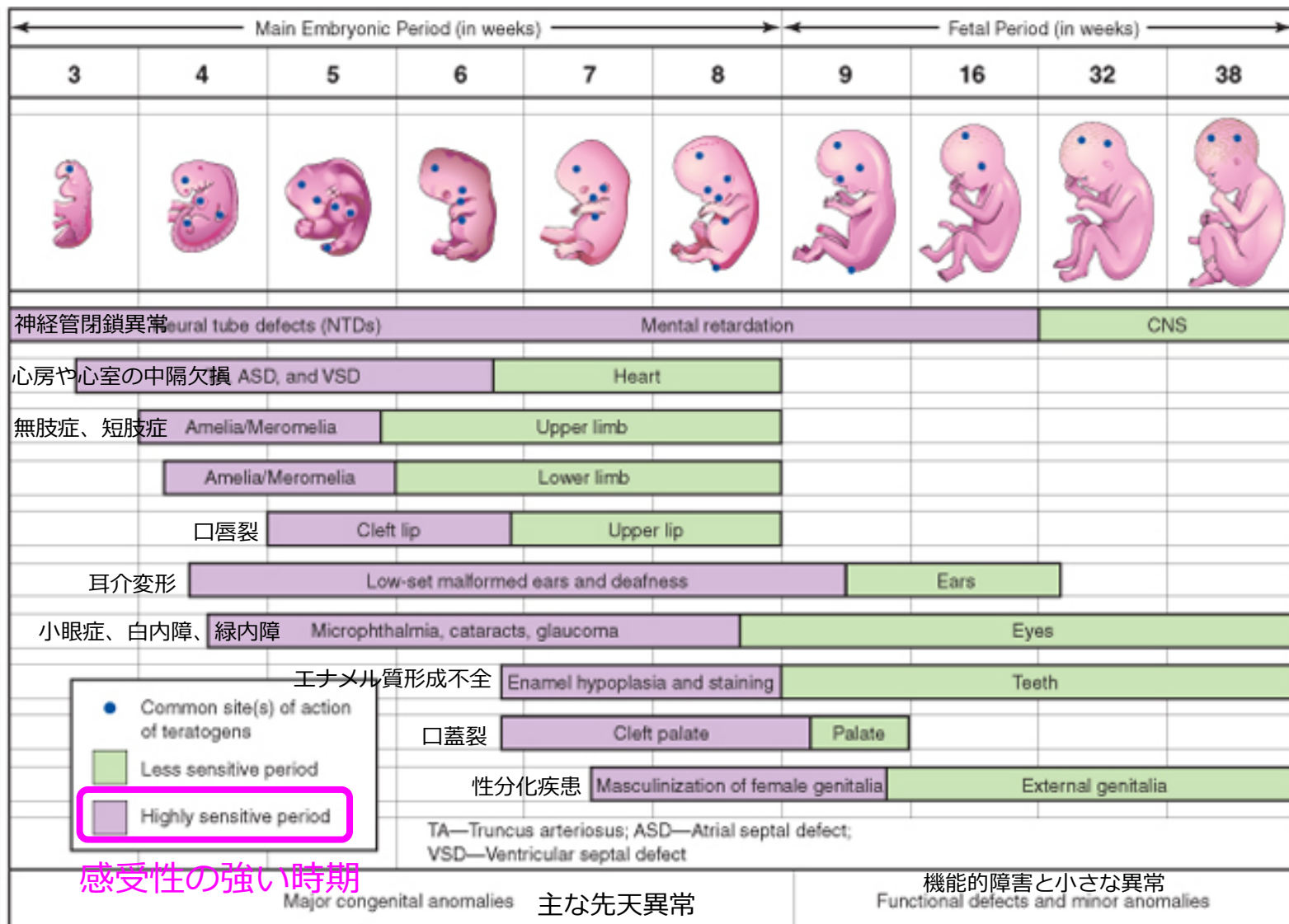
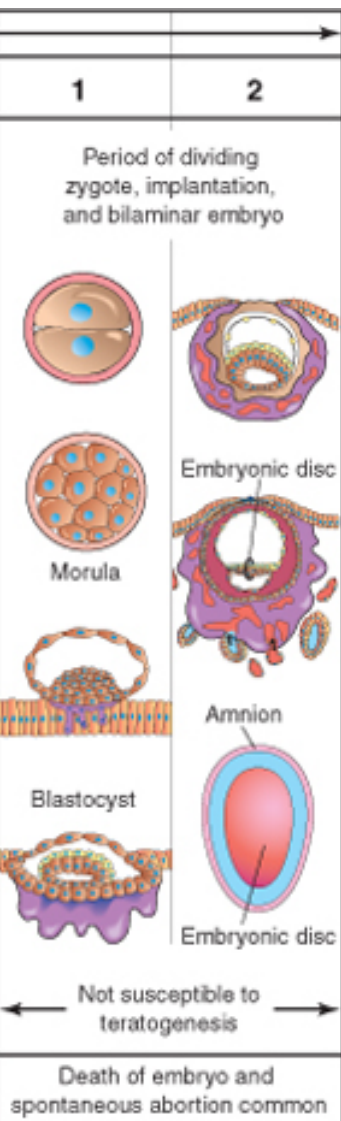


妊娠週数と催奇形因子が作用しやすい期間

卵期

胚子期

胎児期

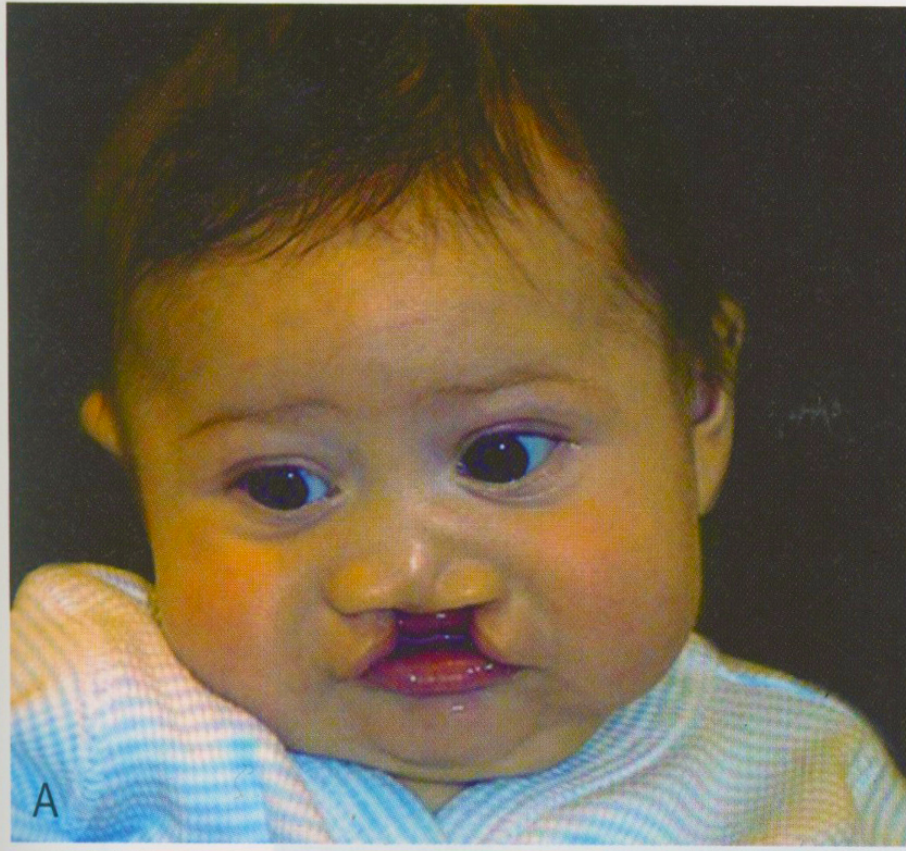


感受性の強い時期

この時期の奇形は致死となる

遺伝子の異常による症状

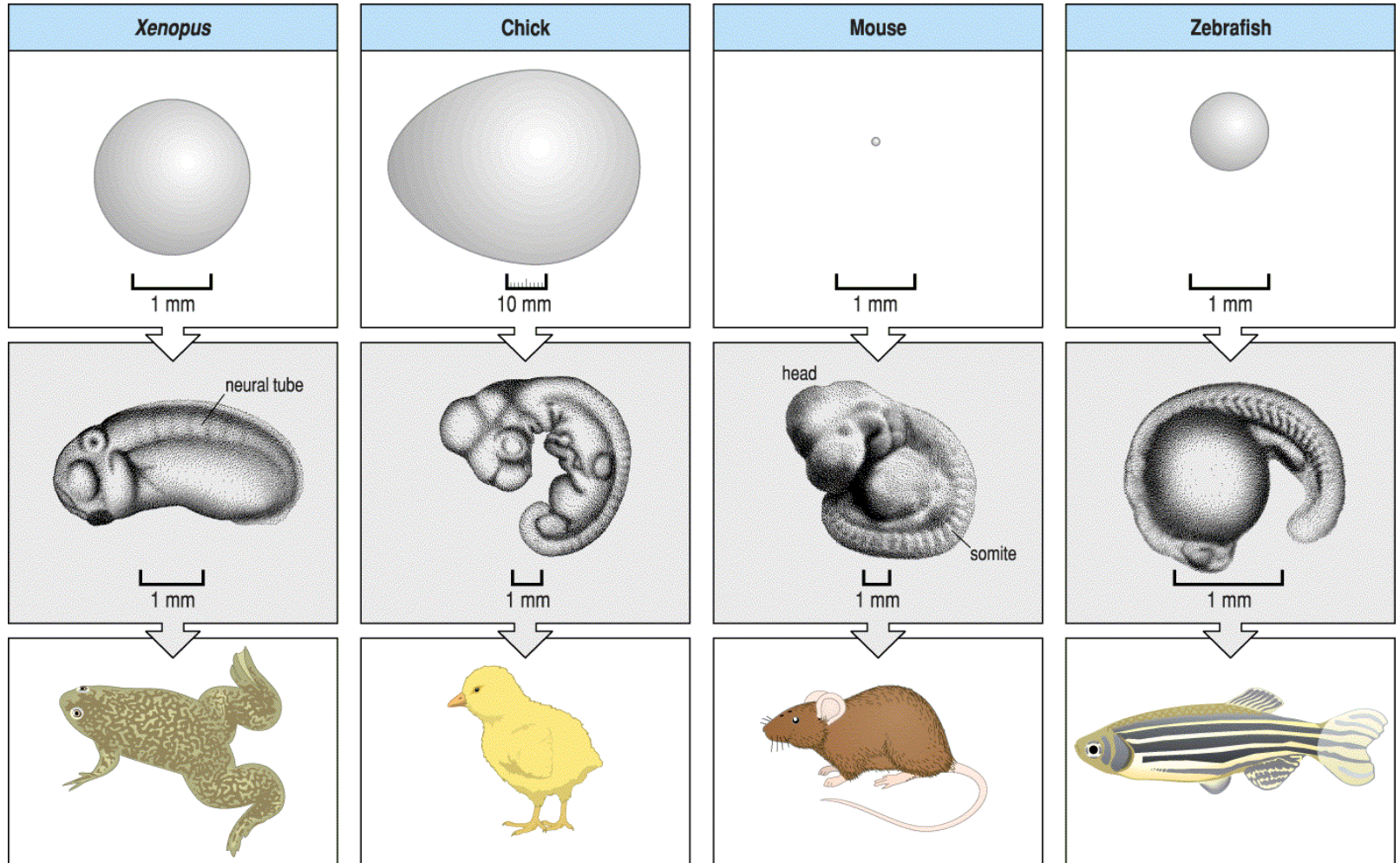
SONIC HEDGEHOG (SHH) の変異



A: 両側性の口唇裂と全前脳胞症を疑わせる顔貌

B: 軸前性多趾の足

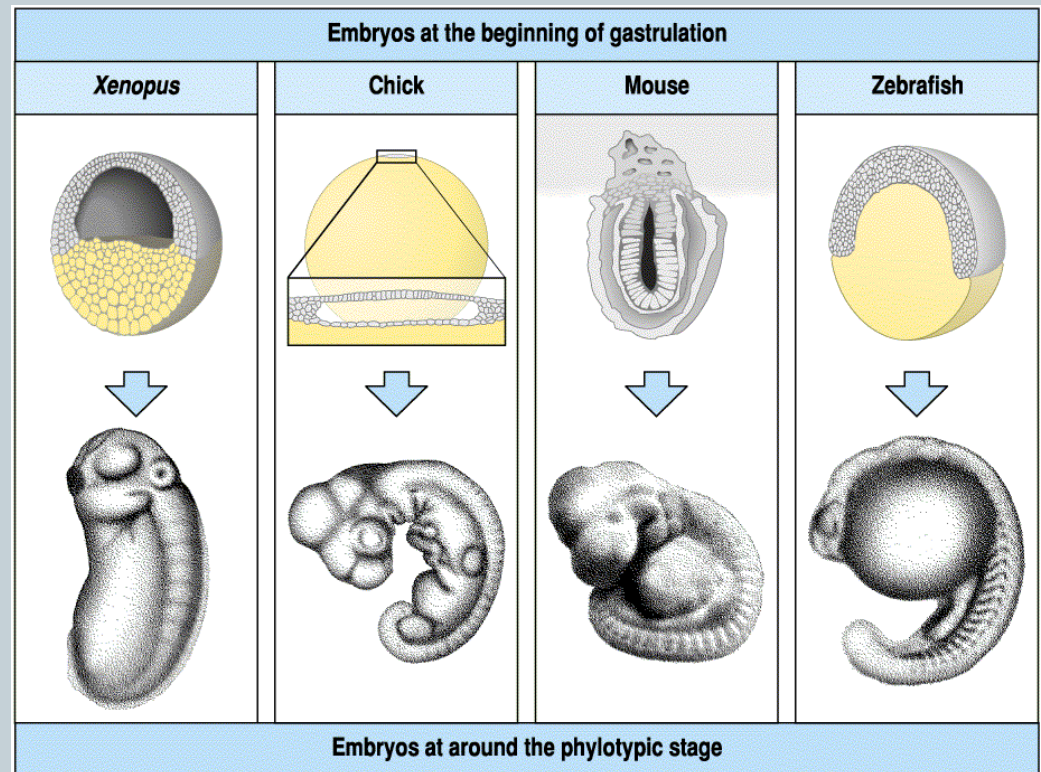
初期の発生現象は脊椎動物に共通



ファイロティピックな発生段階



- 原腸陥入後（咽頭胚）
 - 脊椎動物胚特有のかたち
- 共通構造：
 - 1) 脊索
 - 2) 神経管
 - 3) 体節



モデル動物の利点

マウス



ニワトリ



ゼノパス



ゼブラフィッシュ



無脊椎動物



ショウジョウバエ



線虫

発生学とノーベル賞

発見！
器官をつくる
「巧妙なしくみ」

イモリ・アフリカツメガエル
Urospina vulgaris, *Triturus cristatus* / *Xenopus laevis*



Hans Spemann

1935年ノーベル賞

発見！
からだの形づくりの
「設計図」

キイロショウジョウバエ
Drosophila melanogaster



Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard, Eric F. Wieschaus

1995年ノーベル賞

発見！
形づくりで
「なくなる細胞」

線虫
Caenorhabditis elegans



Sydney Brenner, H. Robert Horvitz, John E. Sulston

2002年ノーベル賞

発見！
「遺伝子改変マウス」
をつくる

ES細胞の発見とそれを使った
遺伝子ターゲティング技術の確立



Mario R. Capecchi, Oliver Smithies, Sir Martin J. Evans

2007年ノーベル賞

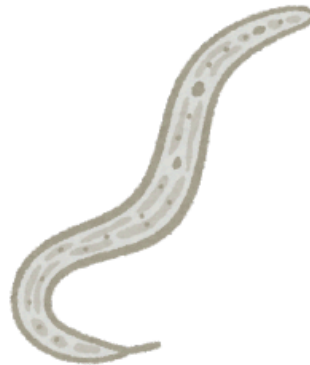
発見！
発生の時間を巻き戻せ

成熟細胞を発生のはじめに帰れる
多能性細胞へ戻すことができることを発見



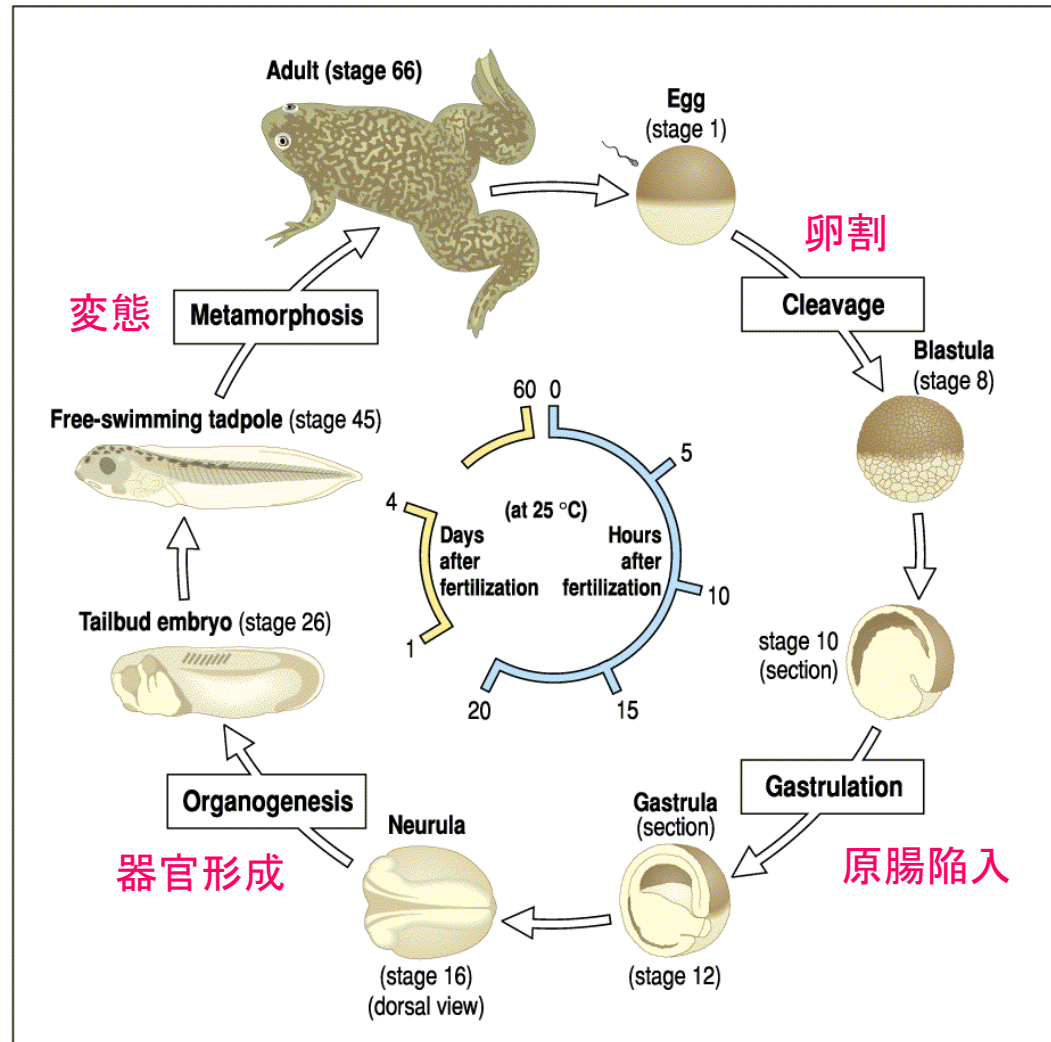
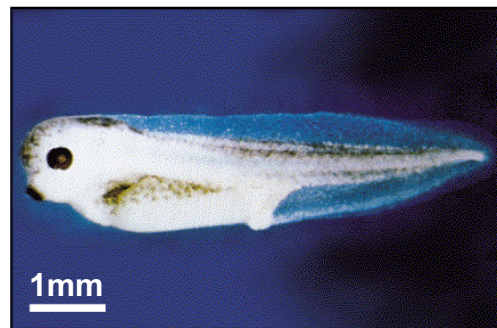
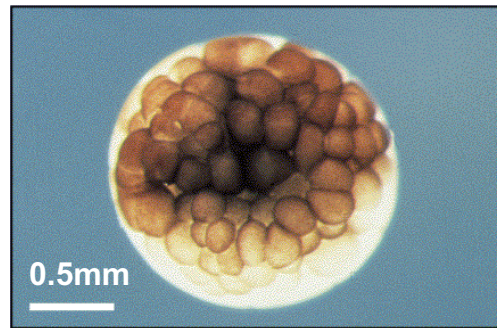
Sir John B. Gurdon, 山中 伸弥

2012年ノーベル賞



科博「卵からはじまる形づくり」より

ゼノパス (アフリカツメガエル)



ゼノパスの発生の動画↓ (基礎生物学研究所、ビデオギャラリー)

http://www.nibb.ac.jp/about/videogallery/index_2.html

アフリカツメガエル



- 利点

- 卵や胚が大きい
- 胚発生が親と独立
- 微小手術が容易
- 胚発生が早い

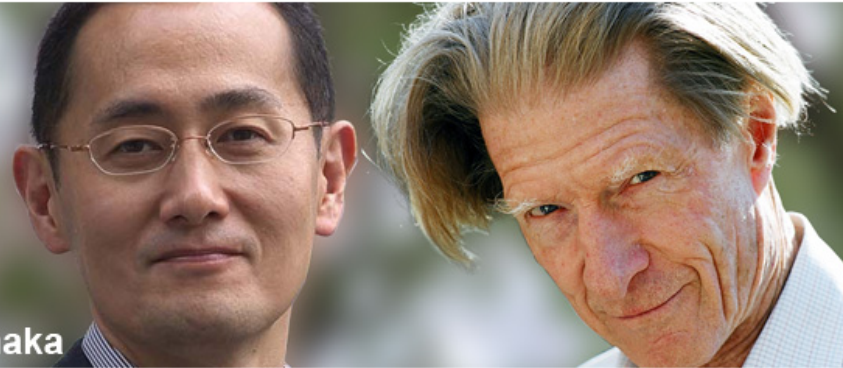
- 欠点

- 遺伝学がほとんど無い

現代の分子レベルの
発生生物学では
遺伝学が必須！

This file is licensed under the Creative Commons Attribution 2.0 Generic license.

2012 NOBEL PRIZE IN
PHYSIOLOGY OR MEDICINE
Sir John B. Gurdon & Shinya Yamanaka



Cell 126, 663-676, 2006

Cell

Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors

Kazutoshi Takahashi¹ and Shinya Yamanaka^{1,2,*}

¹Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

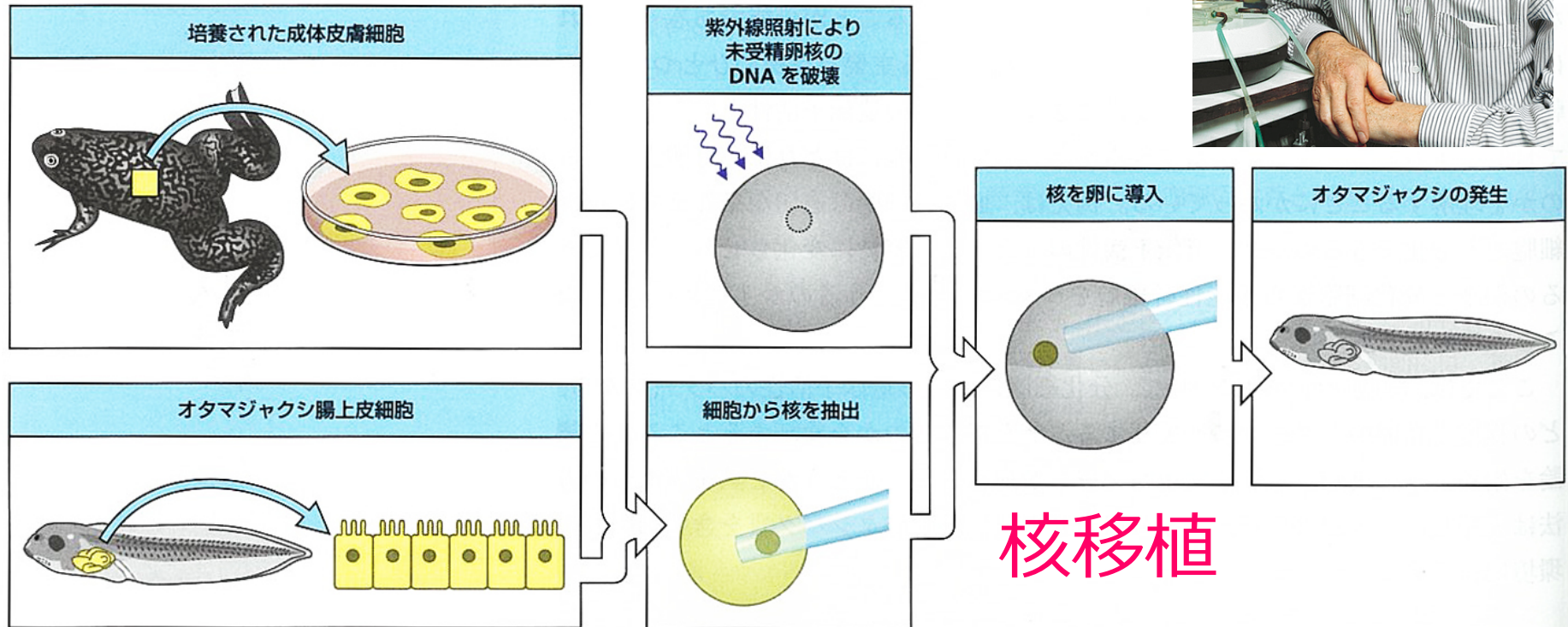
²CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi 332-0012, Japan

*Contact: yamanaka@frontier.kyoto-u.ac.jp

DOI 10.1016/j.cell.2006.07.024



ガードンの実験



核の中に**遺伝情報**の元がある！

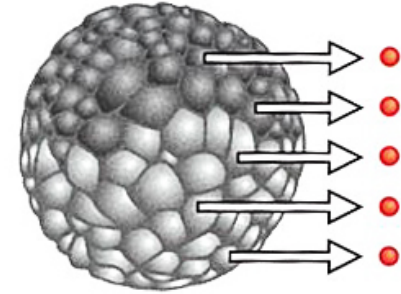
クローンカエル

胞胚

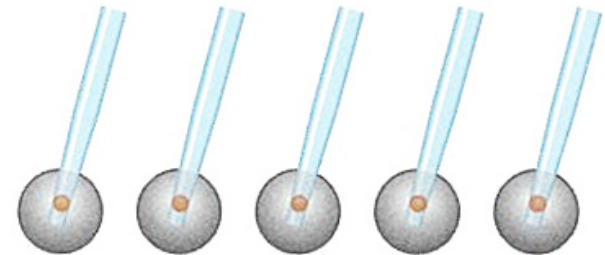
脱核した受精卵
への核移植

遺伝的に同一な
クローンカエル

胞胚からいくつかの核を抽出



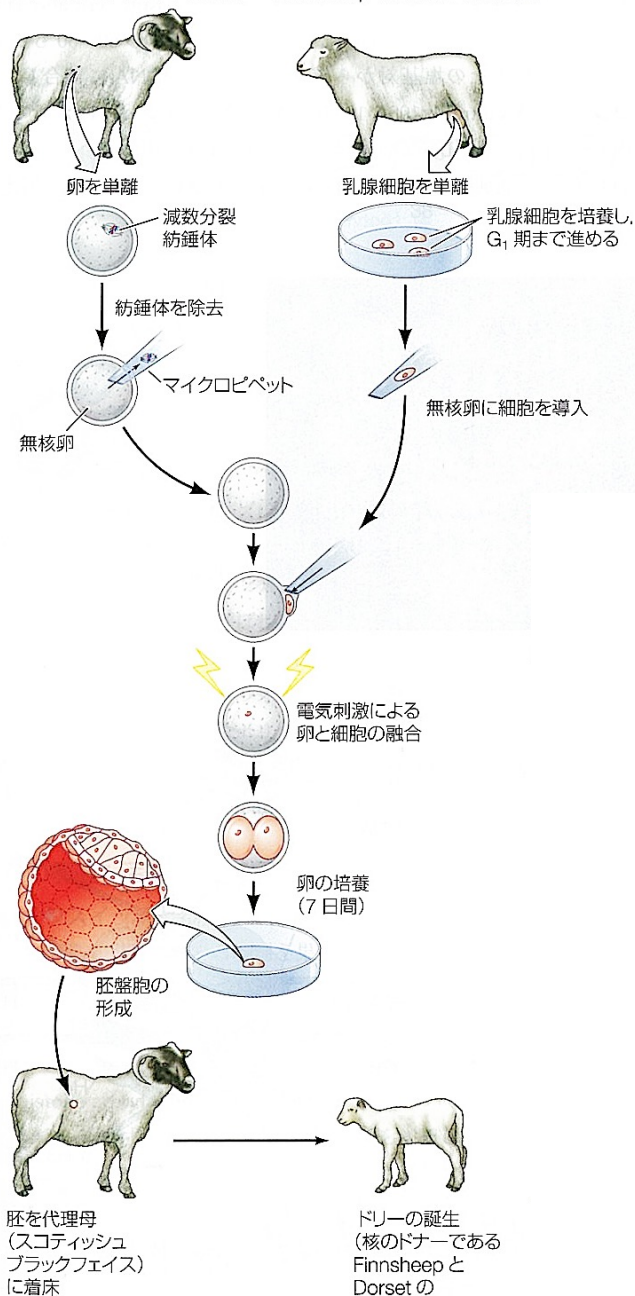
核を除核卵に移植



遺伝的に同一のカエルが発生



(A) 卵母細胞のドナー (スコティッシュブラックフェイス) 核のドナー (Finnsheep と Dorset の交配種)

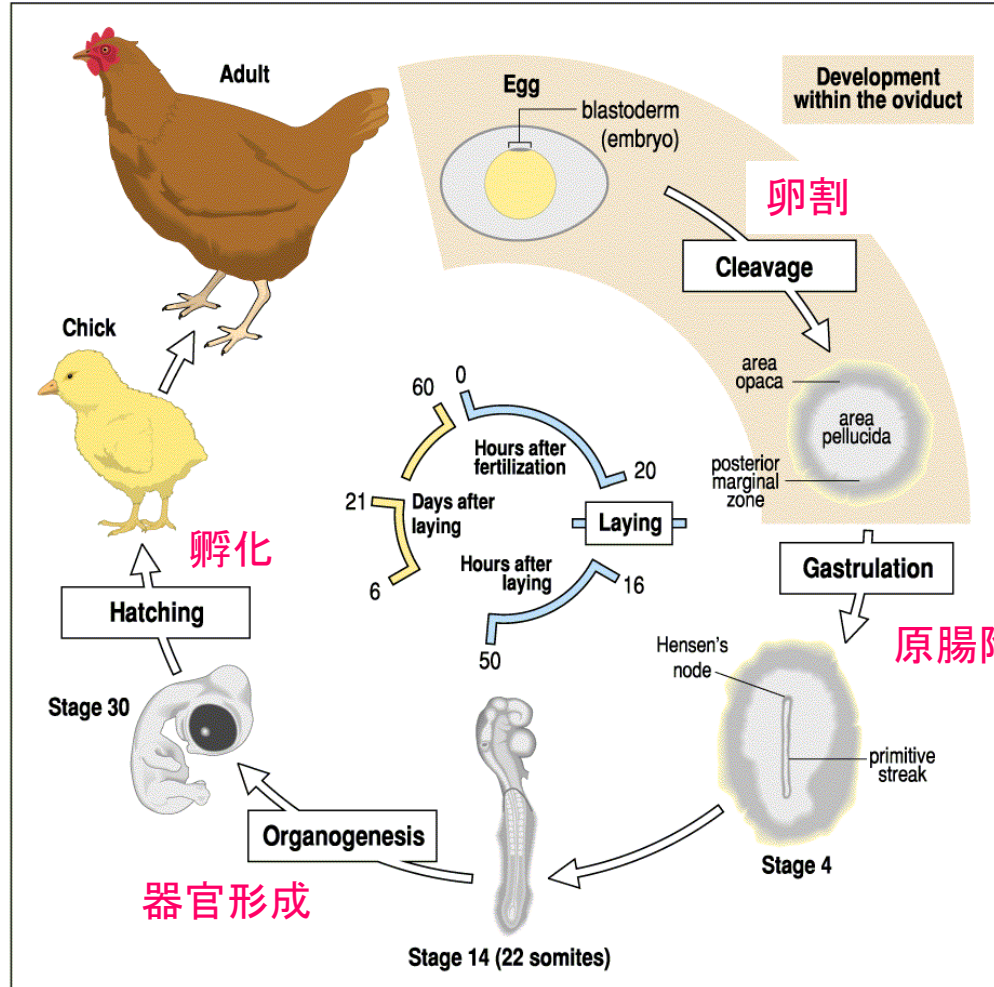
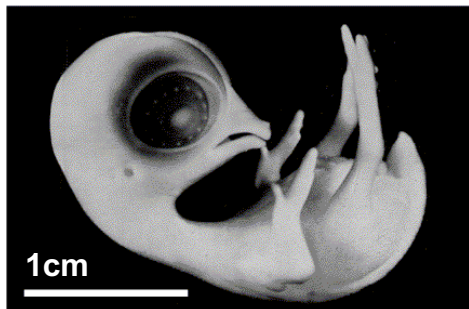
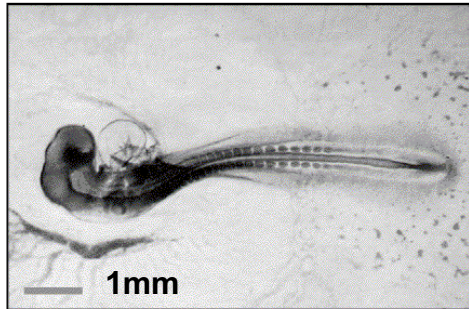
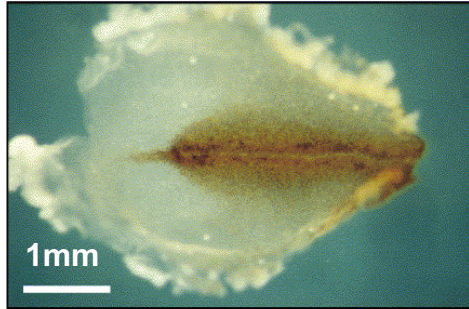


核移植による クローン羊ドリー



(Wilmut, I. et al., *Nature* **385**, 810-813, 1997)

ニワトリ



ニワトリ



- 利点

- 実は初期はヒト胚に似ている
- 卵や胚が大きい
- 胚発生が親と独立
- 微小手術が容易
- 組織培養可能
- 安価

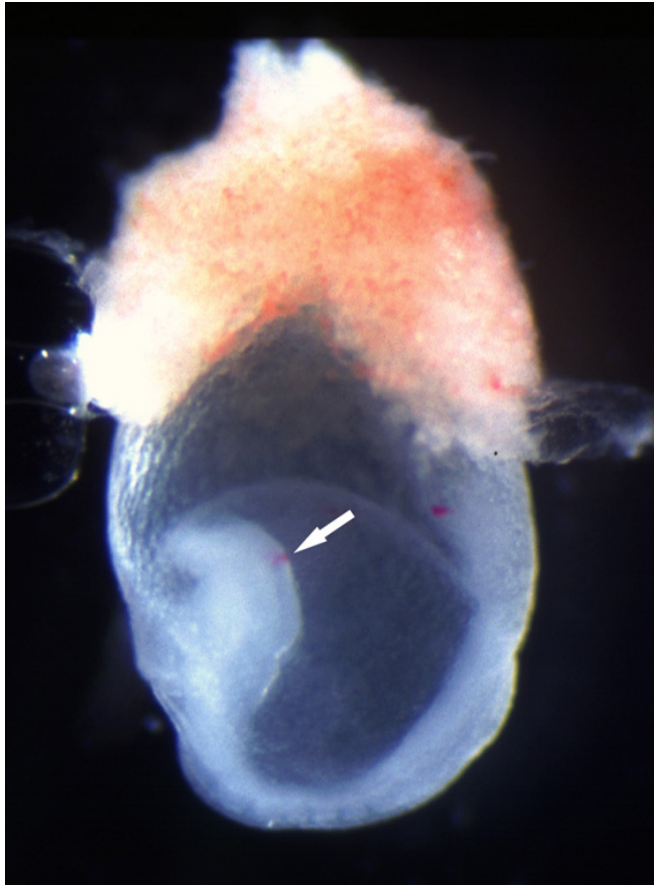
ウズラ胚との
交換移植ができる！

- 欠点

- 遺伝学がほとんど無い

現代の分子レベルの
発生生物学では
遺伝学が必須！

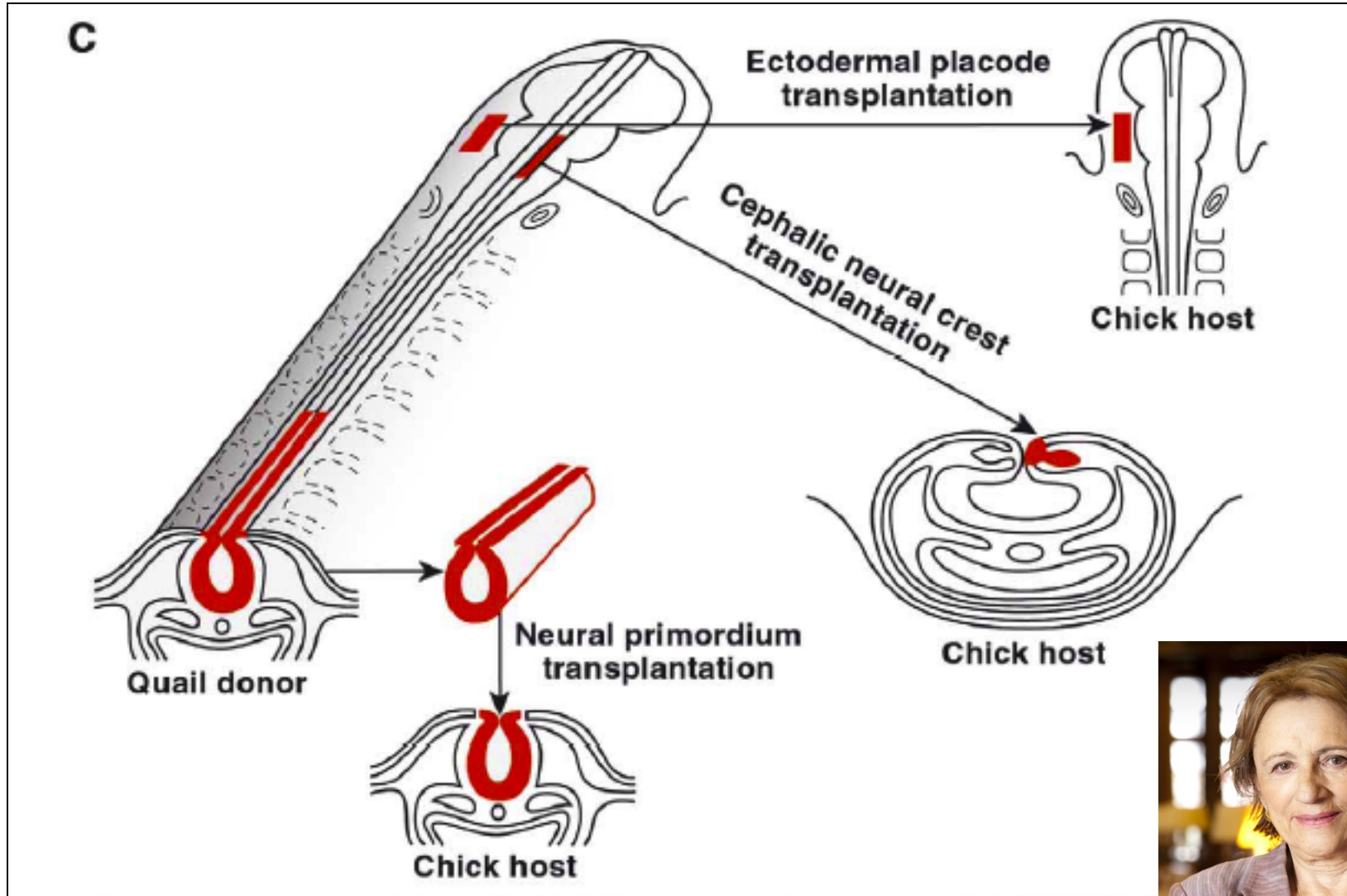
マウス胚



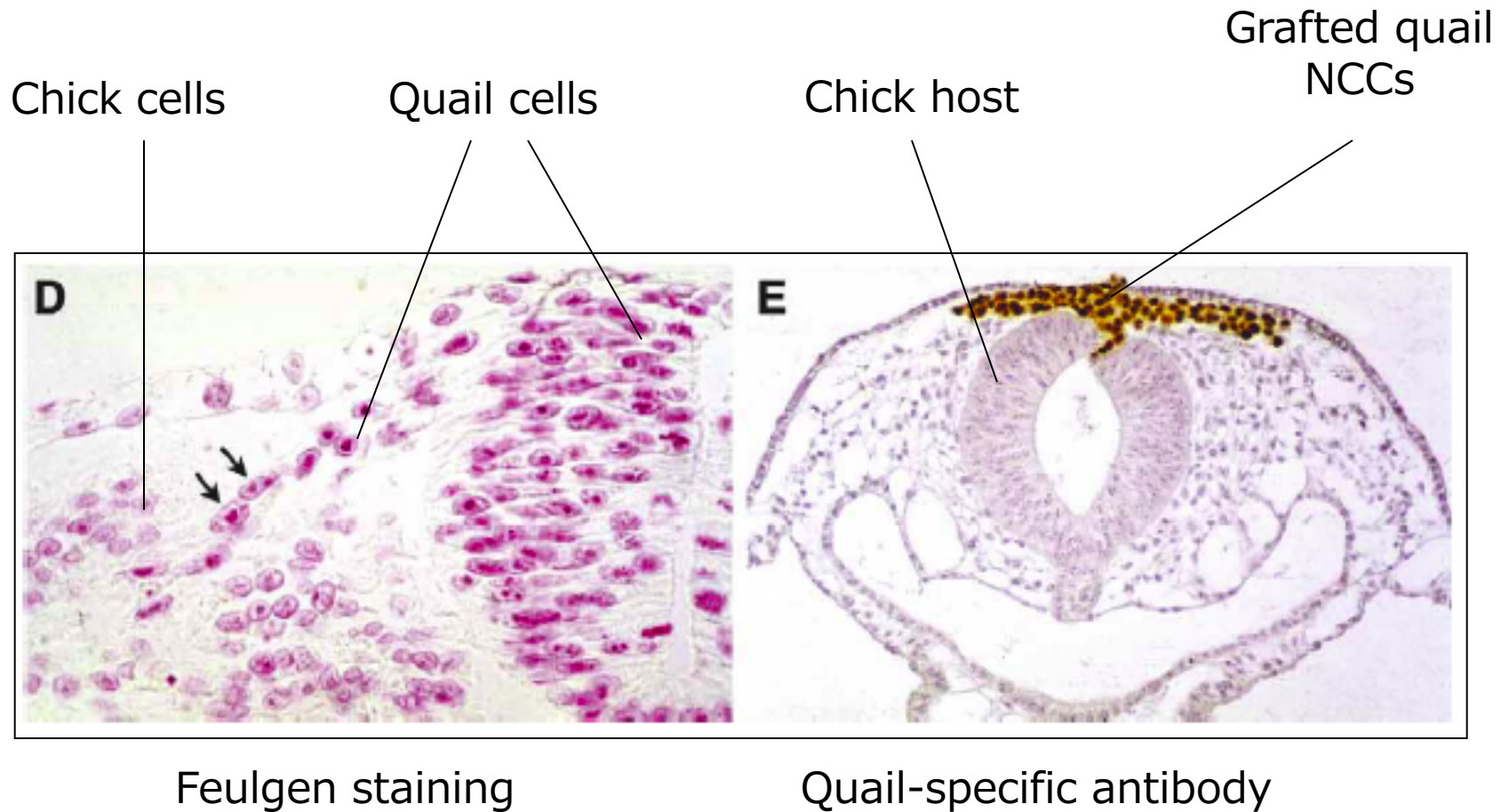
ニワトリ胚



神経堤の移植



移植されたウズラ由来の神経堤細胞



ニワトリ胚への遺伝子導入

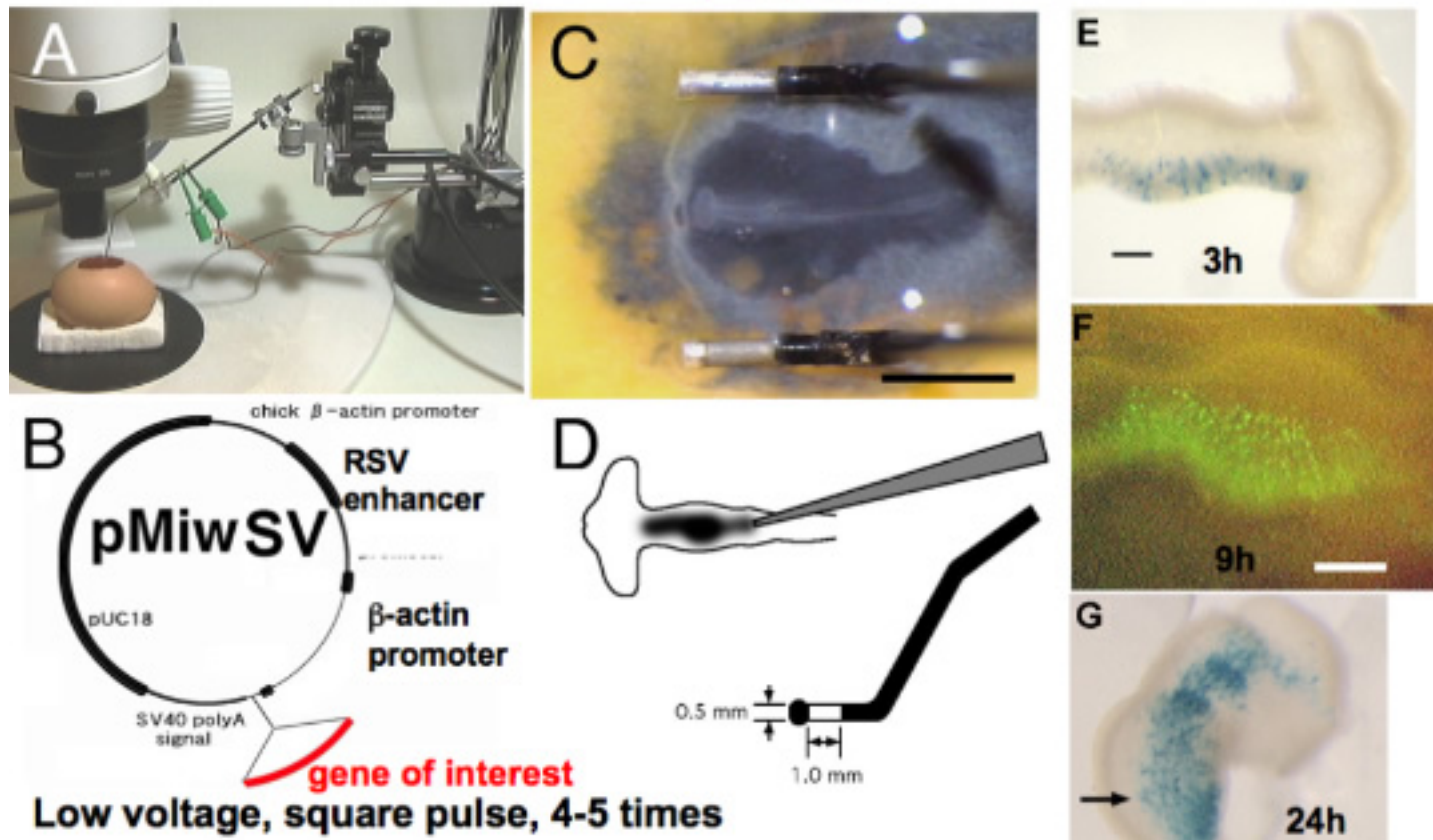


仲村春和 先生

IN OVO ELECTROPORATION

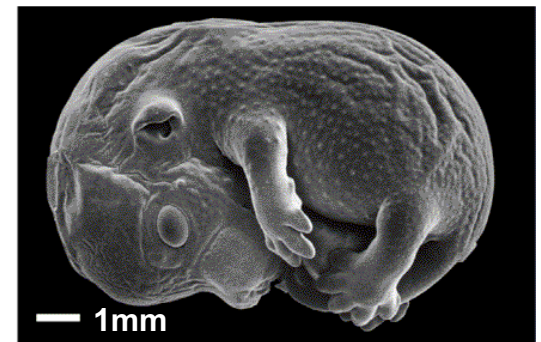
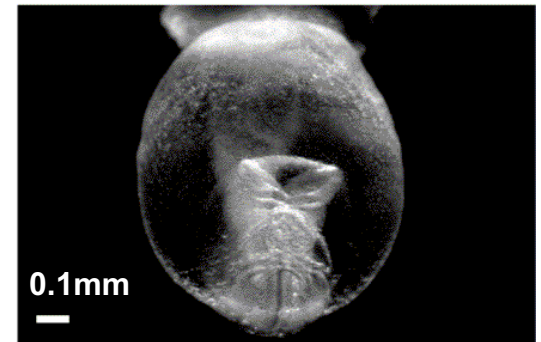
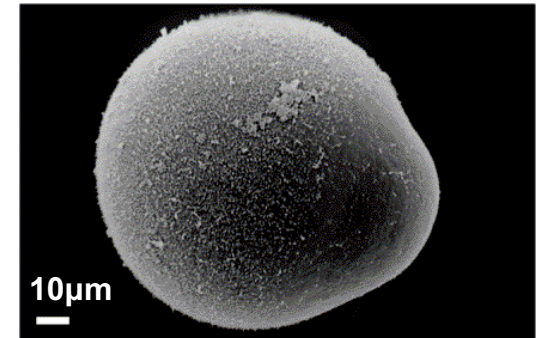
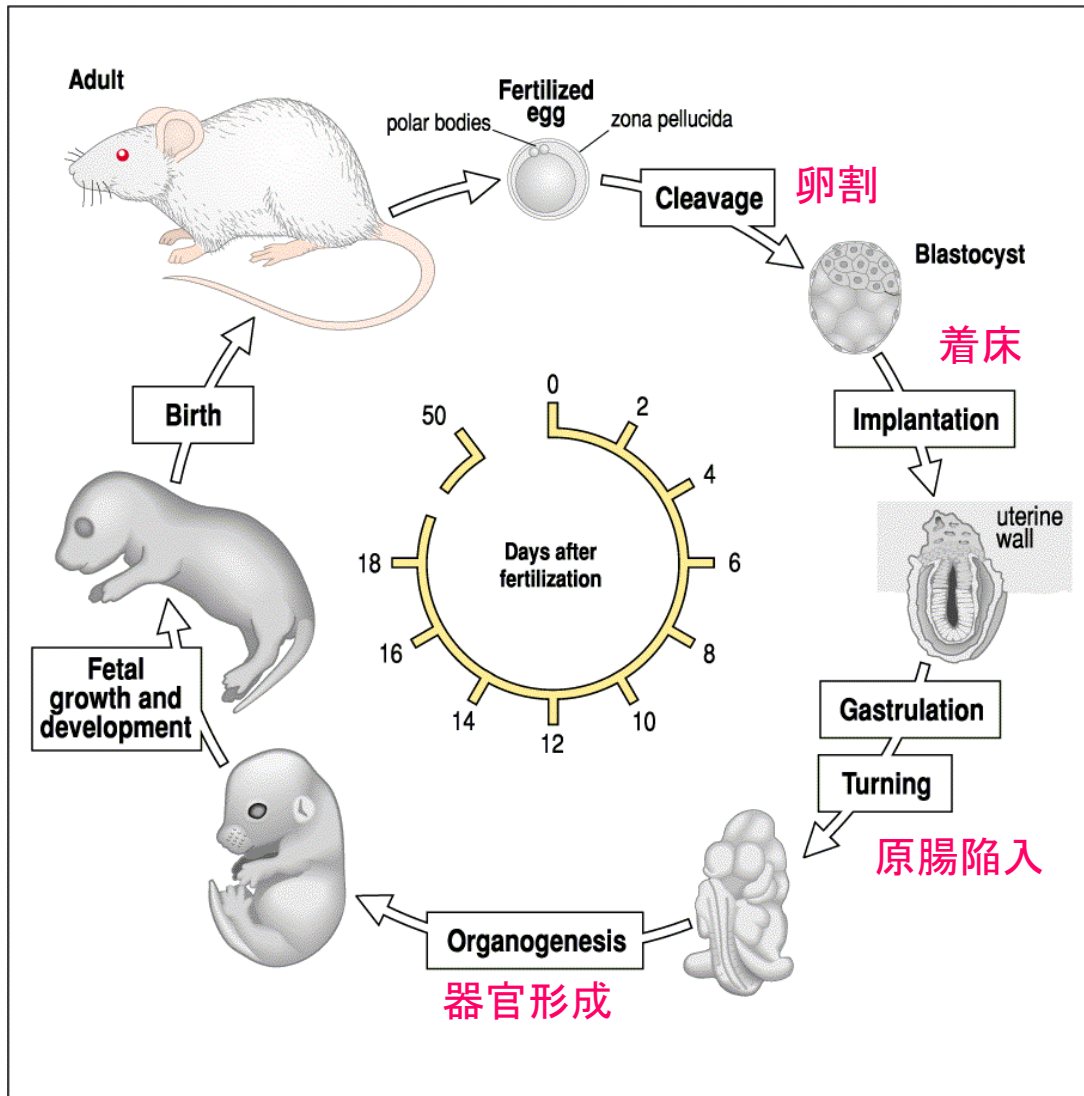
Over expression

Knock-down by siRNA



(東北大学脳科学グローバルCOE HPより)

マウス



マウスの発生の動画↓ (基礎生物学研究所、ビデオギャラリー)
http://www.nibb.ac.jp/about/videogallery/index_2.html

マウス



- 利点

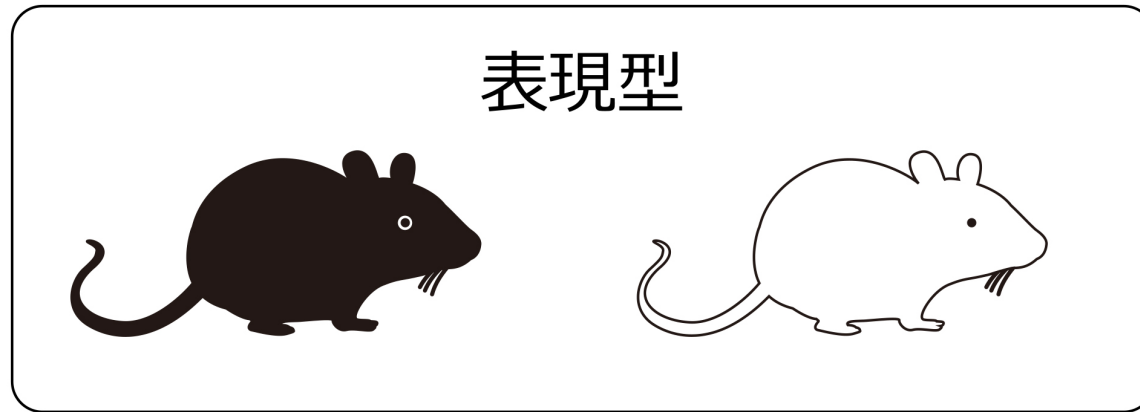
- 遺伝学が発達
- 発生工学が可能
- 組織培養可能
- 系統維持容易（精子凍結保存）

- 欠点

- 高価（SPF施設、床敷交換など）
- 胚発生が子宮内
- 微小手術が困難

ノックアウトマウス
トランスジェニック
マウス作製
今はCRISPR/Cas9で迅速に！

マウスの遺伝学的解析アプローチ



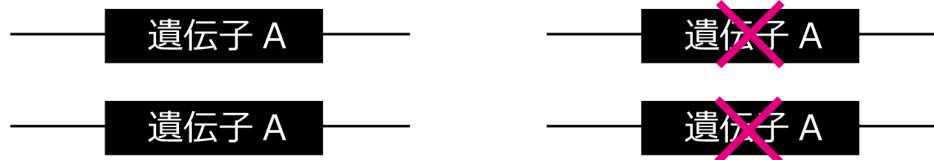
順遺伝学

例) 連鎖解析

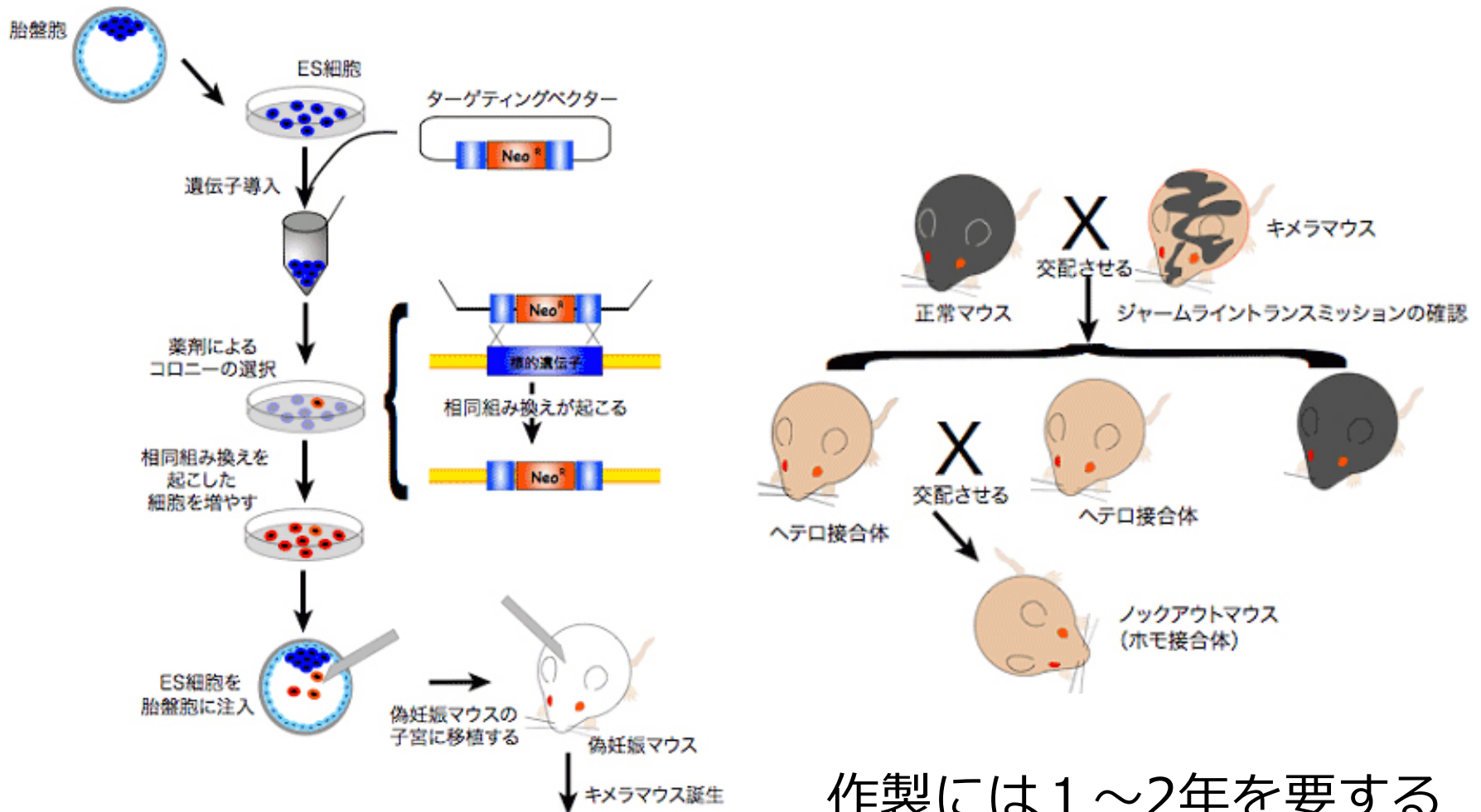
逆遺伝学

例) 遺伝子ノックアウト

遺伝子型

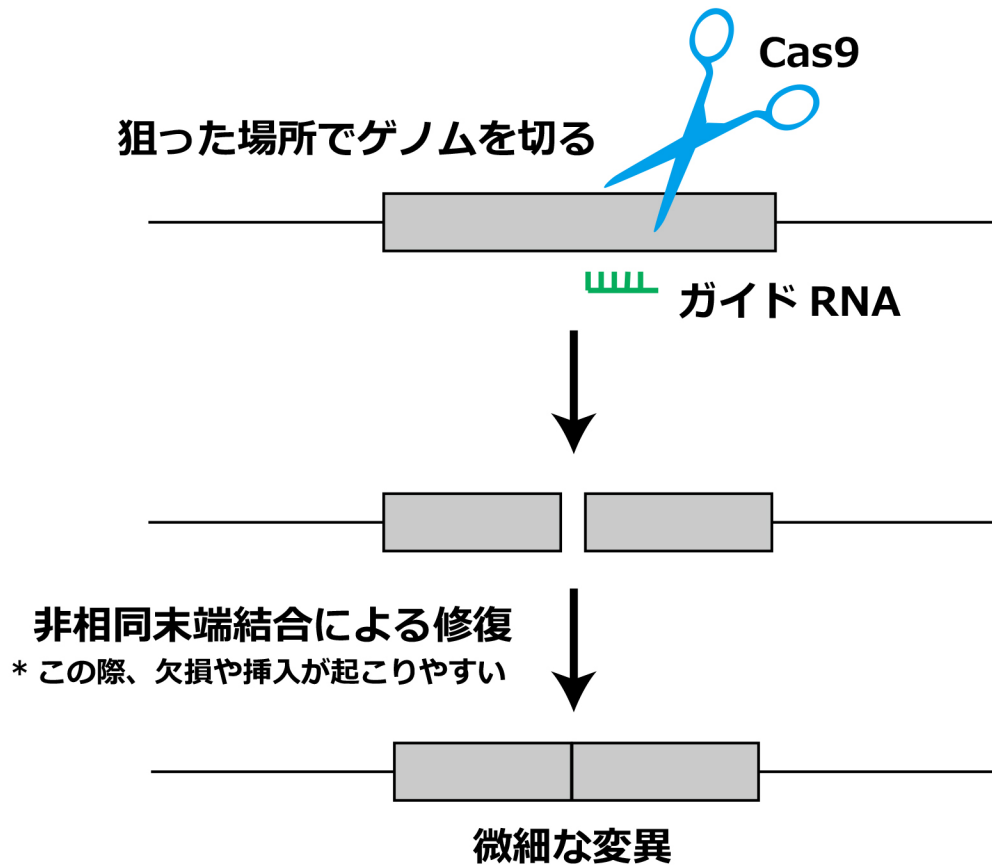


ノックアウトマウスの作製

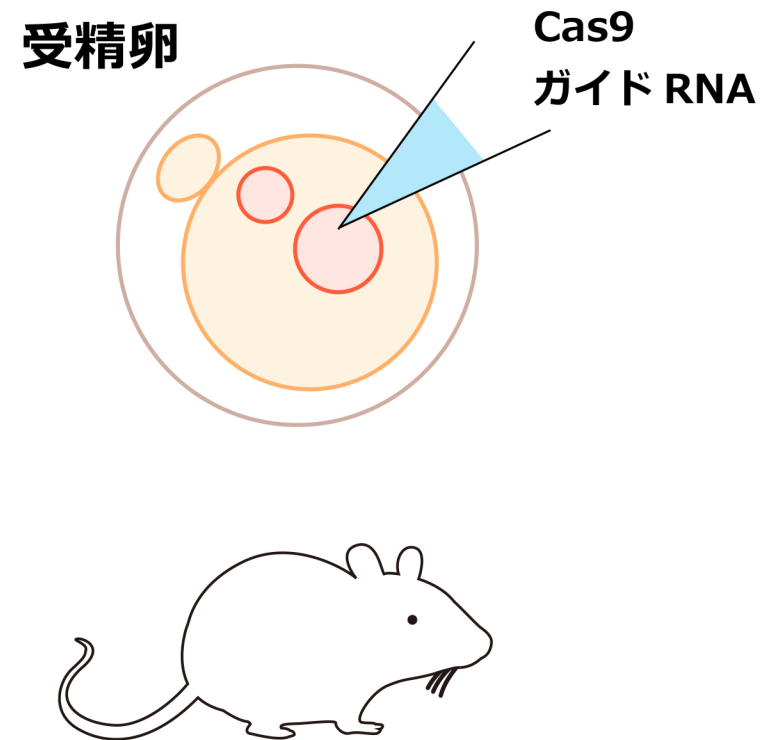


作製には1～2年を要する

ゲノム編集技術 CRISPR-Cas9法



遺伝子の機能の喪失



ゲノム編集技術によるマウス作製は1～2ヶ月程度！



ヒトの胚で
ゲノム編集技術を用いるのは
有り？無し？

その理由は？

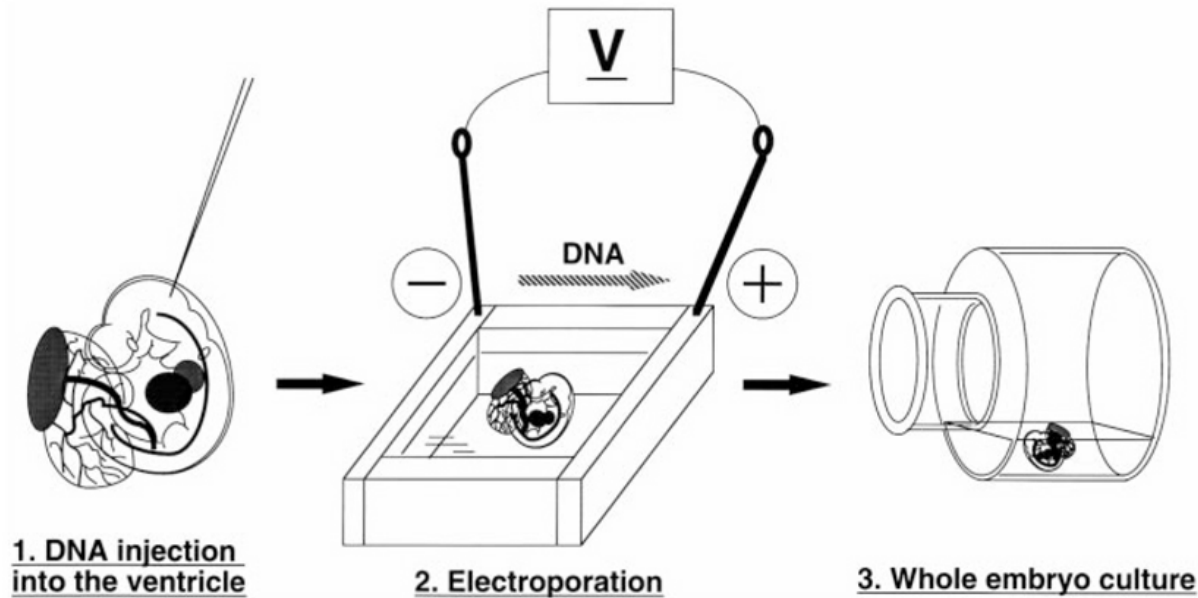
出席カードに意見を書いてみよう！

哺乳類全胚培養法

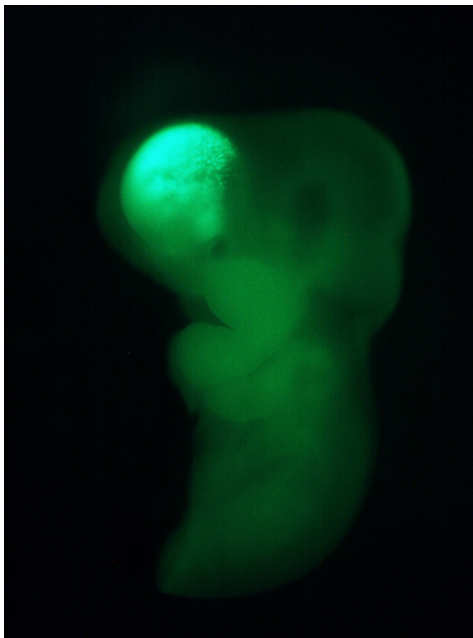


Takahashi & Osumi, J Vis Exp, 2010

哺乳類全胚培養法と電気穿孔法を組み合わせた手法

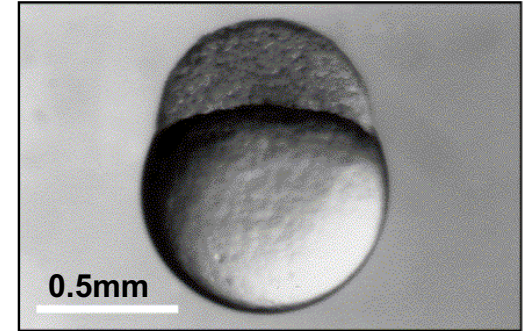
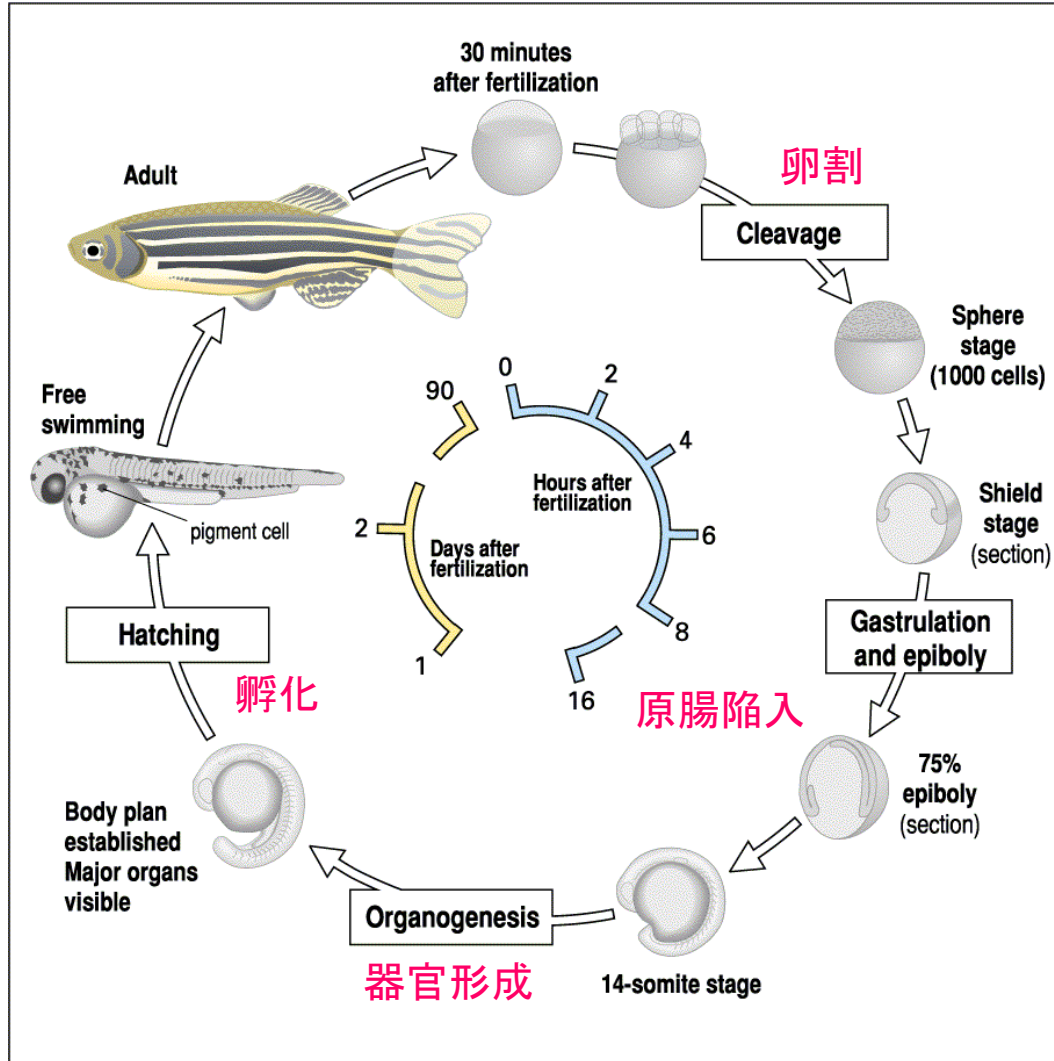


(Osumi and Inoue, 2001)



特定の領域だけに遺伝子を導入することができる！

ゼブラフィッシュ



ゼブラフィッシュの発生の動画↓ (基礎生物学研究所、ビデオギャラリー)
http://www.nibb.ac.jp/about/videogallery/index_2.html

ゼブラフィッシュ



- 利点

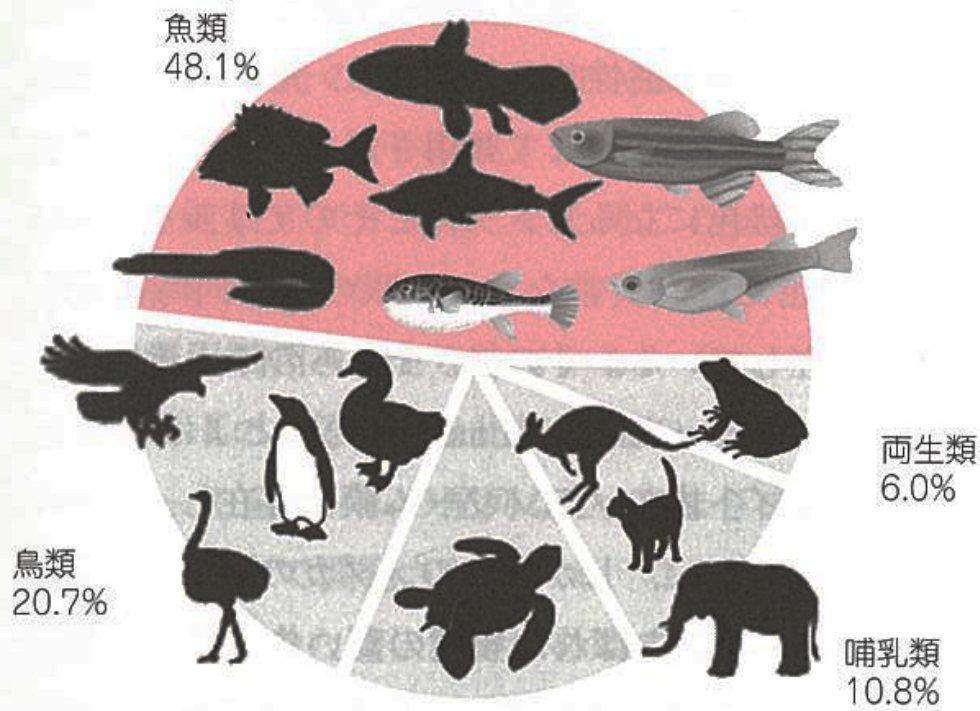
- 遺伝学が発達
- 胚が透明
- 細胞数少ない
- 微小手術可能

- 欠点

- 特殊施設（水槽、定温室）
- 系統維持困難

遺伝子強制発現
アンチセンス法

ゼブラフィッシュのモデル動物としての重要性



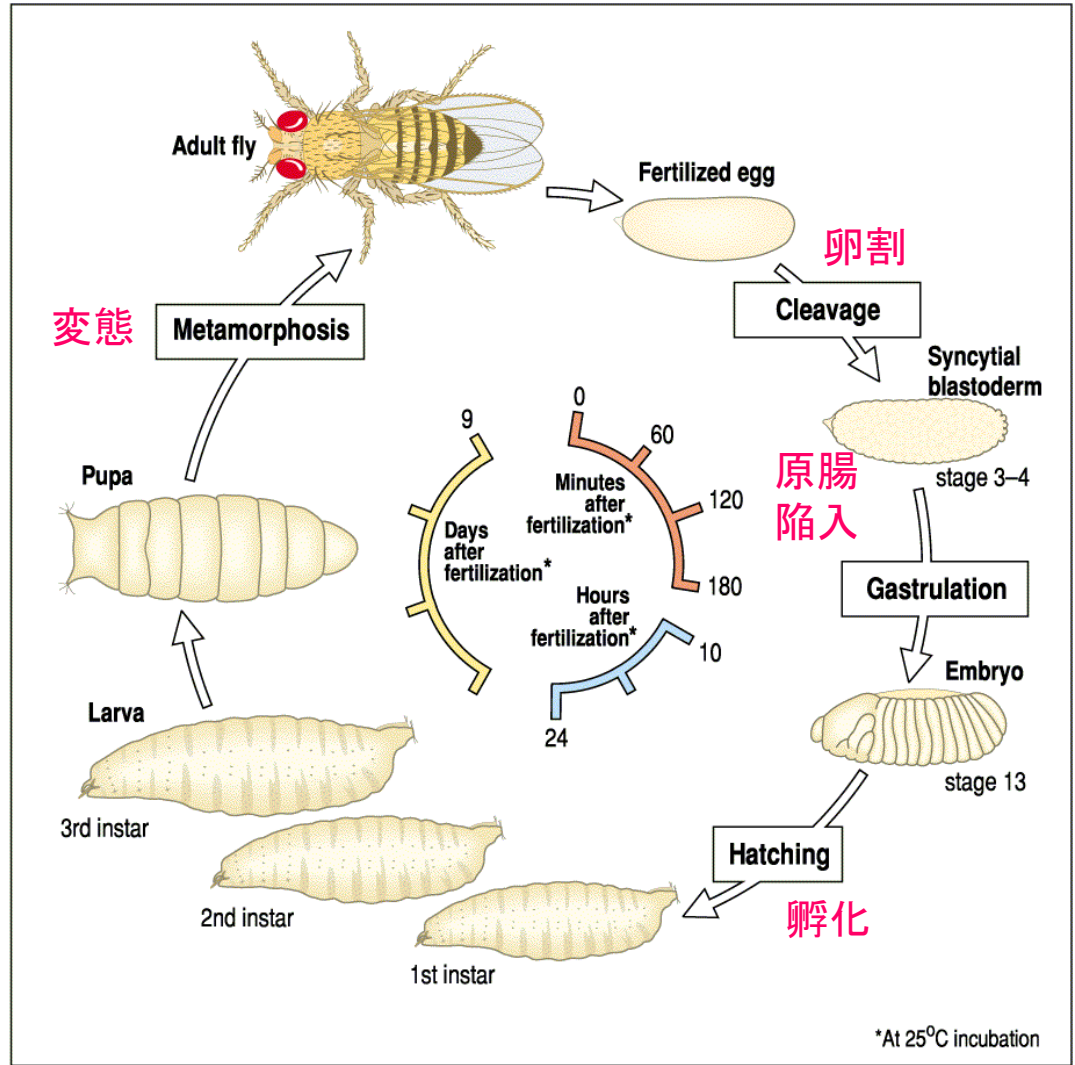
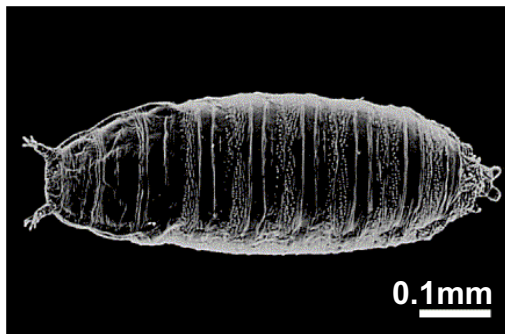
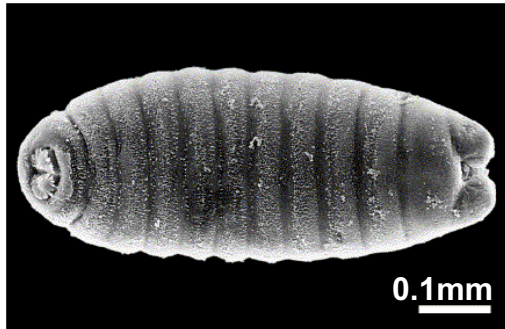
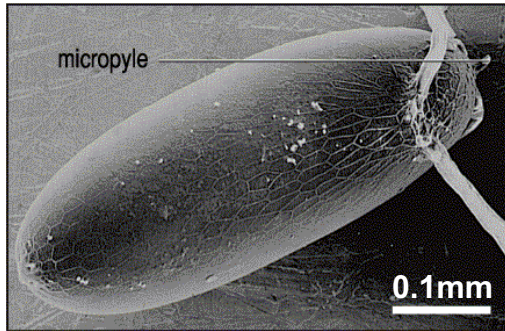
(研究をささえるモデル生物 4章)

脊椎動物 約40,000種
その48.1% 約19,000種が魚類

魚類と哺乳類の類似性

神経系 (眼や脳)
循環器系 (心臓や血管)
感覚器系 (聴覚や嗅覚)
免疫系 (生体防御)

ショウジョウバエ



ショウジョウバエの発生の動画↓ (基礎生物学研究所、ビデオギャラリー)
http://www.nibb.ac.jp/about/videogallery/index_2.html

ショウジョウバエ

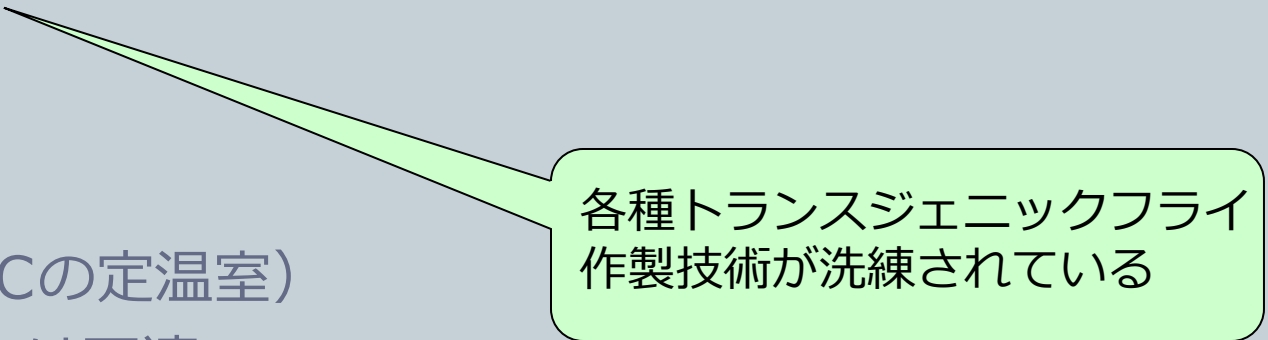


- 利点

- 遺伝学が発達
- 発生工学可能
- 細胞数少ない

- 欠点

- 特殊設備（25℃の定温室）
- 生化学的実験には不適



各種トランスジェニックフライ
作製技術が洗練されている



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1995

Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard, Eric F. Wieschaus

Share this: [f](#) [g+](#) [t](#) [+](#) [2](#) [e](#)

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1995



Edward B. Lewis
Prize share: 1/3



Christiane Nüsslein-Volhard
Prize share: 1/3



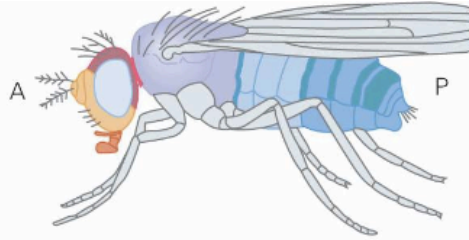
Eric F. Wieschaus
Prize share: 1/3

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1995 was awarded jointly to Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard and Eric F. Wieschaus *"for their discoveries concerning the genetic control of early embryonic development"*.

身体の前後軸に沿ったパターン化

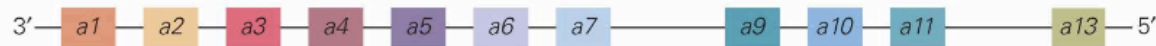


Drosophila

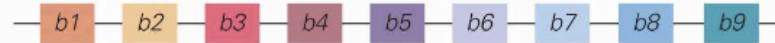


Mouse

Hoxa, chromosome 6



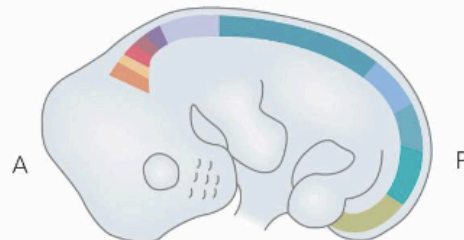
Hoxb, chromosome 11



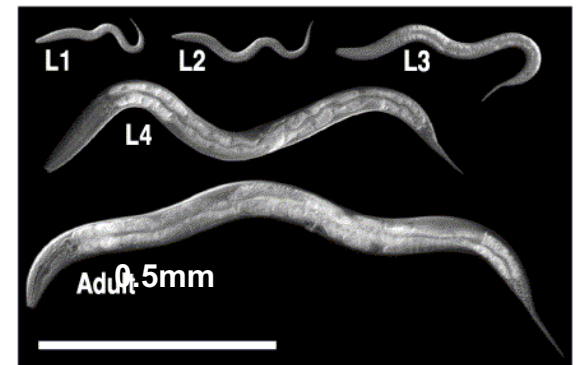
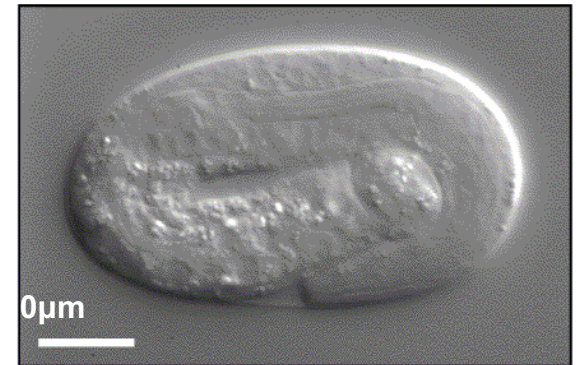
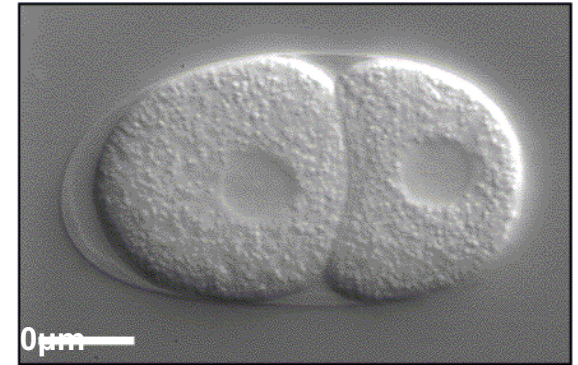
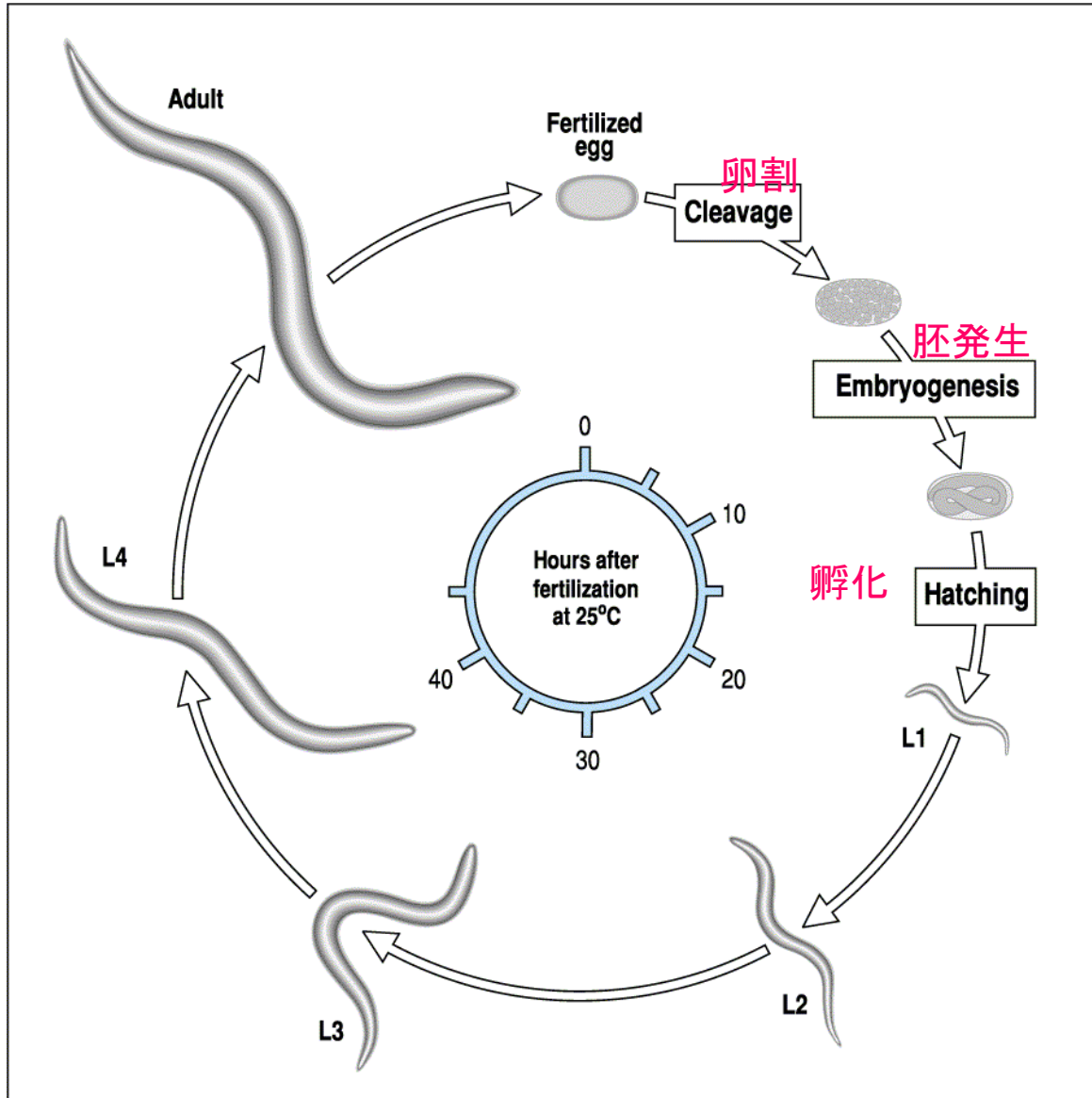
Hoxc, chromosome 15



Hoxd, chromosome 2



線虫



線虫の発生の動画↓ (東北大学生命科学研究科 杉本亜砂子 先生)
http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/sugimoto_lab/gallery.html

線虫



● 利点

- 遺伝学が発達
- 発生工学可能
- 飼育容易かつ安価
- 胚が透明
- 細胞数少ない

RNAiによる
簡易ノックアウト

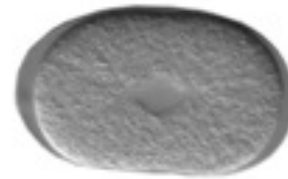
観察容易

● 欠点

- 生化学的実験には不適

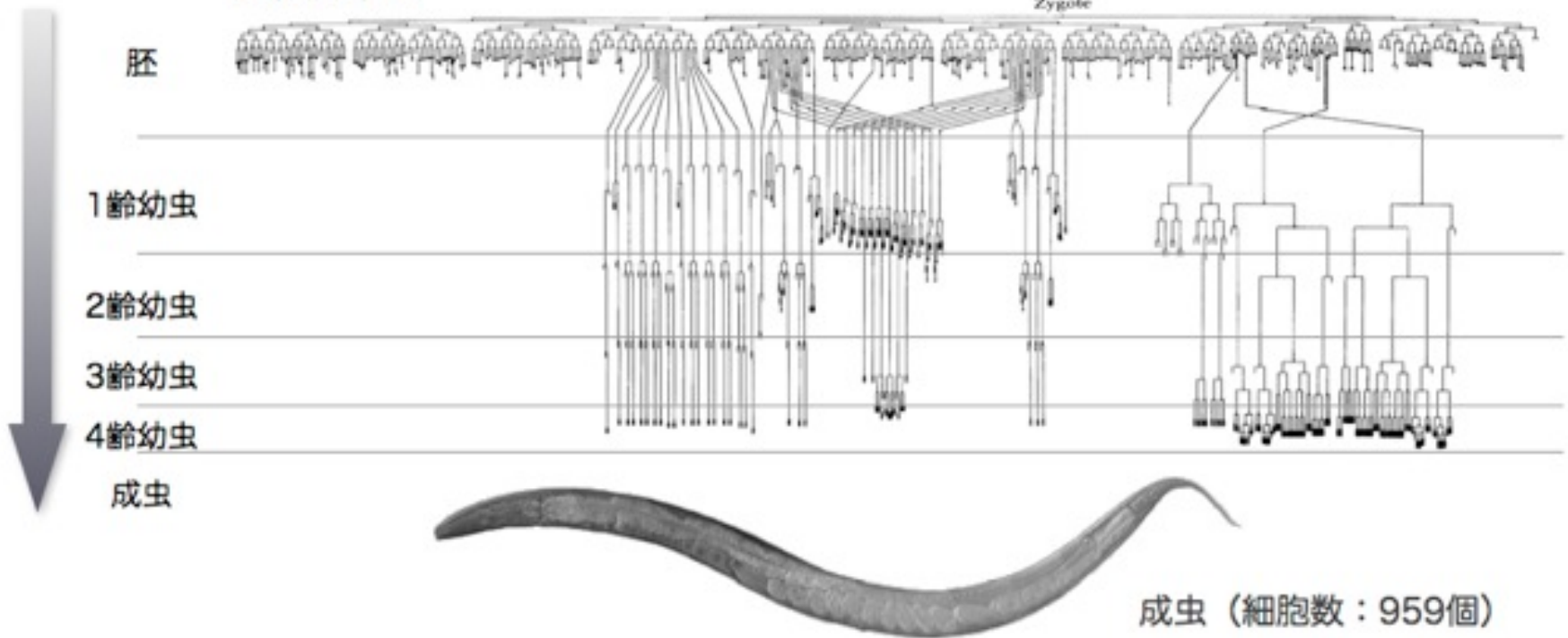
細胞系譜が完全

線虫の細胞系譜



受精卵

全細胞系譜



講義予定



- 5/29(1) : ガイダンス、序章
- 5/29(2) : 第1章 (配偶子形成・受精・発生第1週)
- 5/29(3) : 第2章 (発生第2週 : 二胚葉)
- 6/5(4) : 第3章 (三胚葉～軸形成)
- 6/5(5) : 第4章 (神経管形成・神経堤細胞)
- 6/5(6) : 第5章 (形態形成・動物モデル)
- 6/12(7) : 第6章 (胎盤・羊水)
- 6/12(8) : 第7章 (皮膚・皮膚付属器)
- 6/12(9) : 特別講義「先天異常」 (安田先生)