

2019年6月24日

医学部発生学(7): 形態形成メカニズム～動物モデル



東北大学副学長・附属図書館長
医学系研究科附属創生応用医学研究センター長
脳神経科学コアセンター長
発生発達神経科学分野教授
大隅典子



Center for
Neuroscience,
ART



TOHOKU
UNIVERSITY

講義予定

※木村助教担当
※吉川助教担当



- 6/17(1) : ガイダンス、序章
- 6/17(2) : 第1章 (配偶子形成・受精・発生第1週)
- 6/17(3) : 第2章 (発生第2週 : 二胚葉)
- 6/19(4) : 第3章 (三胚葉～軸形成)
- 6/19(5) : 第4章 (神経管形成・神経堤細胞)
- 6/19(6) : 特別講義 : 先天異常 (安田峯生先生)
- 6/24(7) : 第5章 (動物モデル)
- 6/24(8) : 第5章 (形態形成メカニズム)
- 6/24(9) : 第6章 (胎盤・羊水)
第7章 (皮膚・皮膚付属器)

卵割 cleavage

板書も注意！



- 卵割 cleavage : 発生1~2日
 - 細胞は小さくなっていく
- 桑実胚 molura : 発生3~4日
 - その後、コンパクション compaction が生じる
- 胚盤胞 blastocyst : 発生5~8日
 - 外側 : 栄養膜 trophoblast
 - 内側 : 内部細胞塊 inner cell mass (ICM) = 胚芽 embryoblast
 - 胚盤胞腔 blastocyst cavity
 - 着床

発生第2週：二胚葉期



- 内部細胞塊が二層性 2-layered に変わる
 - 上胚盤葉 epiblast
 - 下胚盤葉 hypoblast
 - 羊膜腔 amniotic cavity
 - 胚盤胞腔 blastocyst cavity
- 卵黄嚢 yolk sac 形成
 - 下胚盤葉から胚盤胞腔への細胞移動による一次卵黄嚢と二次卵黄嚢
- 胚体外中胚葉 extraembryonic mesoderm
 - 胚体外体腔 extraembryonic coelom
- 絨毛膜 chorion
- 栄養膜から胎盤 placenta 形成へ
 - 栄養膜細胞層 cytotrophoblast
 - 栄養膜合胞体層 syncytiotrophoblast

発生第3週：三胚葉形成



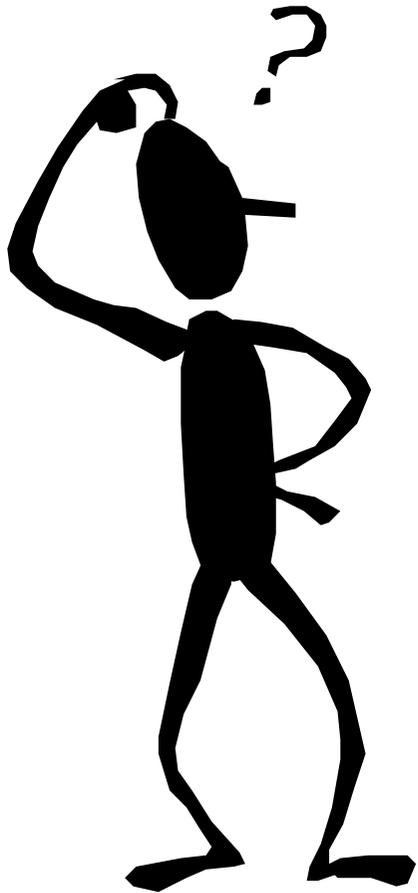
- 原腸形成 gastrulation
 - 原始線条 primitive streak
 - 原始結節 primitive node
 - 原始窩 primitive pit
- 三胚葉
 - 外胚葉 ectoderm
 - 中胚葉 mesoderm
 - 内胚葉 endoderm
- 軸形成
 - 前後軸 anterior-posterior axis
 - 背腹軸 dorsoventral axis
 - 左右軸 left-right axis

発生第4週：神経管形成と体節形成



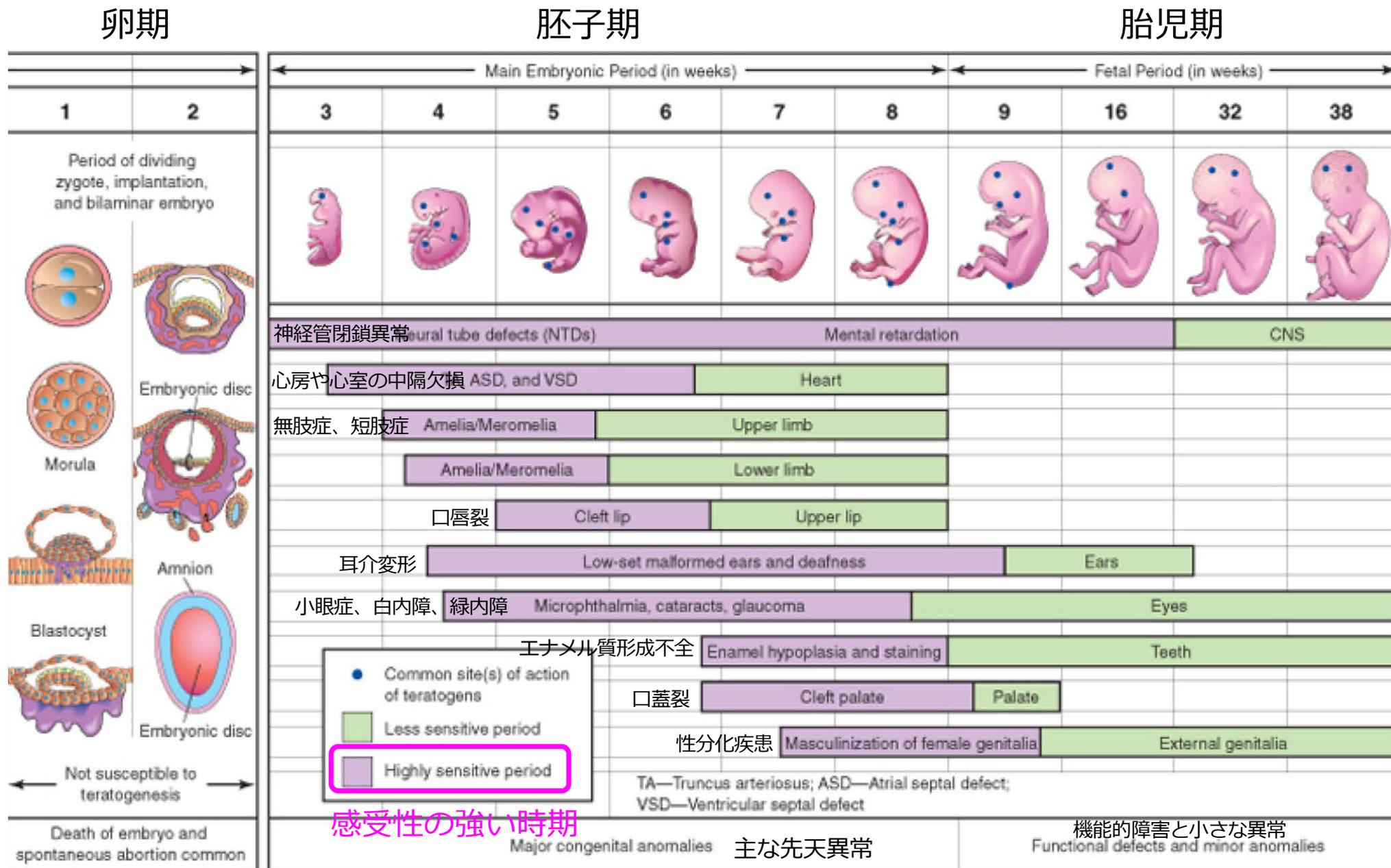
- 外胚葉より
 - 神経誘導 neural induction
 - 神経管形成 neurulation
 - ✦ 神経板が巻き上がって神経管になる
 - ✦ 神経堤細胞 neural crest cells
- 中胚葉より
 - 脊索 notochord
 - 体節形成 somitogenesis
- 内胚葉より
 - 前腸 foregut
 - 中腸 midgut
 - 後腸 hindgut

発生に影響を与える要因は？



- 環境要因
- 遺伝的要因

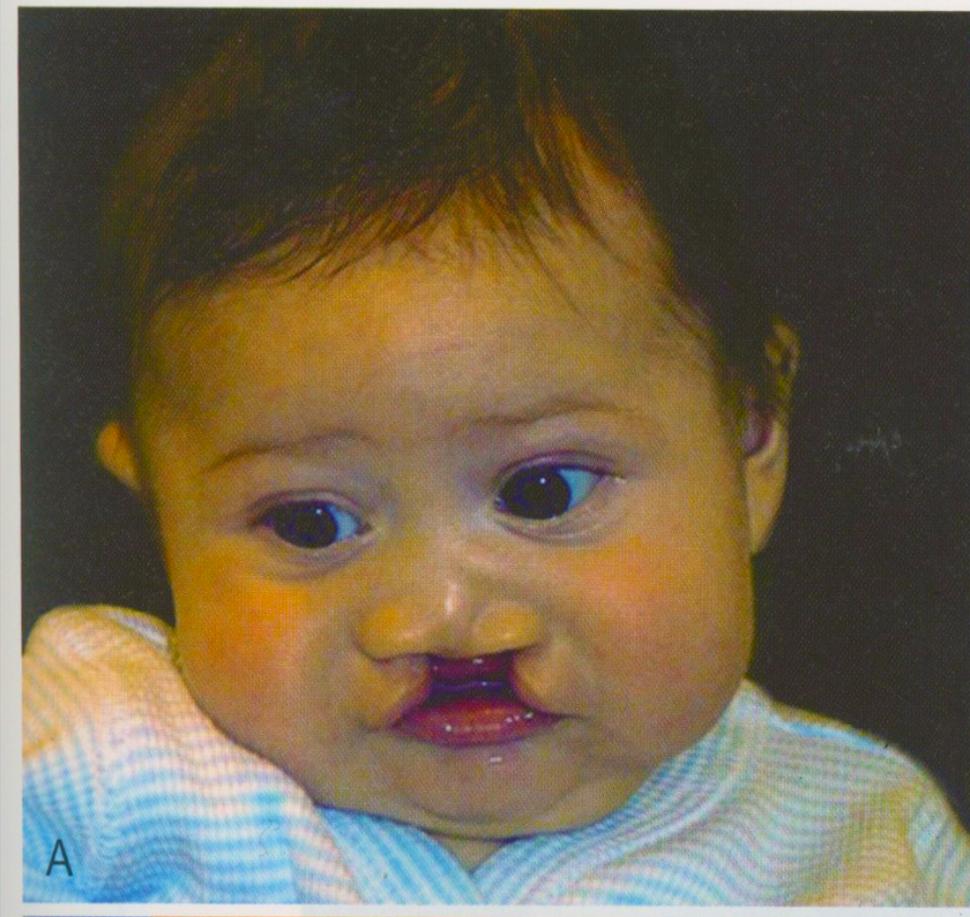
妊娠週数と催奇形因子が作用しやすい期間



この時期の奇形は致死となる

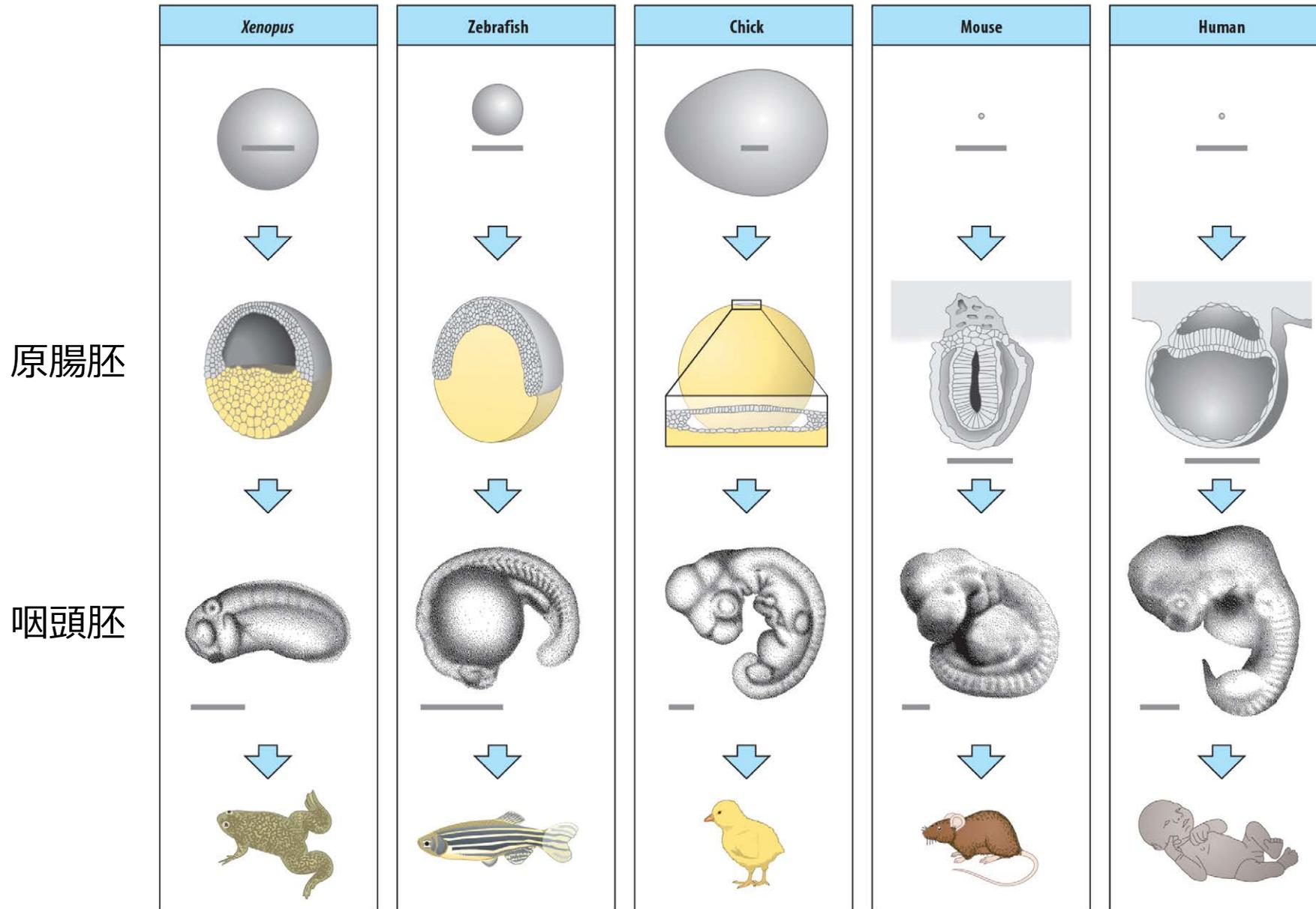
遺伝子の異常による症状

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



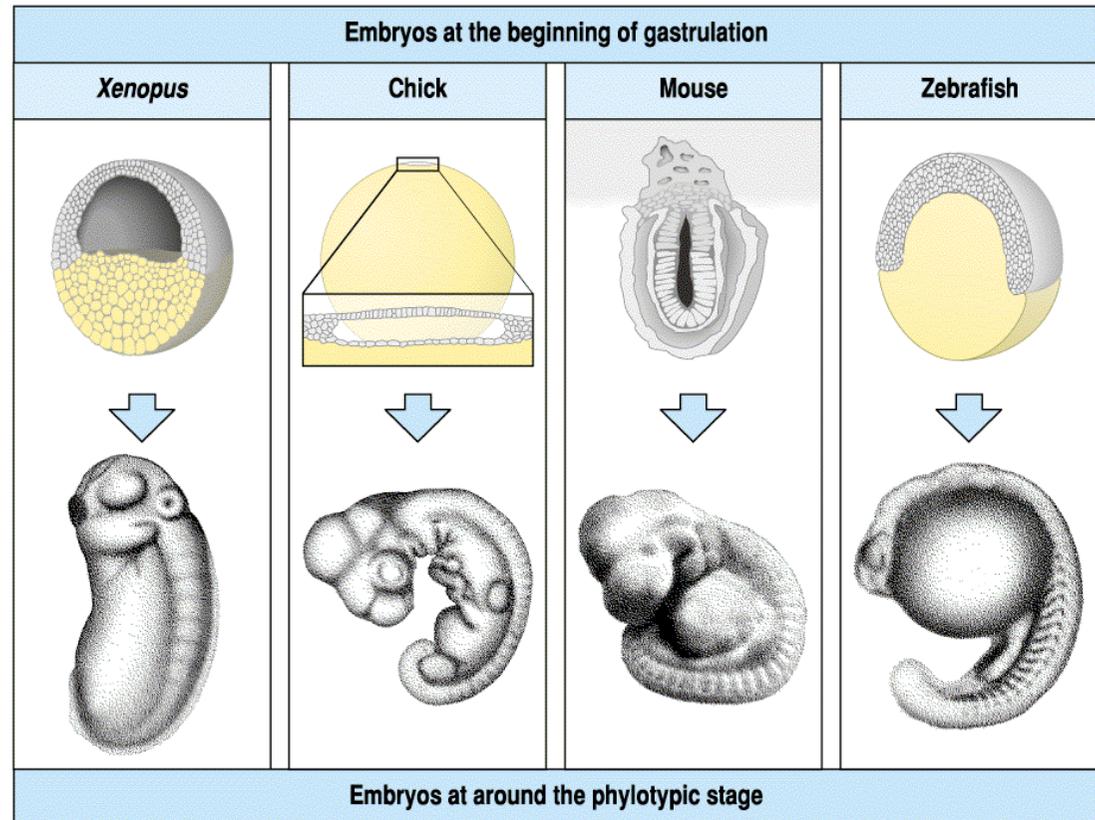
ファイロティピックな発生段階

- 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



*Pax6*変異による共通した眼の表現型



ショウジョウバエ
eyeless



*Pax6*変異ヘテロ接合ラット



*Pax6*変異ヘテロ接合ヒト
(無虹彩症)

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

脊椎動物



無脊椎動物



ショウジョウバエ



線虫

アフリカツメガエルの発生

基礎生物学研究所制作
モデル生物の世界

アフリカツメガエル
学名：*Xenopus laevis*

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

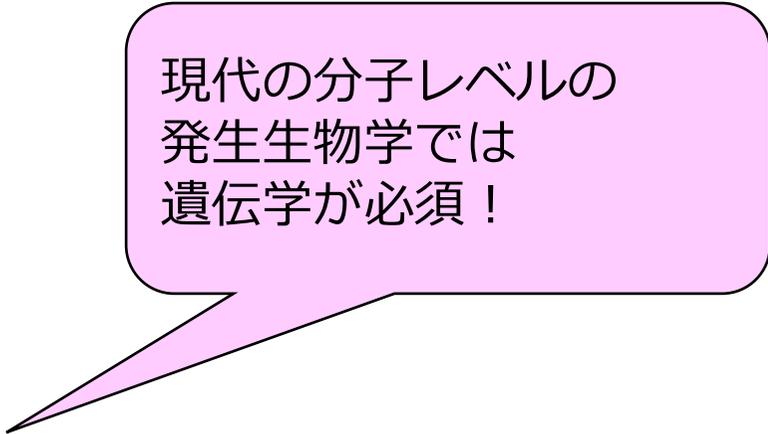
アフリカツメガエルの利点

• 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.



Cell 126, 663-676, 2006

Cell

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

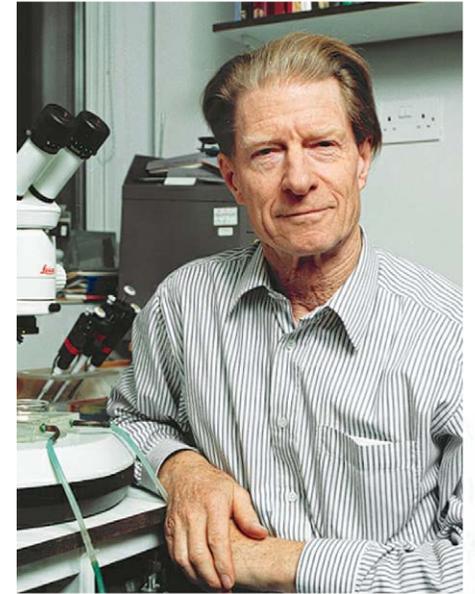
Kazutoshi Takahashi¹ and Shinya Yamanaka^{1,2,*}

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

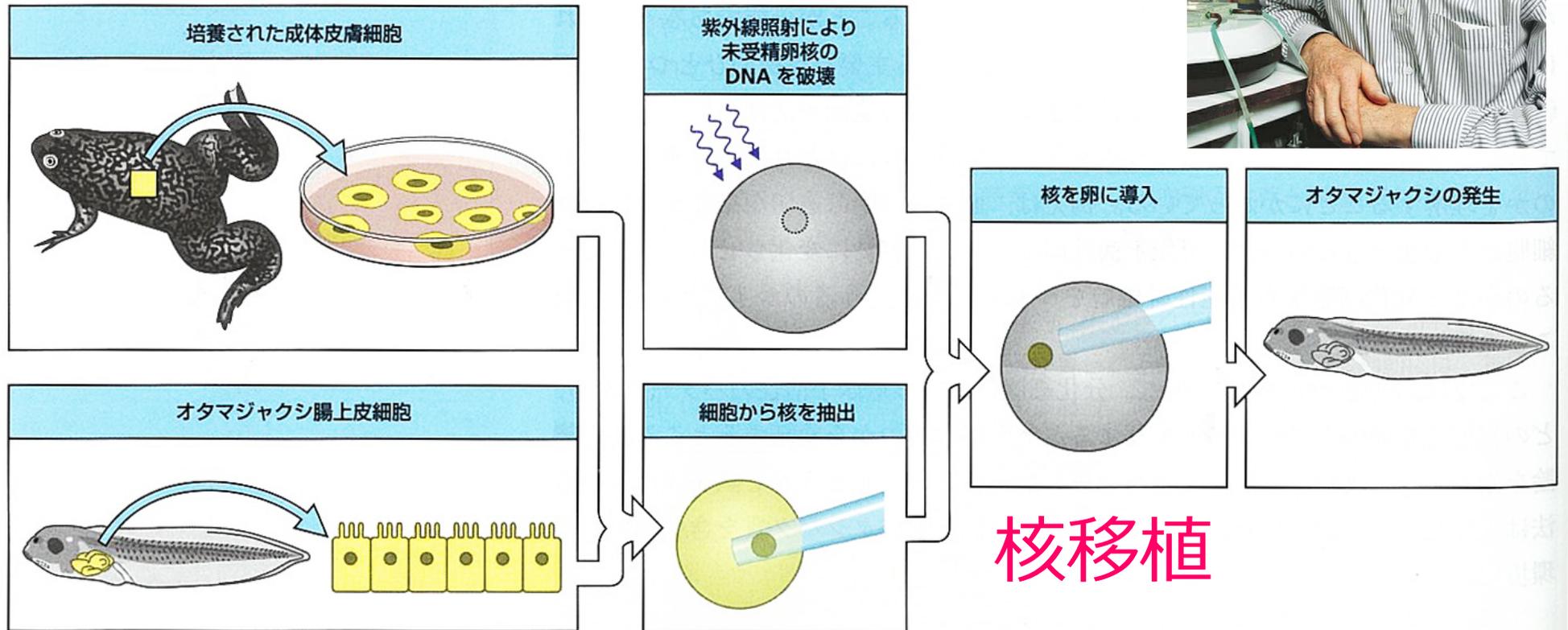
²CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi 332-0012, Japan

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

DOI 10.1016/j.cell.2006.07.024



ガードンの実験



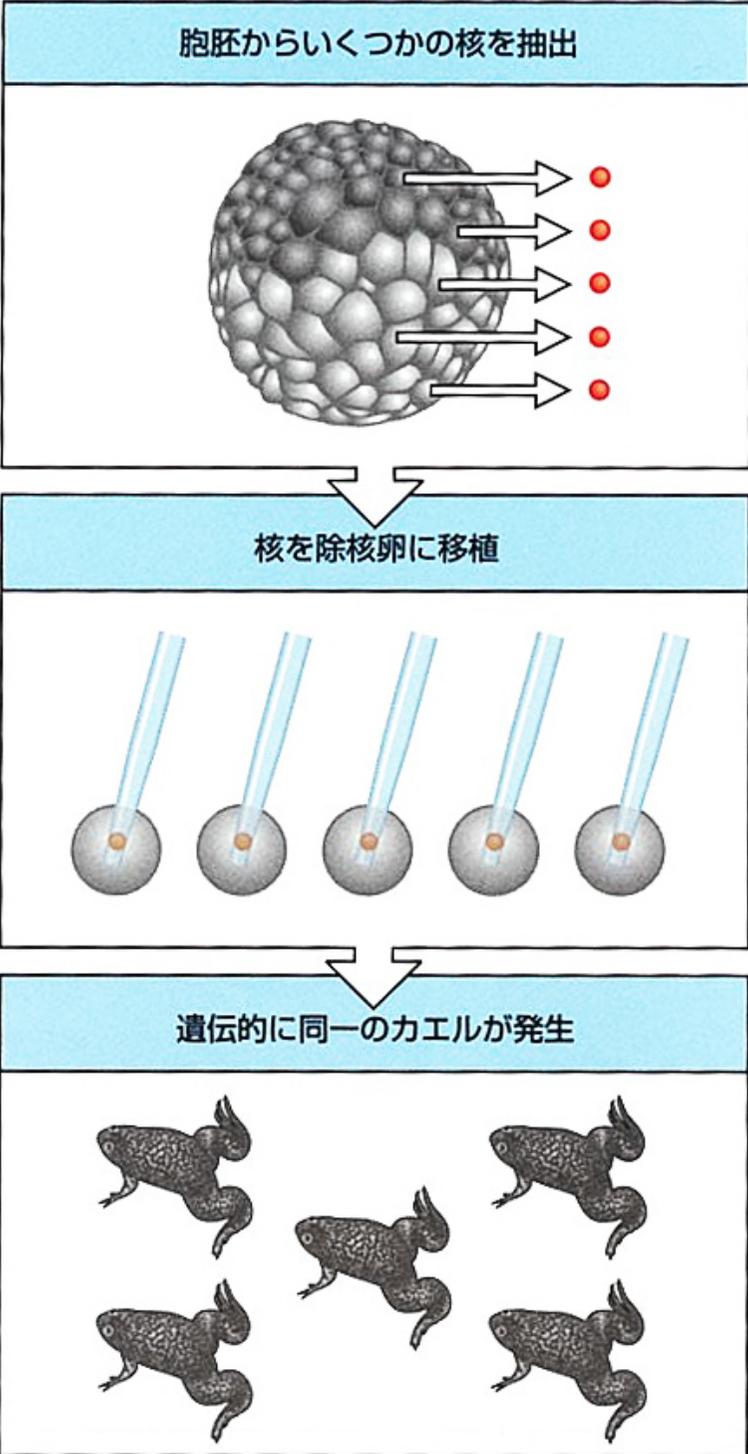
核の中に**遺伝情報**の元がある！

クローンカエル

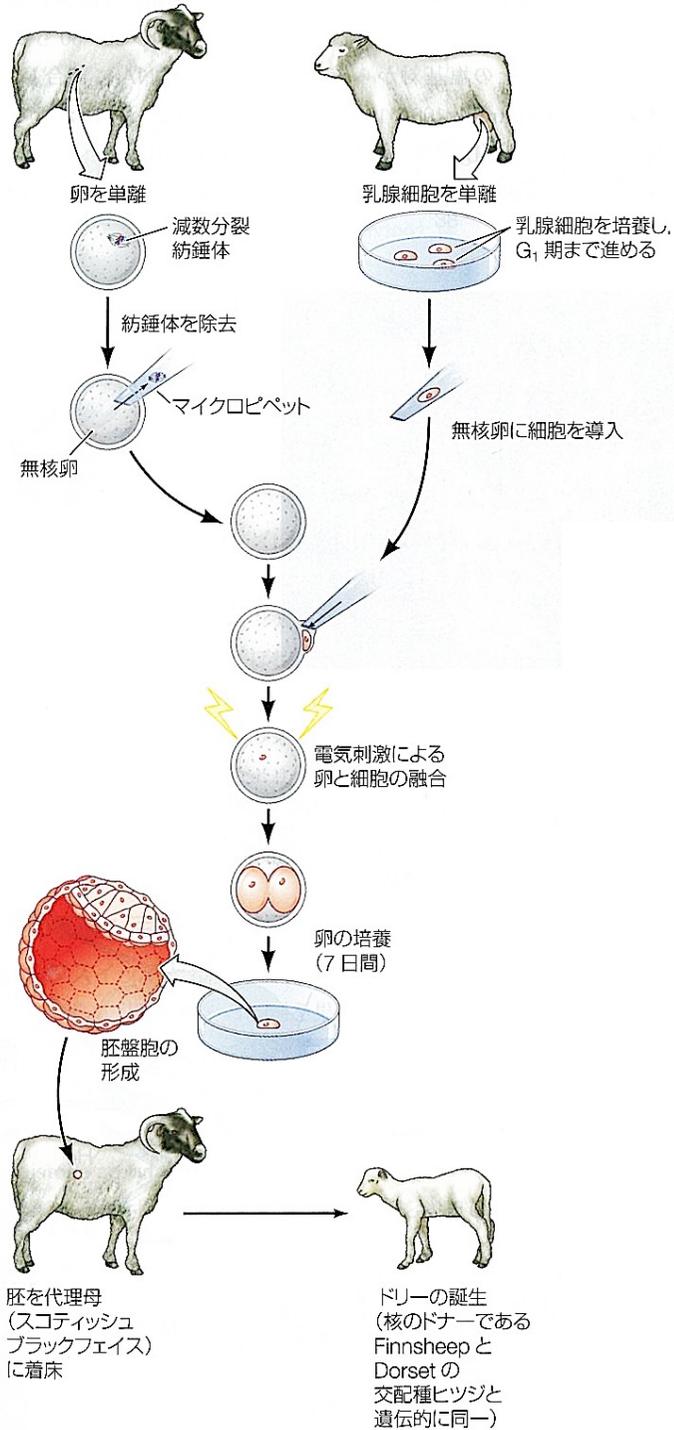
胞胚

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



(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)

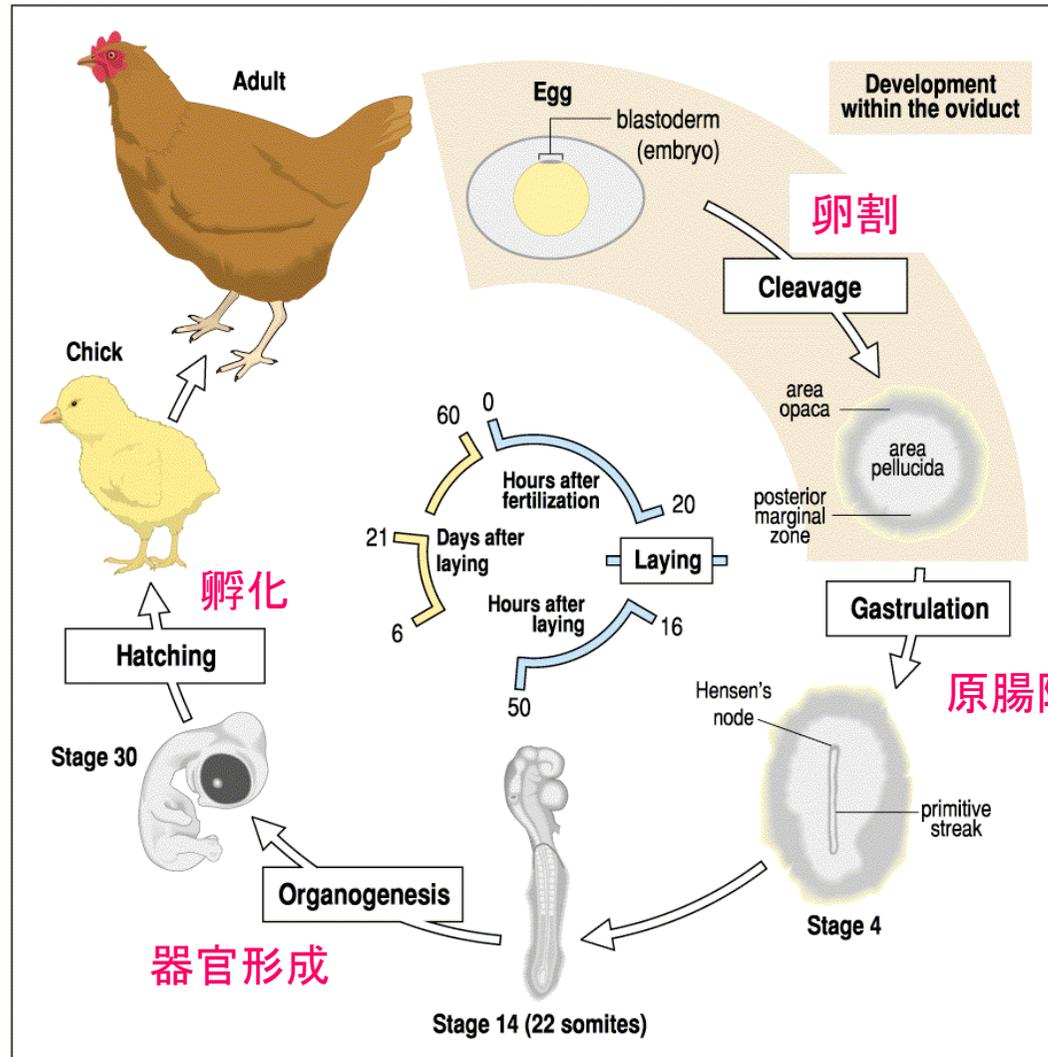
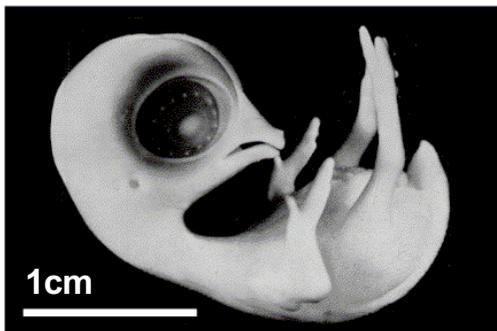
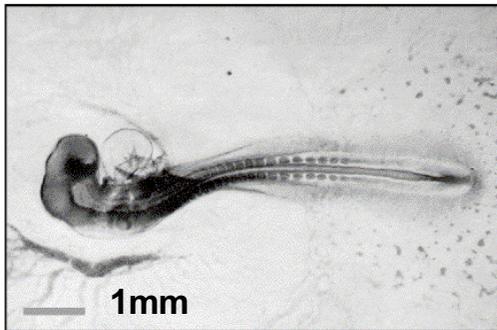
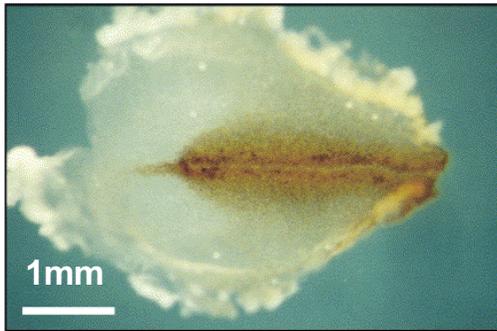


核移植による クローン羊ドリ

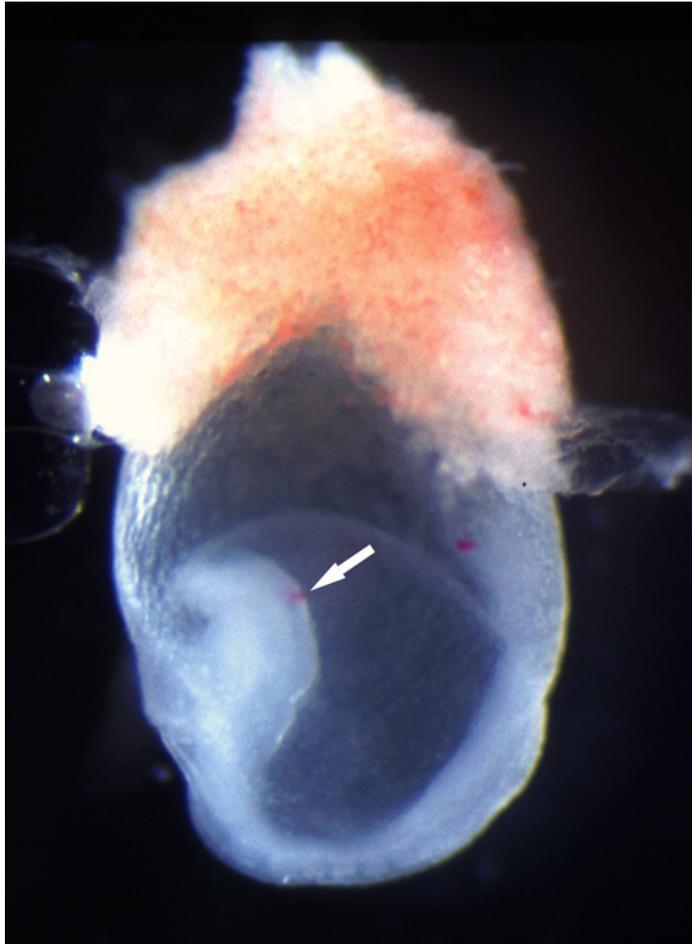


(Wilmut, I. et al., *Nature* **385**, 810-813, 1997)

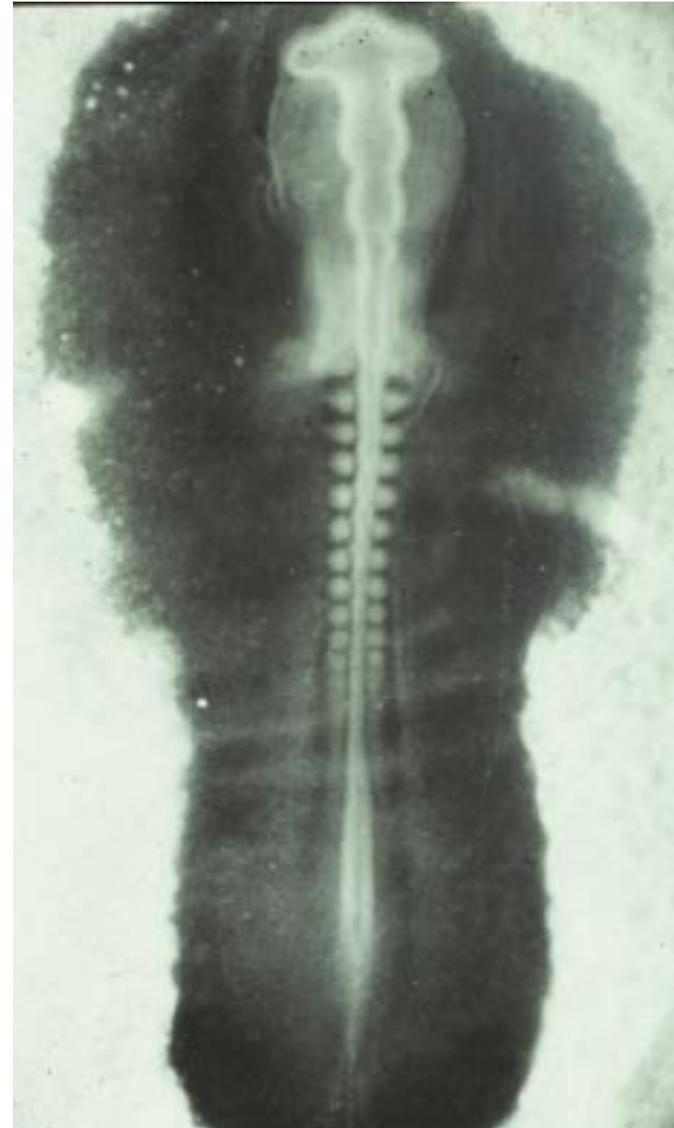
ニワトリ



マウス胚



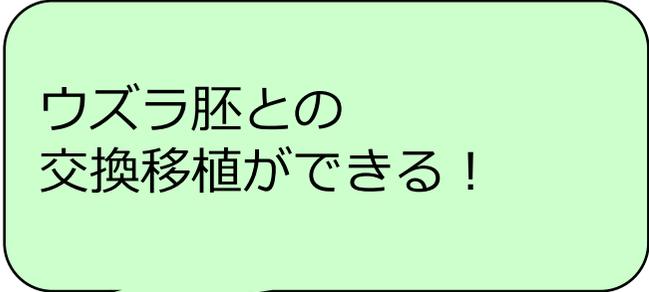
ニワトリ胚



ニワトリの利点

• 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

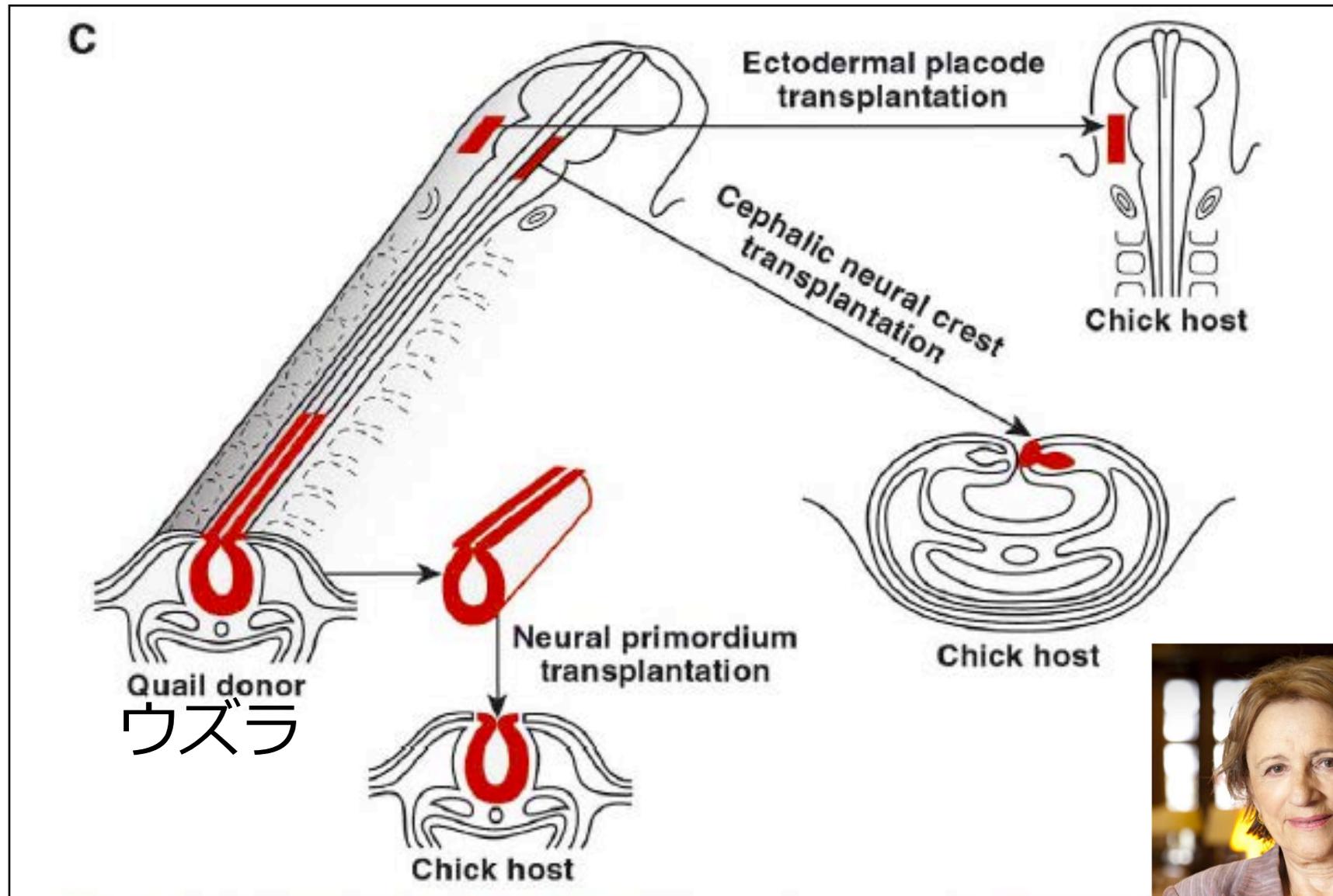


ウズラ胚との
交換移植ができる！

• 欠点

- 遺伝学がほとんど無い

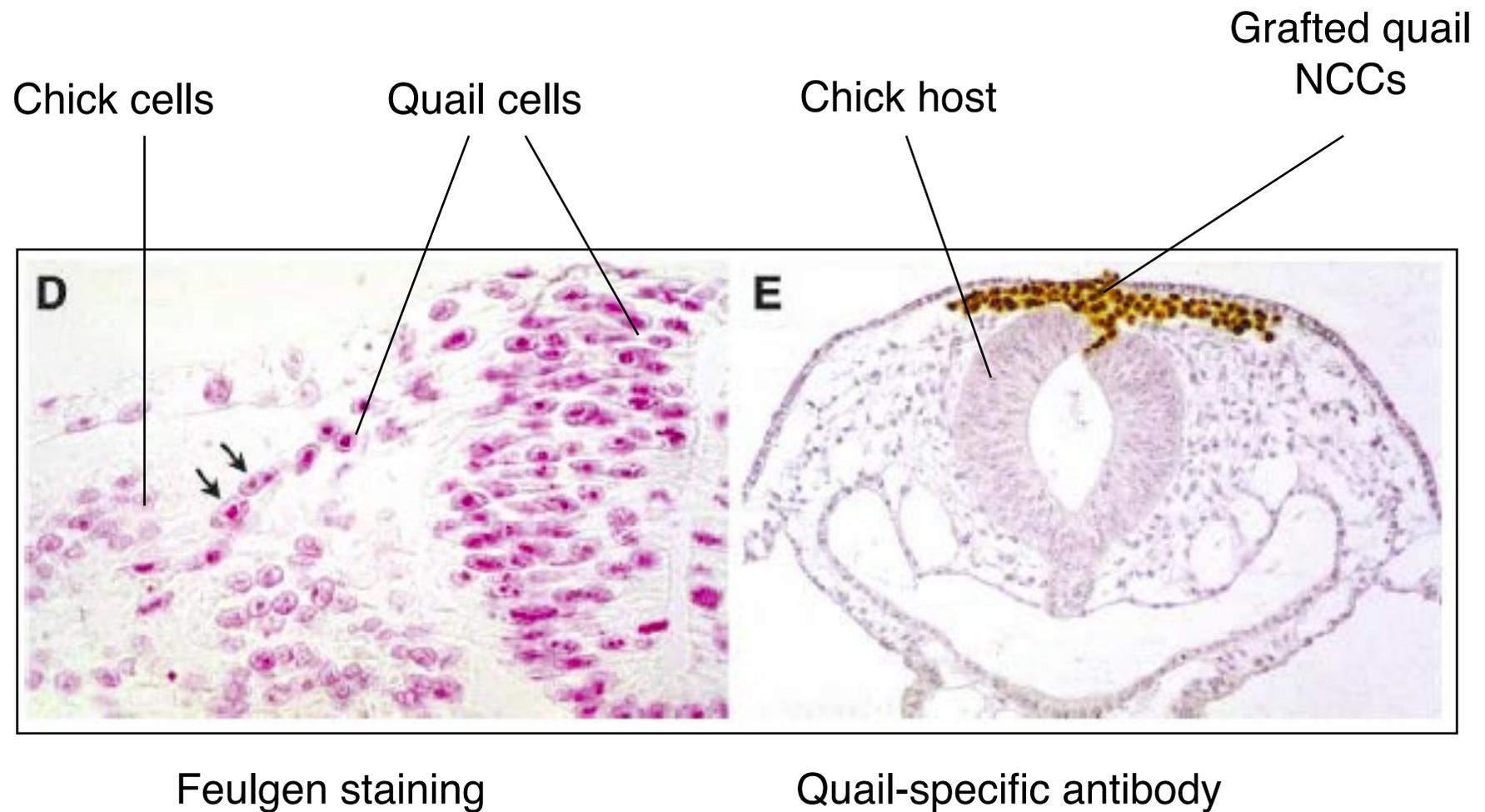
神経堤の移植



Le Douarin, Mech Dev, 2004



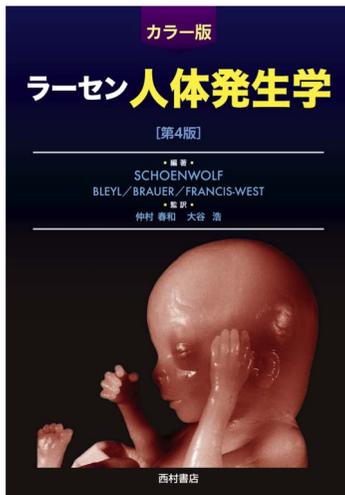
移植されたウズラ由来の神経堤細胞



ニワトリ胚への遺伝子導入



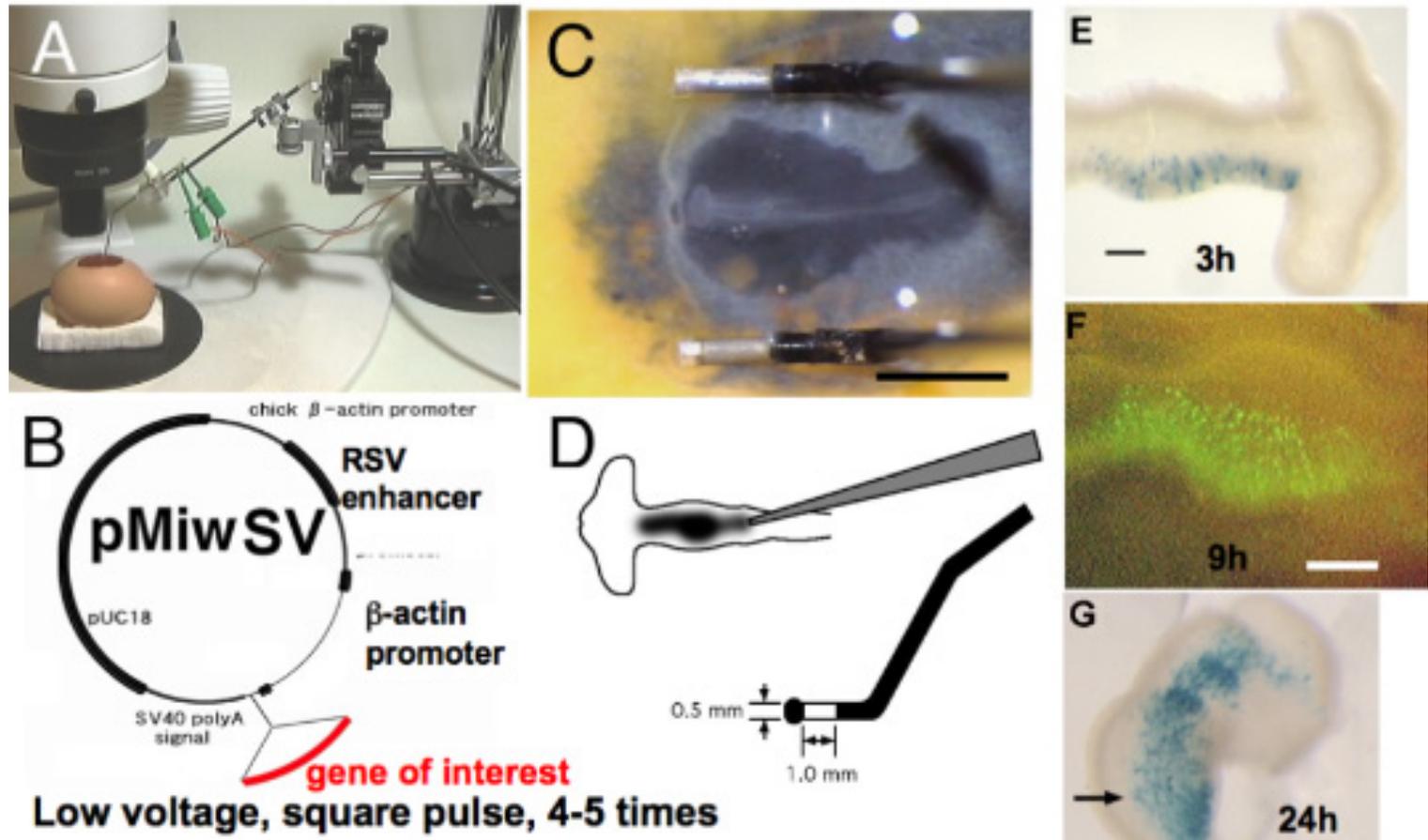
仲村春和 先生



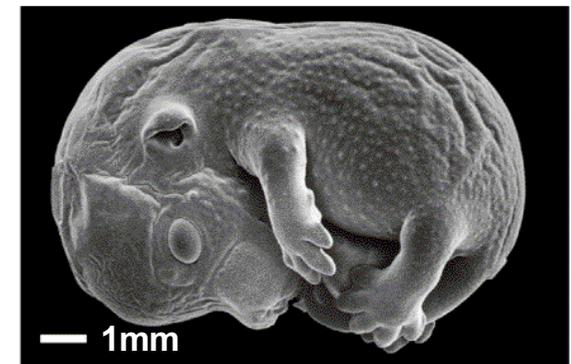
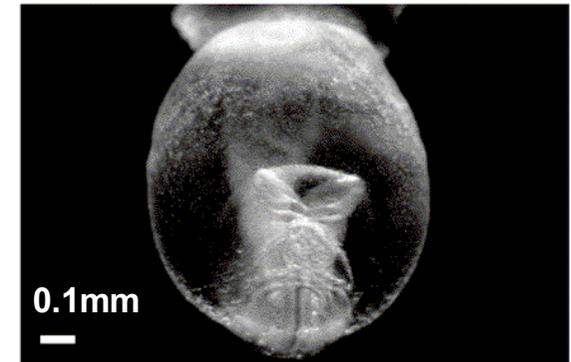
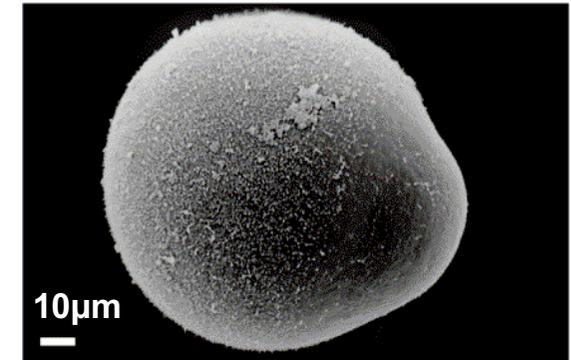
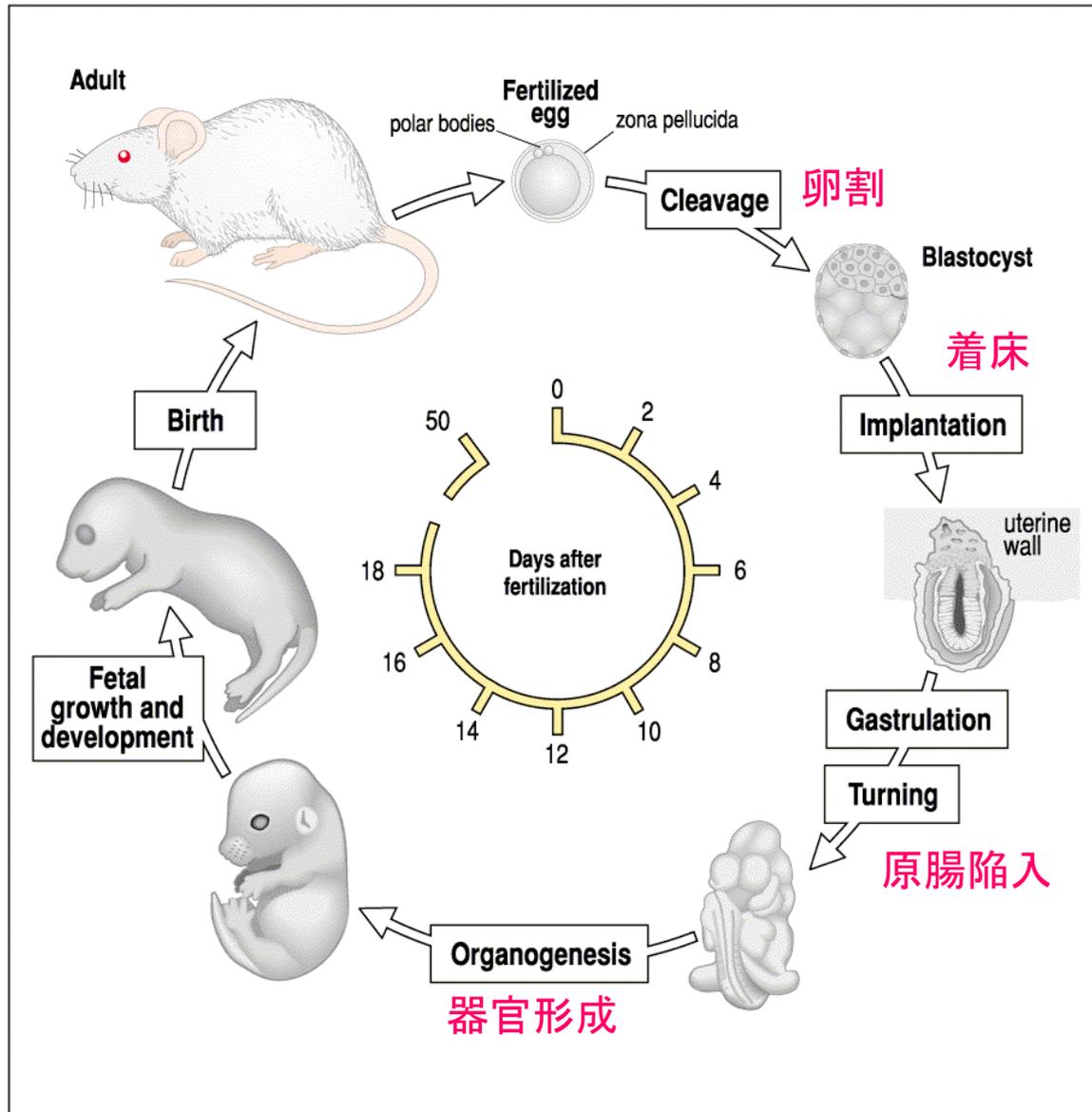
IN OVO ELECTROPORATION

Over expression

Knock-down by siRNA



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

マウスの利点

• 利点

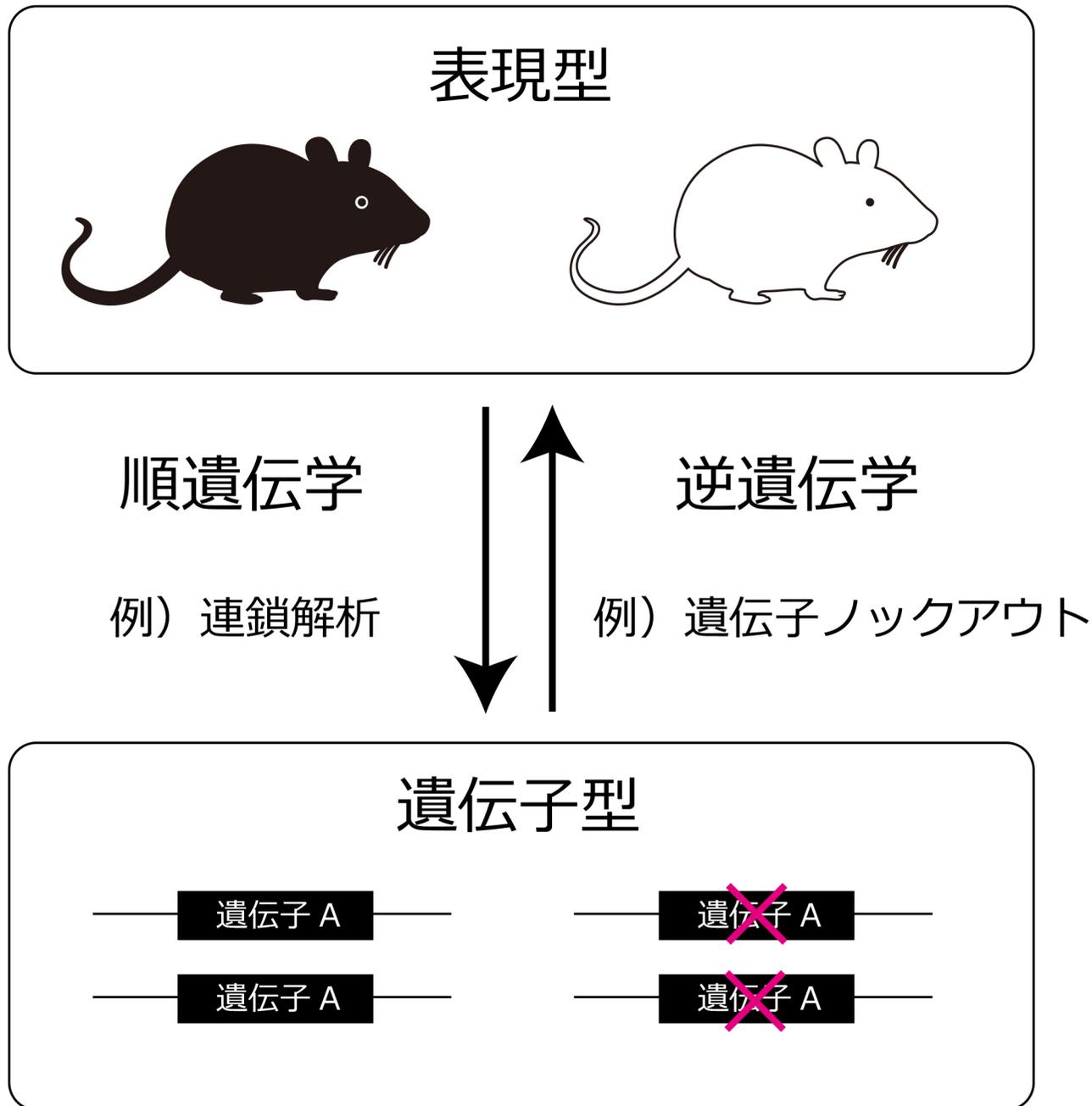
- 遺伝学が発達
- 発生工学が可能
- 組織培養可能
- 系統維持容易（精子凍結保存）

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！

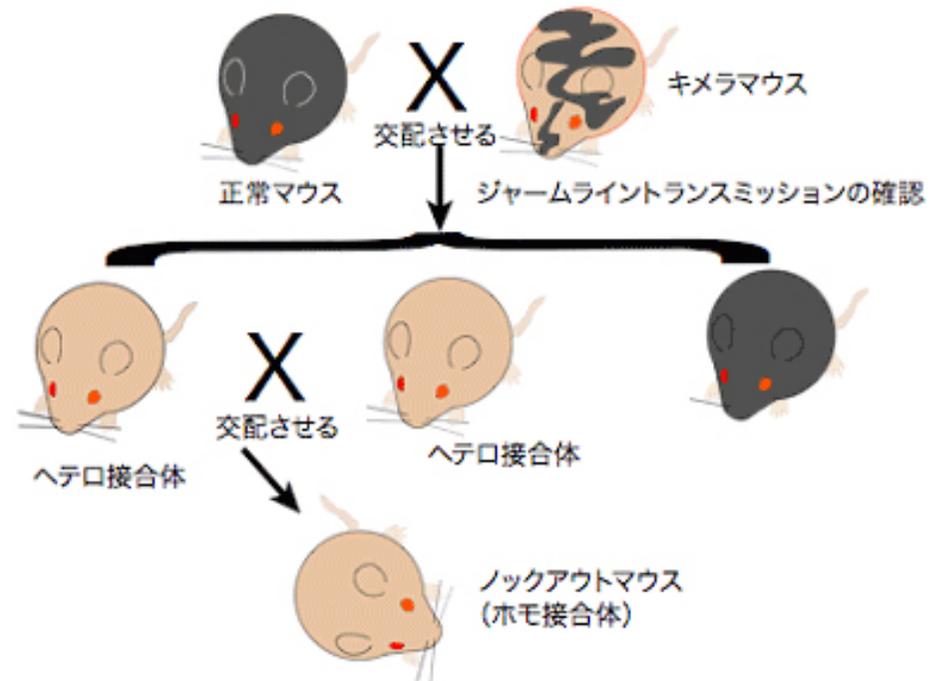
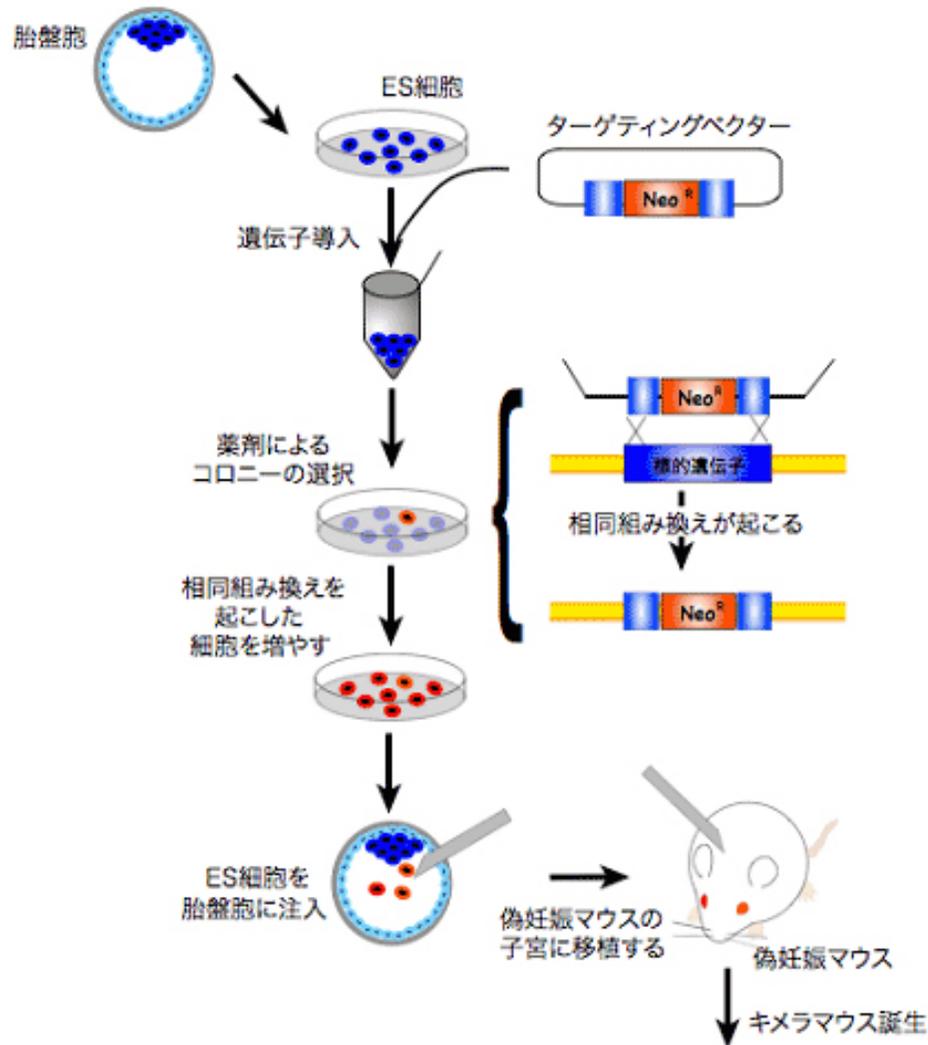
• 欠点

- 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

マウスの遺伝学的解析アプローチ



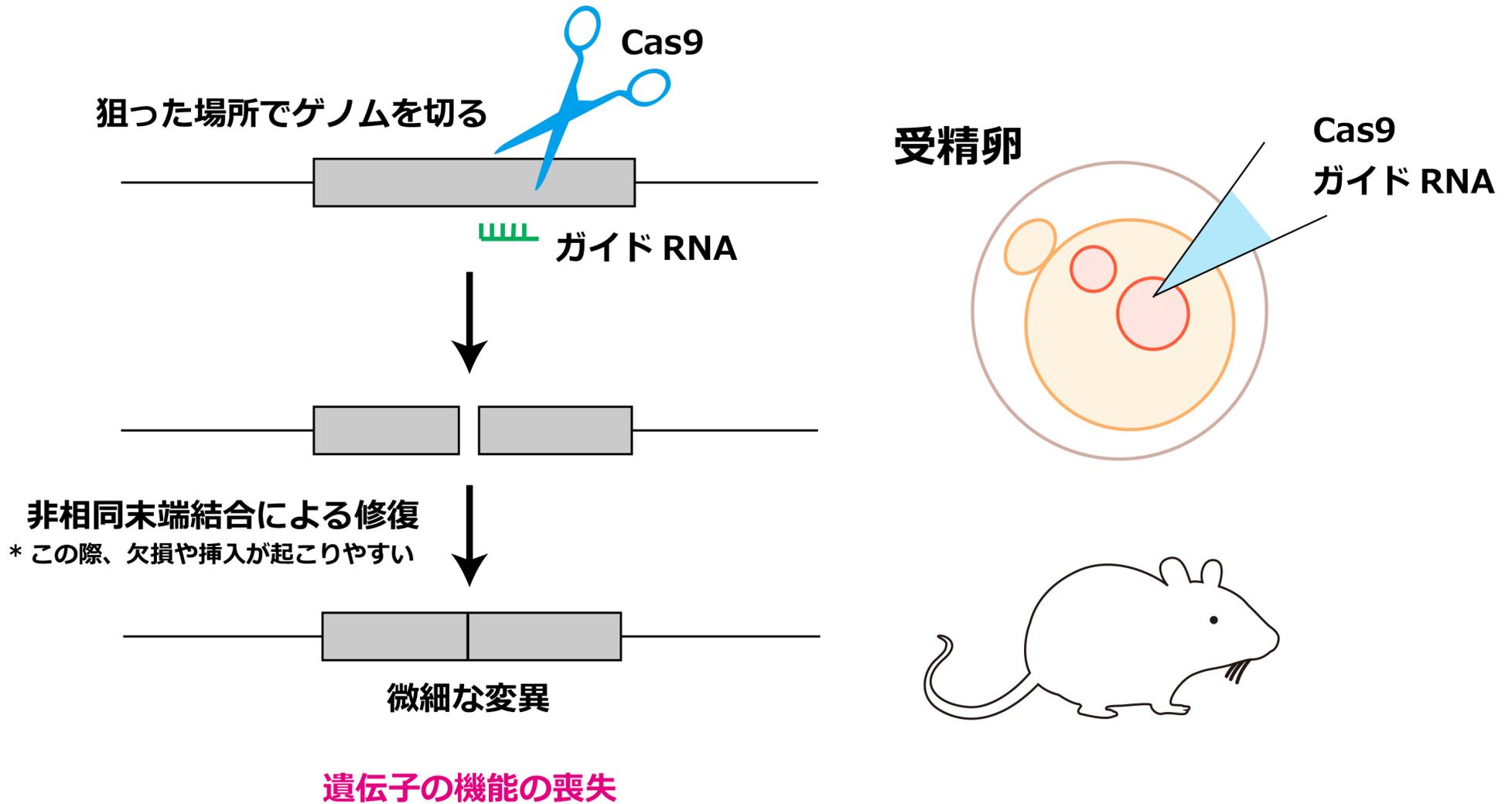
ノックアウトマウスの作製



作製には1~2年を要する

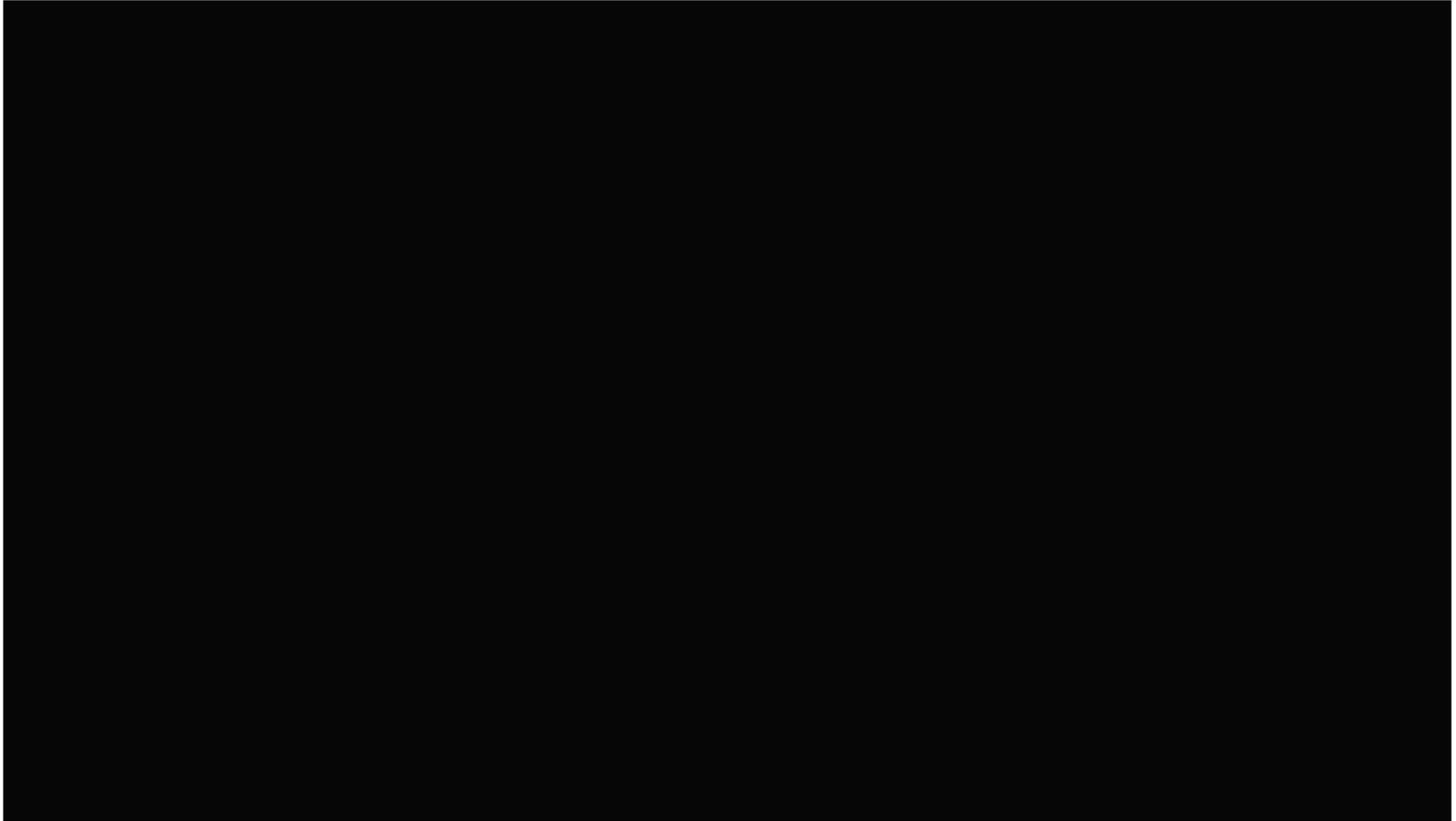
ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9法

clustered regularly interspaced short palindromic repeats



ゲノム編集技術によるマウス作製には1~2ヶ月！

ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9法



<https://www.youtube.com/watch?v=9q8AGst7KiY>

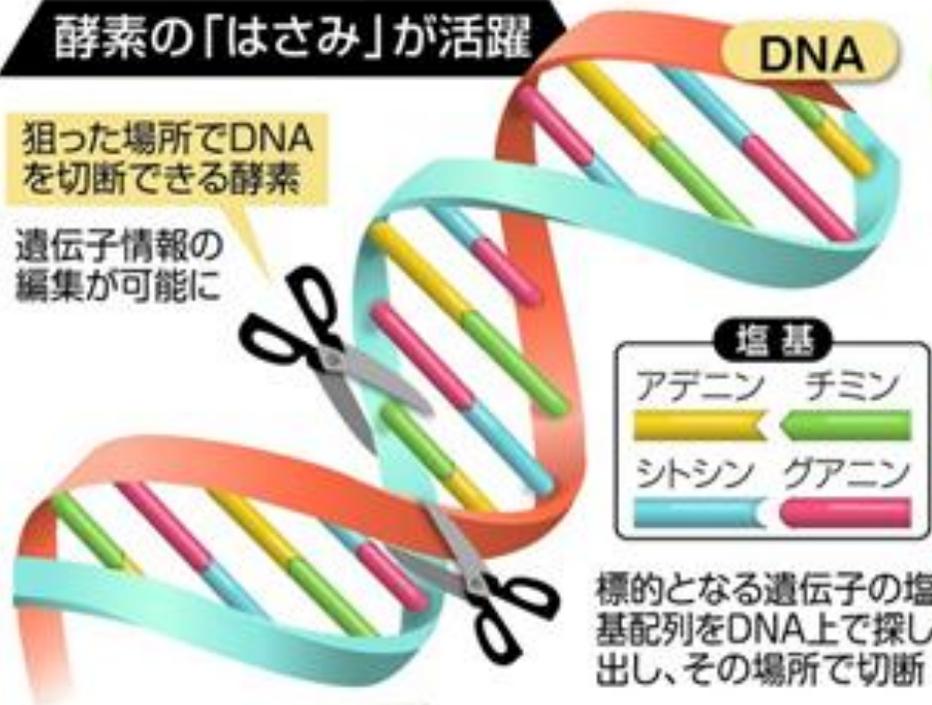
遺伝子を正確に切り貼り

※農業生物資源研究所、中央大、京都大、内閣府の資料を基に作成

酵素の「はさみ」が活躍

狙った場所でDNAを切断できる酵素

遺伝子情報の編集が可能に



DNA

塩基

アデニン	チミン
シトシン	グアニン

標的となる遺伝子の塩基配列をDNA上で探し出し、その場所で切断

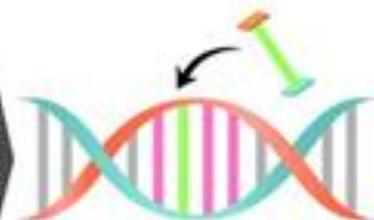
遺伝子の編集方法

DNA



標的の遺伝子

改変



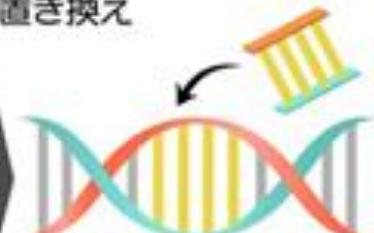
一部の塩基を別の塩基に置き換え

破壊



切れ目を入れ破壊、機能しない状態に

導入



外部から別の遺伝子を導入

広がる応用の可能性

● トマト



張りを失いにくくして日持ちを向上



● ジャガイモ

芽に有害物質を作る遺伝子を破壊

品種改良

● マグロ



激しく泳ぎ回らないようにして養殖しやすくする



● イネ

アレルギー物質を作る遺伝子を破壊

産業利用

● バイオ燃料



油を作る藻を改良して生産量を増大

● 生物工場



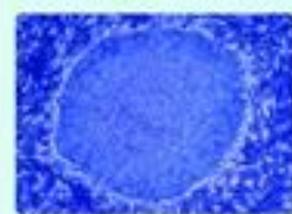
カイコの体内で医薬品や化粧品の原料を生産

医療研究

● 実験用マウス



病気を発症させ新たな治療法を開発



● 難病治療

患者のiPS細胞で病気の原因遺伝子を修復

デザイナーベビーの誕生？



<http://www.nextbigfuture.com/2017/01/crispr-could-make-designer-babies-and.html>

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？

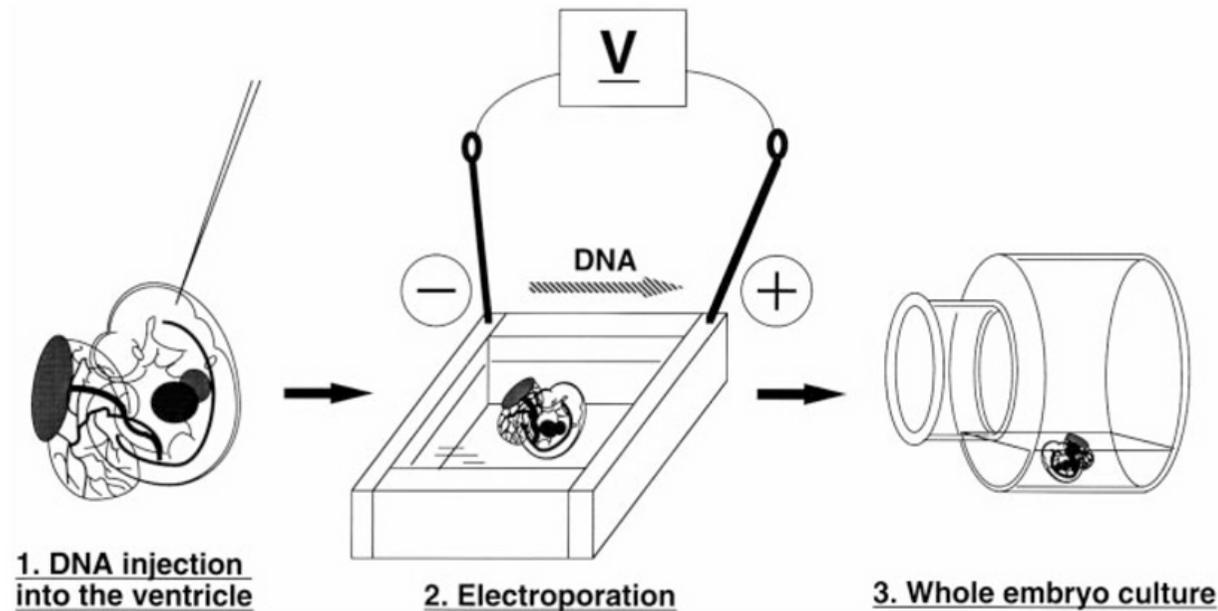
出席カードに意見を書いてみよう！

哺乳類全胚培養法

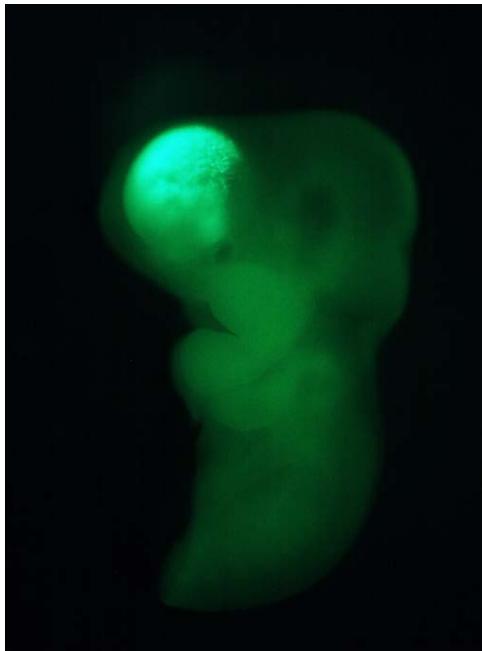


Takahashi & Osumi, J Vis Exp, 2010

哺乳類全胚培養法と電気穿孔法を組み合わせた手法

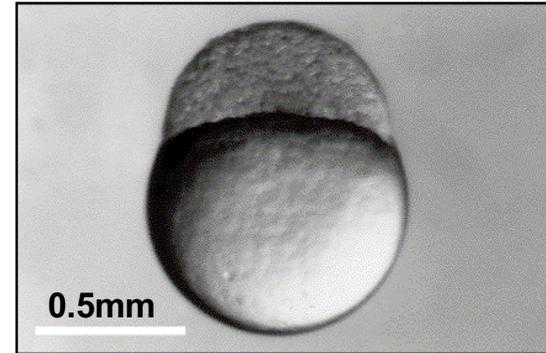
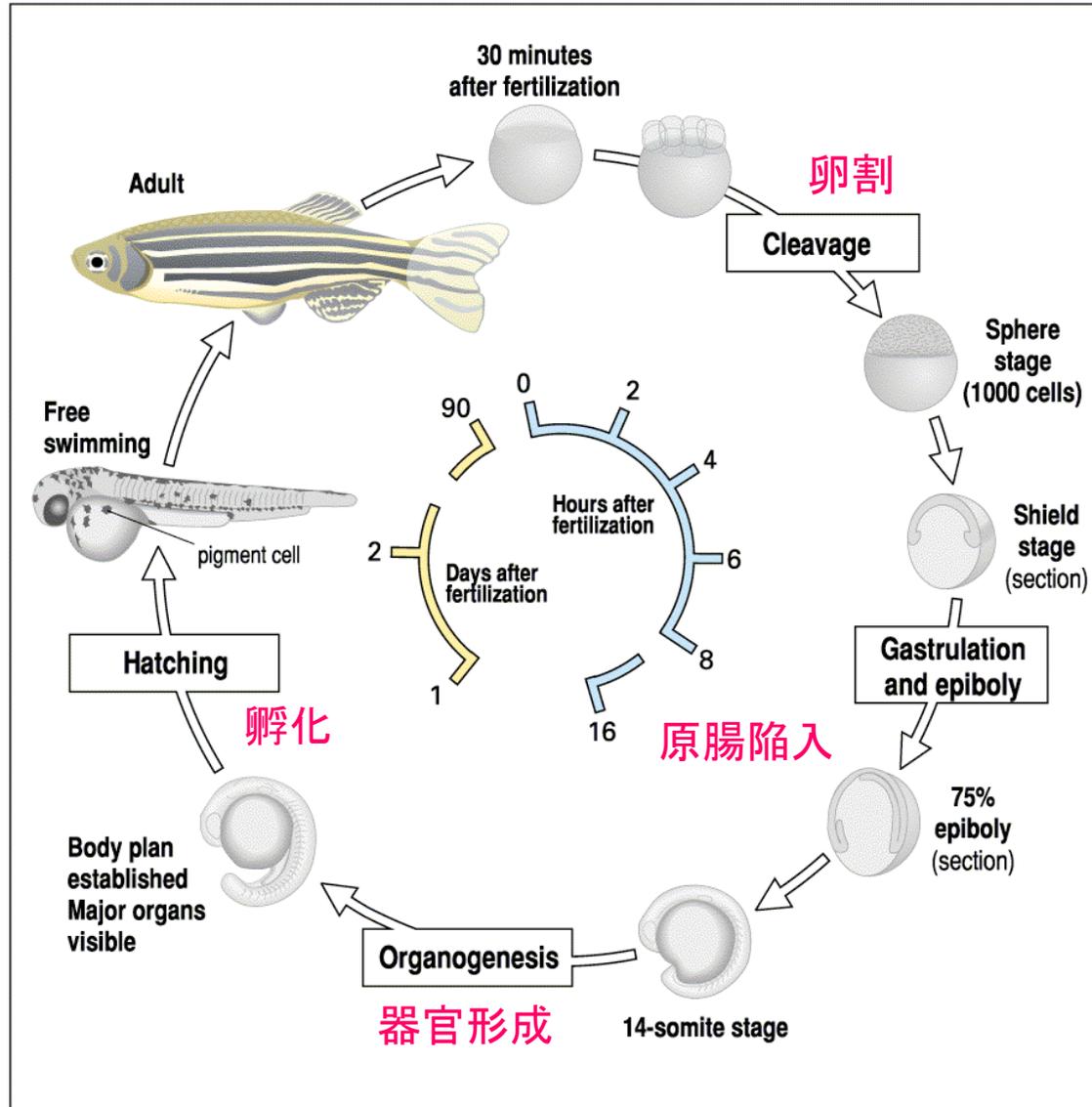


(Osumi and Inoue, 2001)



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

基礎生物学研究所制作
モデル生物の世界

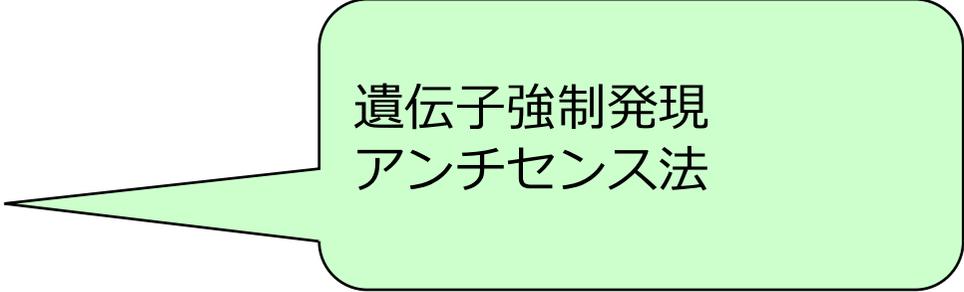
ゼブラフィッシュ

学名：*Danio rerio*

ゼブラフィッシュの利点

• 利点

- 遺伝学が発達
- 胚が透明
- 細胞数少ない
- 微小手術可能

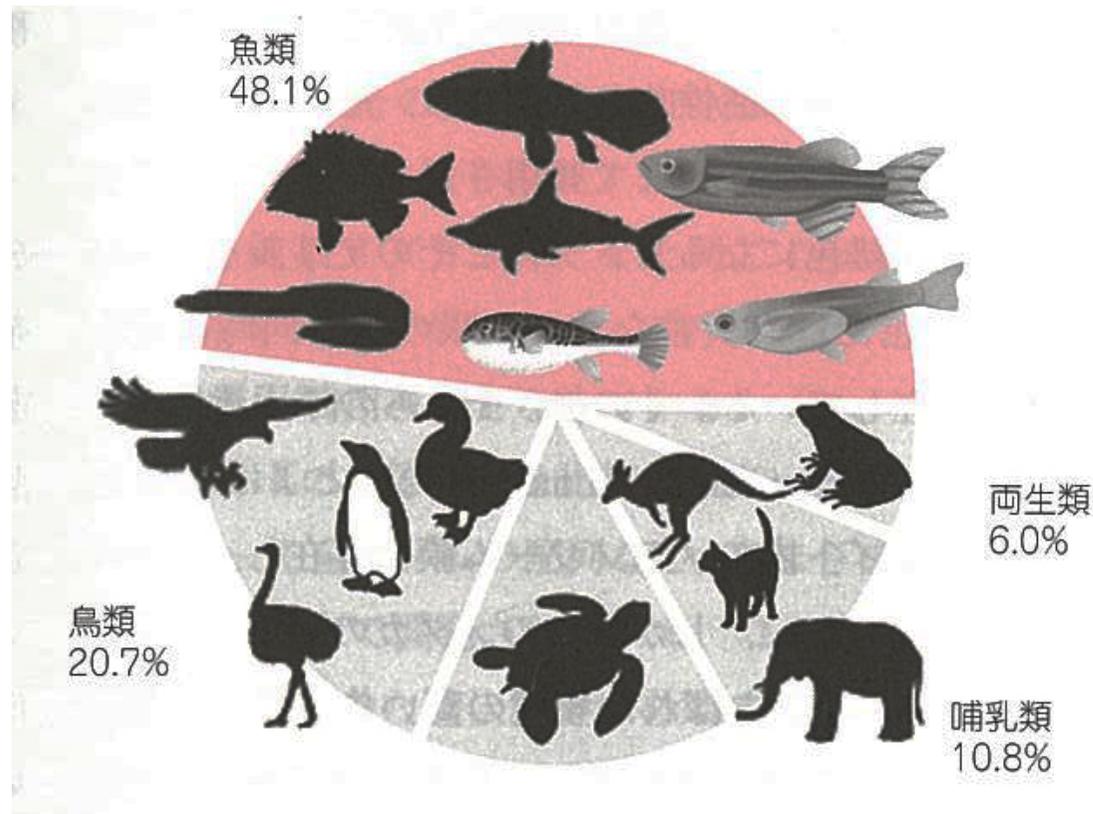


遺伝子強制発現
アンチセンス法

• 欠点

- 特殊施設（水槽、定温室）
- 系統維持困難

ゼブラフィッシュのモデル動物としての重要性



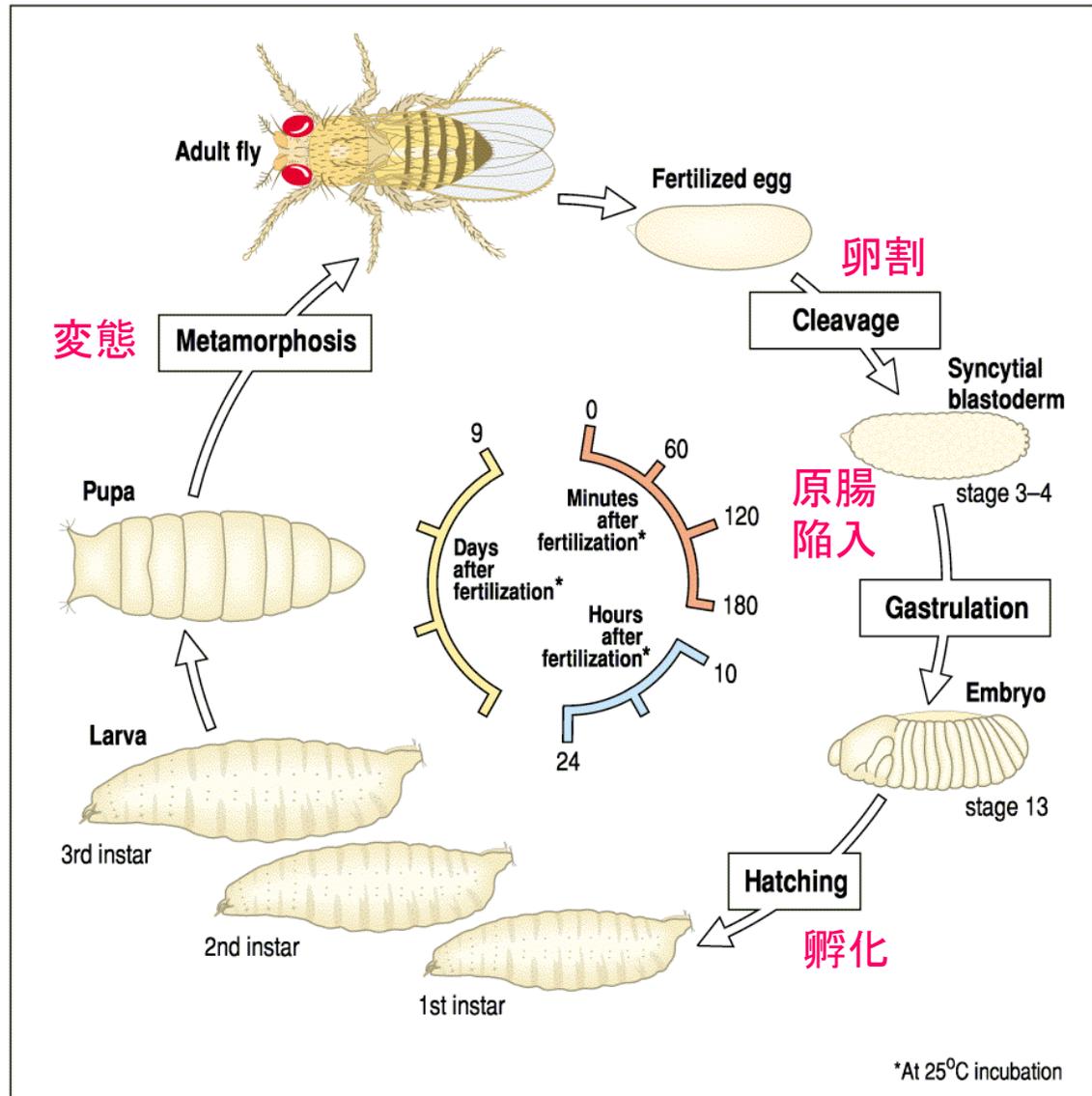
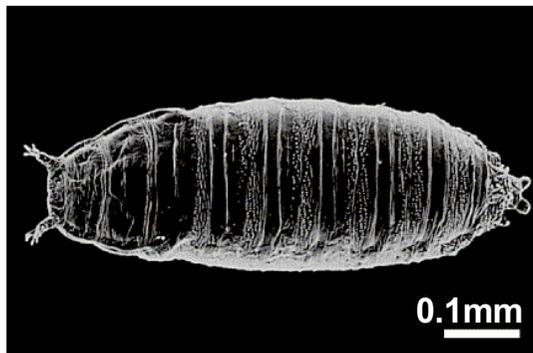
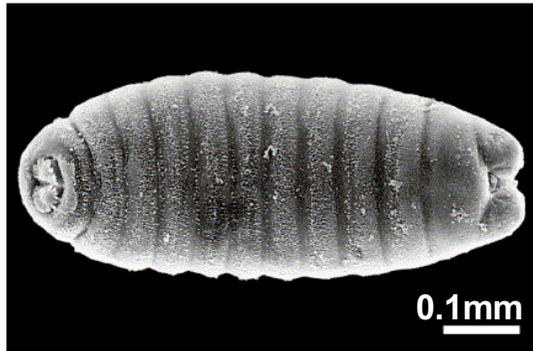
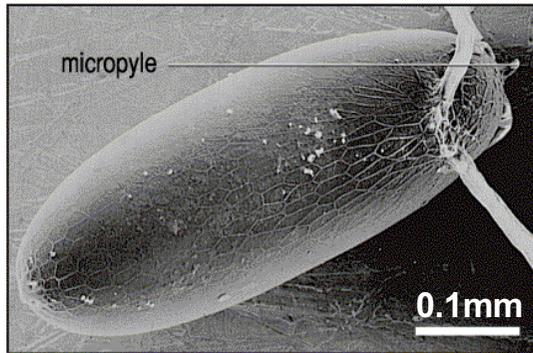
(研究をささえるモデル生物 4章)

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

基礎生物学研究所制作

キイロショウジョウバエの発生

学名：*Drosophila melanogaster*

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

ショウジョウバエの利点

• 利点

- 遺伝学が発達
- 発生工学可能
- 細胞数少ない

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

• 欠点

- 特殊設備（25℃の定温室）
- 生化学的実験には不適



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1995
Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard, Eric F. Wieschaus

Share this: 2

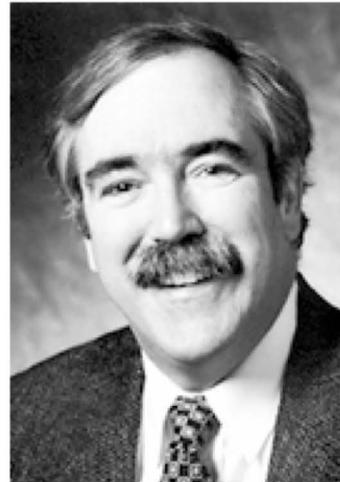
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1995



Edward B. Lewis
Prize share: 1/3

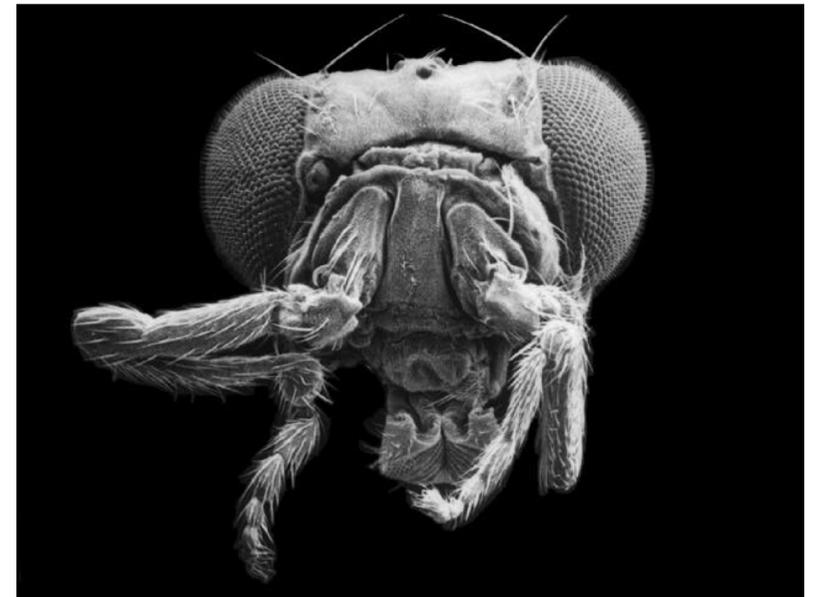


Christiane Nüsslein-Volhard
Prize share: 1/3



Eric F. Wieschaus
Prize share: 1/3

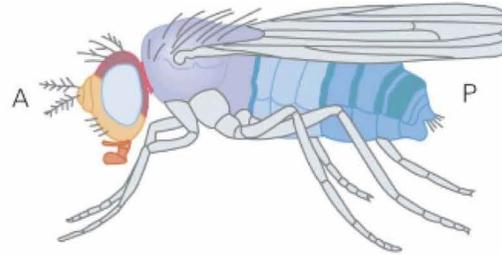
<http://www.tmd.ac.jp/artsci/biol/textlife/development2.htm>



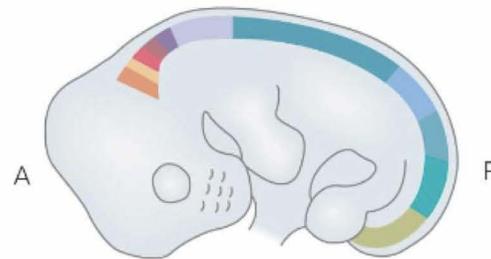
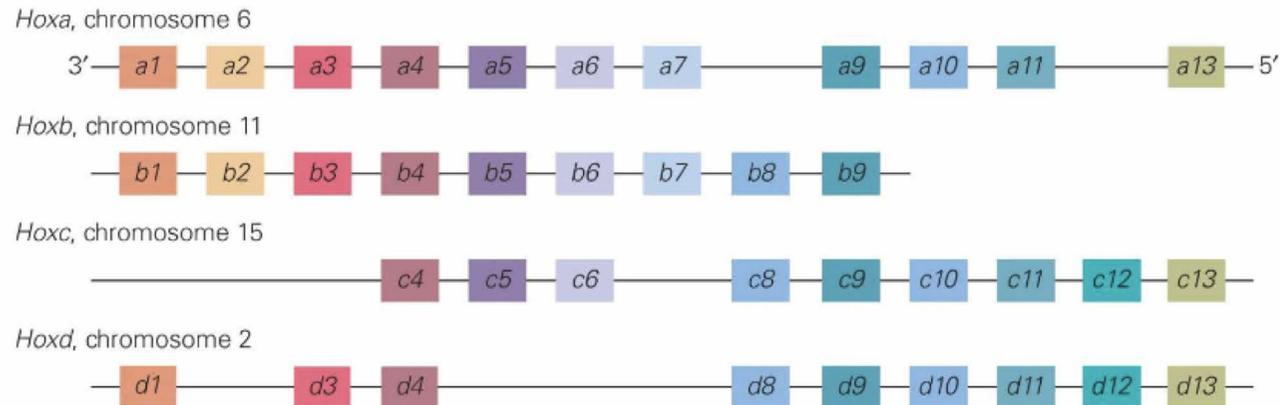
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1995 was awarded jointly to Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard and Eric F. Wieschaus *"for their discoveries concerning the genetic control of early embryonic development"*.

体のカタチを決める遺伝子の発見

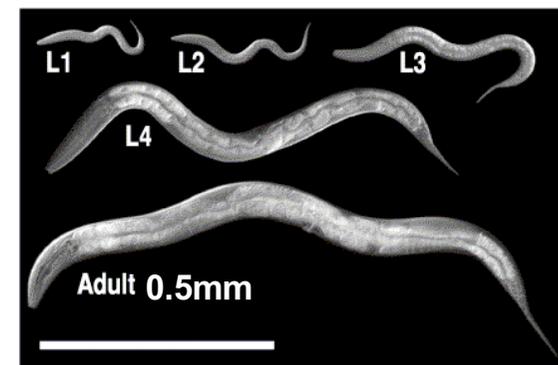
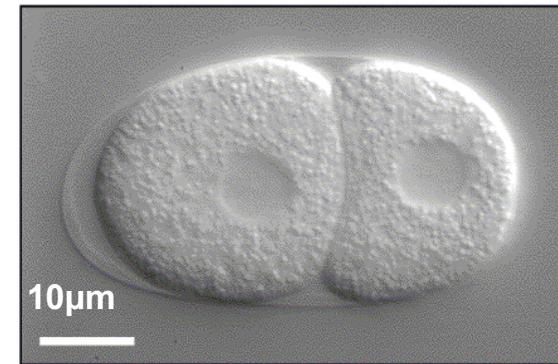
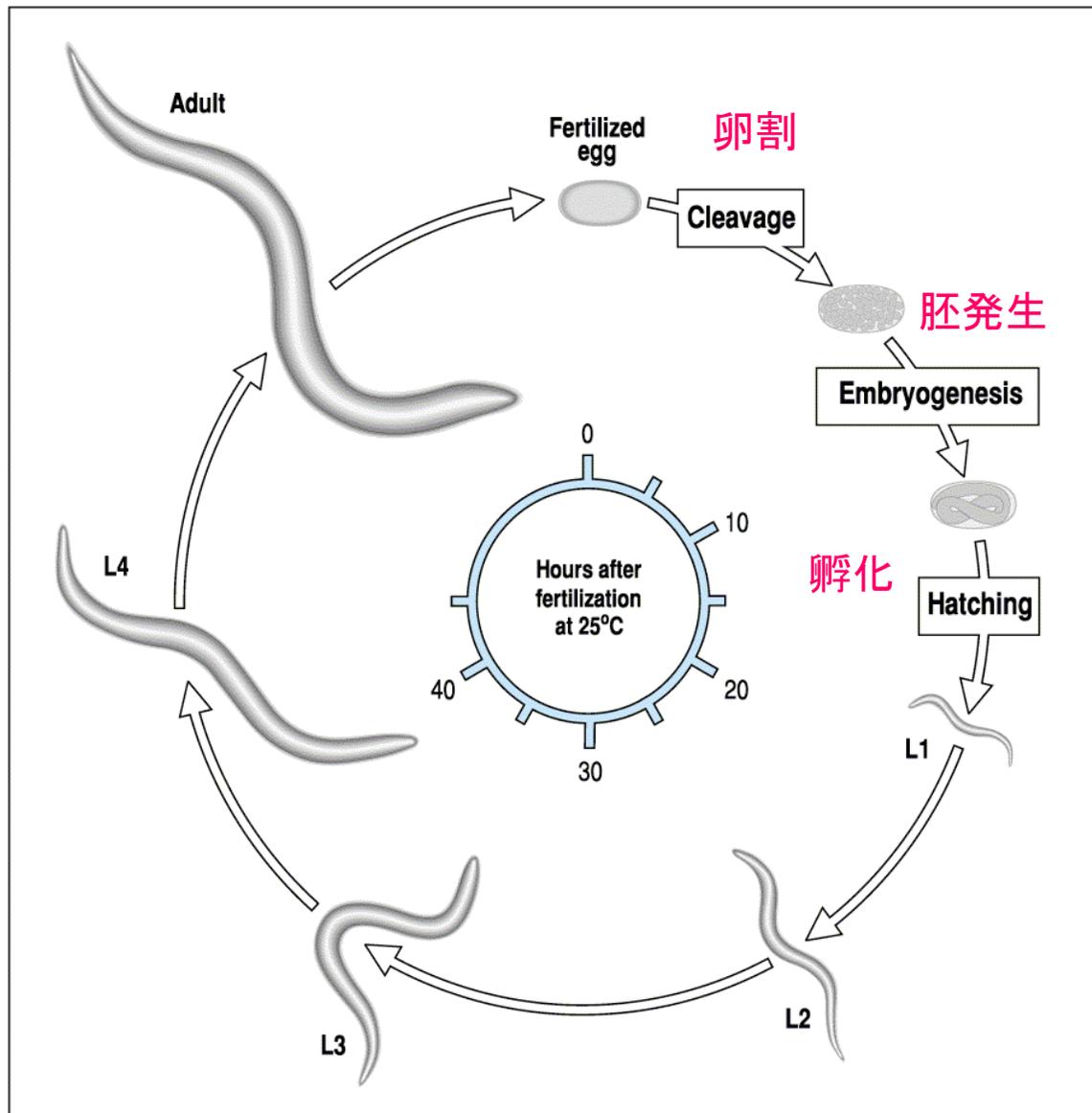
⊗ *Drosophila*



Mouse



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

線虫の利点

• 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

