

• 計畫中文名稱	體外鼠類精原幹細胞的培養與分化研究		
• 計畫英文名稱	Culture and Differentiation Regulation of Mouse Germ Line Stem Cells		
• 系統編號	PA9308-1803	• 研究性質	基礎研究
• 計畫編號	NSC93-2311-B038-006	• 研究方式	學術補助
• 主管機關	行政院國家科學委員會	• 研究期間	9308 ~ 9407
• 執行機構	台北醫學院生物化學科		
• 年度	93 年	• 研究經費	770 千元
• 研究領域	生物科學類, 基礎醫學類		
• 研究人員	黃彥華		
• 中文關鍵字	精原幹細胞; 基因印記; 精細胞分化; 胚胎精母細胞		
• 英文關鍵字	--		
• 中文摘要	<p>小白鼠的精原幹細胞包括有三類, 包括有胚胎精母細胞 (Primordial germ cell, PGC), 生殖母細胞 (Gonocyte), 與精原幹細胞 (Spermatogonial stem cell). 最早的胚胎精母幹細胞乃在胚胎發育的第 7~7.5 天時在胚胎外圍的 外胚層與中胚層之間被發現, 在此時期約只有 100 細胞左右, 被命名為胚胎精母細胞(Primordial germ cell), 這些胚胎精母細胞具有高度的 alkaline phosphatase 的活性與 Oct-4, SSEA-1 基因與蛋白的表現. 隨後這些 PGC 細胞移動至生殖脊(Gential ridge), 持續增生至 20000 個細胞左右. 在胚胎發育的第 11.5 天開始至 15.5 天之間, 胚胎精母細胞擁有獨特的基因印記洗除(imprinting erasure)的現象, 這是與其他體細胞(somatic cell) 最大不同之處. 增生之後的 PGC, 隨著胚胎的發育而進入胎兒的輸精細管(fetus seminiferous tubule), 形成 生殖母細胞而停止細胞分裂. 經懷孕 21 天小鼠出生後, 生殖母細胞從輸精細管 的中間空腔 (lumen) 移動至基層 (basement layer) 形成精原幹細胞 (spermatogonial stem cell, SSC), 精原幹細胞經生精作用(spermatogenesis) 而形成成熟的精子, 此階段的細胞 AP 活性與 Oct-4 的表現消失, 而精細胞被洗除的 基因印記, 也重新被甲基化而加上印記. 我們實驗室從剛出生的小鼠之睪丸細胞, 經由體外細胞培養, 成功地取得些許 clone, 這些 clone 的外觀型態與培養胚胎幹細胞過程中所形成的胎體 (embryonic body, EB) 非常相像, 同時高度表現 alkaline phosphatase 活性, 也表現 Oct-4 與 SSEA-1 蛋白, 這些初步的實驗成果顯示, 在分化完全的睪丸細胞 中, 可能上存在有原始的胚胎精母細胞 (PGC)或胚胎精細胞(EG), 或是較原始的胚胎幹細胞, 我們因此暫將之命名為睪丸胎體 (Testis Embryonic Body, Ts-EB). 此外, 我們也利用睪丸中精原幹細胞與其他細胞型態的不同, 從睪丸細胞中成功地培養出單一精原幹細胞的 clone, 這樣的單一細胞 clone 將有助於我們進行研究睪丸中微環境對精原幹細胞進行自我更新(self-renew)與分化 (differentiation) 的調控. 我以幹細胞分化的觀點, 在此提出一個為期一年的研究計畫, 分三方向進行精原細胞的研究: 一 Ts-EB clone 的鑑定與特性分析, 包括 a. 以 retinoic acid 處理 Ts-EB clone, 觀察其細胞進行增生或分化, 以鑑定 Ts-EB</p>		

的來源與其 Pluripotency 的分化能力 b. 分析 Ts-EB, 胚胎精母細胞(PGC) 與精細胞(spermatozoa)分化時特有 的基因印記(genomic imprinting)甲基化調控的差異 c. 以基因晶片分析 Ts-EB, 胚胎精母細胞(PGC)與精細胞(spermatozoa)基因表現的差異 二 睪丸微環境(Niche)對精原幹細胞分化的影響 三 建立精原幹細胞移植的功能性分析

• 英文摘要

查無英文摘要