

• 計畫中文名稱	人類胚胎幹細胞與生殖腺幹細胞發育為生殖細胞過程中之基因轉殖、分化與後生調節-子計畫二---以無血清之細胞培養模式探討調控精原幹細胞自我更新與命運程式再設定的可能因子以及其誘導人類胚胎幹細胞分化為精子的可能性(I)		
• 計畫英文名稱	Characterization of the Self-Renewal/Reprogramming Factors of Human/Mouse Germ Line Stem Cells in Serum-Free Culture System and Its Induction Effect on Human Embryonic Stem Cells to Sperm		
• 系統編號	PC9701-0031	• 研究性質	基礎研究
• 計畫編號	NSC96-3111-B038-001	• 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	9612 ~ 9711
• 執行機構	臺北醫學大學生化學科		
• 年度	96 年	• 研究經費	2617 千元
• 研究領域	生物技術		
• 研究人員	黃彥華,陳信孚		
• 中文關鍵字	精原幹細胞; 自我更新; 細胞命運程式重新設定; 人類胚胎幹細胞; 精子; 無血清細胞培養模式		
• 英文關鍵字	self-renewal, reprogramming, human ES cells, GSC cells, sperm, serum-free culture		
• 中文摘要	<p>細胞命運(cell fate)的調控顯著地影響細胞分化、再生與癌化。先前的研究已經證實，科學家們可以利用含高濃度的血清細胞培養液中，在體外實驗 從新生或是成熟小鼠的睪丸組織成功地培養出多功能幹細胞 (pluripotent stem cells)；這些幹細胞在小鼠動物模式中可分化為胚胎中三個胚層的細胞型態； 這項結果不但證實細胞生長環境(niche)中存在著調控自我更新(self-renewal) 或是重新設定(re-programming)細胞命運的因子，同時也因此開啓了以多功能 精原幹細胞取代胚胎幹細胞在臨床醫療上的可能性 (可迴避胚胎幹細胞相關 道德疑慮的爭議)。然而至今這些參與自我更新或是重新設定細胞命運的因子 則尚未明確；由於血清高含有複雜而未確定的成分，因此使用高濃度的血清 的培養液不但使尋找調控細胞命運的因子的機會顯著受限，同時也使這些幹 細胞在臨床醫療的應用價值大大降低；因此，我們實驗室成功建立一新穎的 無血清細胞培養系統，可以在體外將新生小鼠的睪丸細胞誘導其細胞命運程 式重新設定，成為一類似生殖精母細胞(PGC, primordial germ cells)的多功能 幹細胞；我們初步的結果顯示，insulin, transferrin, selenium 與 EGF 於細胞 命運重新設定中扮演重要的角色 (請參考實驗初步結果)。這樣新穎的無血清 細胞培養系統不但提供我們一個良好的細胞平台以尋找調控細胞命運的因子 與其相關訊息傳遞，同時也可藉由所發現的可能調控細胞命運的因子，進而 增加誘導人類胚胎幹細胞分化為人類精子細胞的成功機會。因此，本計劃的 內容主軸，乃在於延續本實驗室先前所建立的無血清細胞培養模式，藉以尋 找可能參與調控細胞自我更新的因子與細胞命運程式重新設定的訊息傳遞 徑；再利用這些可能的因子，嘗試建立人類的精原幹細胞株，與誘導人類胚 胎幹細胞分化為精子細胞的可能性。 本計劃內容主要分列於下： 一、 利用生化學的研究策略，鑑定調控精原幹細胞自我更新的因子 與精原幹細胞</p>		

命運程式重新設定的訊息傳遞 二、 利用無血清細胞培養模式與可能的細胞命運調控因子建立人類多功能的精原幹細胞 三、 以所發現的細胞命運調控因子誘導人類胚胎幹細胞分化為精子細胞

• 英文摘要

Pluripotent stem cells from testis of neonatal and adult mice have been reported by a serum-containing culture system. However, the complex effects of serum in culture would dramatically limit the finding of factors which regulated cell fates and reduce the values of clinical applications. Our previous results have demonstrated a novel serum-free culture system for clonal derivation of pluripotent stem cells (which were resembled to PGCs) from neonatal mouse testis (in submission, see preliminary results). This finding suggests an existence of novel factors in culture niche which regulate or reprogram the cell fate of the germ line stem cells (GSCs). The serum-free culture system not only provides a cell platform to uncover the novel factors which regulate germ cell self-renewal/reprogramming, but also creates a chance, by utilizing the discovered novel factors, to generate GSCs from human ES cells. In this proposal, in accompany with our previous results and taking advantage of serum-free culture system, we plan to look for the novel factors which involved in regulation of germ cell fates; and furthermore, try to establish potential pluripotent human GSC cells (hGSCs), and then utilize the optimal culture condition of hGSC to induce differentiation of human ES-derived PGC cells (provided by Project 4) to sperm. Three specific aims were addressed here:

Specific aim 1: To characterize the novel factors and signals which regulate self-renewal/reprogramming of GSC cells by biochemical approach

Specific aim 2: To generate potential pluripotent human GSC cells in vitro by serum-free culture system

Specific aim 3: To induce differentiation of human ES-derived PGC cells to sperm