

平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

事業名	革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト	
研究開発課題名	遺伝子操作マーマセットの作製・世代短縮のための革新的胚操作技術の開発（遺伝子操作マーマセットの作製・世代短縮のための革新的胚操作技術の開発）	
機関名	国立研究開発法人理化学研究所	
研究開発	所属 役職	バイオリソースセンター 遺伝工学基盤技術室 室長
担当者	氏名	小倉 淳郎

2. 研究開発成果の内容

① 新鮮精子および精子細胞を用いた顕微授精

平成 26 年度中に、マウスの卵子を用いて、マーマセット精子細胞が後期円形精子細胞以降に卵子活性化能を持つことを明らかにした。そこで平成 27 年度は、後期円形精子細胞を得られる月齢を明らかにするために、10～12 ヶ月齢の精巣組織および細胞懸濁液を観察した。その結果、10 ヶ月齢で初期の円形精子細胞が出現し、12 ヶ月齢には十分な数の後期円形精子細胞以降の精細胞が得られることを明らかにした。実際にマーマセット卵子を用いて、採卵日に得られた幼若齢（10 ヶ月齢）の雄個体から採取した細胞を注入した。しかし、胚の発生は 4 細胞期で停止したため、組織学観察の通り、10 ヶ月齢はまだ顕微授精に適さないことが示された。精子細胞の凍結保存は、従来の 7.5% グリセロール + 7.5% 血清入り PBS へ、0.25 M シュークロースを加えることで、融解後の生存率が 70-80% まで上昇した。

② 幼若精細管のマウスへの移植後の精細胞発生の観察

①の新鮮精子・精子細胞を顕微授精は、世代間隔の短縮には限度がある。そこで、精子発生を加速するために、マーマセット未成熟精巣組織を幼若雄マーマセットから採取し、免疫不全マウス (NOD/Scid) への移植を試みる。平成 26 年度までに、移植場所として、通常の皮下、腎皮膜下、精巣内を検討した。平成 27 年度は、さらに陰嚢内を検討した。同種移植（マウス→マウス）および異種移植（ウサギ→マウス）とも良好な成績を収め、前者は、顕微授精により産子を得た。以上から、異種移植の場所として、陰嚢が最適であることを明らかにした。また、ドナー組織とレシピエント組織を容易に区別できるように、レシピエントマウスとして、EGFP 蛍光タンパク質を発現するトランスジェニック NOD/Scid マウスを開発した。