

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 創薬基盤推進研究開発事業
(英語) Research on Development of New Drugs

研究開発課題名： (日本語) マウスバンク機能の拡充による創薬イノベーションの迅速化
(英語) Acceleration of Innovative Drug Development by Reinforcing the Role of Mouse Bank

研究開発担当者 (日本語) 熊本大学生命資源研究・支援センター資源開発分野、講師、竹尾 透
所属 役職 氏名： (英語) Division of Reproductive Engineering, Center for Animal Resources and Development, Kumamoto University, Assistant Professor, Toru Takeo

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) マウスバンク機能の拡充による創薬イノベーションの迅速化
開発課題名： (英語) Acceleration of Innovative Drug Development by Reinforcing the Role of Mouse Bank

研究開発分担者 (日本語) 熊本大学生命資源研究・支援センター資源開発分野、教授、中潟直己
所属 役職 氏名： (英語) Division of Reproductive Engineering, Center for Animal Resources and Development, Kumamoto University, Professor, Naomi Nakagata

研究開発分担者 (日本語) 熊本大学生命資源研究・支援センター資源開発分野、特任助教、中川佳子
所属 役職 氏名： (英語) Division of Reproductive Engineering, Center for Animal Resources and Development, Kumamoto University, Assistant Professor, Yoshiko Nakagawa

研究開発分担者 (日本語) 熊本大学生命資源研究・支援センター病態遺伝分野、講師、鳥越大輔
所属 役職 氏名： (英語) Division of Microbiology and Genetics, Center for Animal Resources and Development, Kumamoto University, Assistant Professor, Daisuke Torigoe

研究開発分担者 (日本語) 熊本大学生命資源研究・支援センター表現型解析分野、教授、南 敬
所属 役職 氏名 : (英 語) Division of Phenotype Disease Analysis, Center for Animal Resources
and Development, Kumamoto University, Assistant Professor, Takashi
Minami

研究開発分担者 (日本語) 熊本大学大学院生命科学研究部薬学生化学分野、教授、杉本幸彦
所属 役職 氏名 : (英 語) Department of Pharmaceutical Biochemistry, Faculty of Life Sciences,
Kumamoto University, Professor, Yukihiro Sugimoto

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

- ・ 創薬研究に必要不可欠である疾患モデルマウスの作製および利用効率を改善するために、生殖工学技術を用いたマウス大量作製システムの開発を進めている。竹尾講師らのグループは、マウス大量作製に有用な過剰排卵誘起法を開発し、各種近交系および非近交系マウス系統において排卵数を顕著に増加させることを見出した。
- ・ 疾患モデルマウスを多機関で共有し、効率的に共同研究プロジェクトを遂行するためには、マウスの簡便かつ安価な輸送法が必要である。竹尾講師らのグループは、生殖細胞の冷蔵輸送技術の改良に成功し、N-アセチルシステインがマウス受精卵の冷蔵保存期間を延長することやメチル- β -シクロデキストリンがマウス冷蔵精子の受精能改善に有効であることを見出した。
- ・ ゲノム編集技術を活用した遺伝子改変マウスの効率的な作製には、前核期受精卵の安定かつ迅速な供給が必要である。中川特任助教らのグループは、超過剰排卵誘起法と凍結保存法を応用することで、前核期受精卵の大量作製および安定供給システムを開発した。
- ・ マウス大量作製システムの運用に必要な生殖工学技術に関する人材育成を目的として、国内外の研究者、技術者および学生を対象とした生殖工学技術ワークショップを開催し、創薬研究の促進に有用な人材育成に貢献した。

英文

- ・ The purpose of this project is to improve the availability of disease-model mice to accelerate the research on innovative drug development. To improve the availability of mice, we are developing mass production system of the disease model mice based on reproductive technology. Dr. Takeo and his group established a novel superovulation technique which is effective to dramatically increase the number of ovulated oocytes in inbred and outbred strains of mice.
- ・ Developing efficient transport system of mice is important to conduct large-scale project among various institutes. Dr. Takeo and his group achieved to prolong the storage period of mouse embryos at refrigerated temperatures and enhance the fertilizing ability of cold-stored mouse sperm.
- ・ Efficient supply system of oocytes at pronuclear stage is necessary to maximize the benefit of genome editing technique for the production of genetically engineered mice. Dr. Nakagawa and her group established the system for mass production and stable supply of the oocytes based on ultrasuperovulation and cryopreservation techniques.
- ・ To strength human resource development about mouse reproductive technology, Dr. Takeo and Dr. Nakagata held mouse reproductive technology workshops. The educational activity contributes to establish research infrastructure and accelerate the speed of medical science and drug discovery using genetically engineered mice.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 4 件）

1. **Takeo T, Nakagata N**, Immunotherapy using inhibin antiserum enhanced the efficacy of equine chorionic gonadotropin on superovulation in major inbred and outbred mice strains, *Theriogenology*, 86(5), 2016, 1341-1346.
2. Horikoshi Y, **Takeo T, Nakagata N**, N-acetyl cysteine prolonged the developmental ability of mouse two-cell embryos against oxidative stress at refrigerated temperatures, *Cryobiology*, 2016, 72(3), 198-204.
3. Yoshimoto H, **Takeo T**, Irie T, **Nakagata N**, Fertility of cold-stored mouse sperm is recovered by promoting acrosome reaction and hyperactivation after cholesterol efflux by methyl- β -cyclodextrin, *Biol Reprod*, 2017, 96(2), 446-455.
4. **Nakagawa Y**, Sakuma T, Nishimichi N, Yokosaki Y, Yanaka N, **Takeo T, Nakagata N**, Yamamoto T. Ultra-superovulation for the CRISPR-Cas9-mediated production of gene-knockout, single-amino-acid-substituted, and floxed mice. *Biol Open*, 2016, 5: 1142-1148 (2016).

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. **竹尾 透, 中川佳子, 鳥越大輔, 南 敬, 杉本幸彦, 中潟直己**, AMED 創薬基盤推進研究事業『マウスバンク機能の拡充による創薬イノベーションの迅速化』に関する取り組み、口頭、日本薬学会第 137 年会、2017 年 3 月 27 日、国内
2. 大窪喜丸、馬 驍彦、稲住知明、杉本聡子、土屋創健、**竹尾 透, 中潟直己**、成宮 周、**杉本幸彦**、着床ならびに胎児のスペーシングにおけるプロスタグランジンの役割、口頭、日本薬学会第 137 年会、2017 年 3 月 25 日、国内
3. **竹尾 透**、生殖技術を活用した疾患マウスリニージの構築、第 3 回血管生物若手研究会、口頭、2017 年 3 月 3 日、国内
4. **Toru Takeo**, Masashi Muramatsu, **Yoshiko Nakagawa, Daisuke Torigoe, Takashi Minami, Naomi Nakagata**, Accelerating the research on vascular biology via CARD Mouse Bank, AMED Project of Research on Development of New Drugs, 第 24 回日本血管生物医学会、ポスター、2016 年 12 月 9 日、国内
5. **竹尾 透**、吉本英高、椋木歩、竹本賢司、白角一樹、田村香菜、野田雅文、須賀原千明、桐木平小春、山下紀代子、近藤朋子、春口幸恵、中牟田裕子、竹下由美、梅野智子、石田恵理、高橋郁、岩本まり、土山修治、坂本亘、中川佳子、中潟直己、最新の生殖工学技術を用いたマウス研究の迅速化、第 39 回日本分子生物学会、ポスター、2016 年 12 月 2 日、国内
6. **Toru Takeo**, Ayumi Mukunoki, Chihiro Sugahara, **Naomi Nakagata**, Efficient production and supply system of genetically engineered mice using advanced reproductive technology, 7th AFLAS Congress, ポスター、2016 年 11 月 8 日、国外
7. **Toru Takeo**, Application of the latest reproductive technology in mouse bank promotes to establish an efficient research infrastructure for medical science, Seminar of Biological

Resources Centre (BRC) in A*STAR, 口頭、2016年11月8日, 国外

8. **Toru Takeo**, Ayumi Mukunoki, **Naomi Nakagata**, Superovulation and Ultrasuperovulation, CARD-IP Mouse Embryo and Sperm Cryopreservation Workshop, 2016年10月26日, 国外
9. **Toru Takeo**, **Naomi Nakagata**, A strategy to accelerate cardiovascular research by using advanced reproductive technology of “Mouse Resource Bank”, New Era of Angiogenesis Research, 口頭、2016年7月7日, 国内
10. **Toru Takeo**, **Naomi Nakagata**, CARD’s Kaizen Strategy of Mouse Reproductive Technology, INFRAFRONTIER IPAD-MD Meeting, 口頭、2016年6月28日, 国外
11. **Toru Takeo**, **Naomi Nakagata**, Annual Report 2015 of CARD, The 2016 AMMRA & AMPC meeting, 口頭、2016年5月21日, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. **竹尾 透**、超過剰排卵誘発法、口頭、CARD セミナー in 東京 2017 「マウスにおける生殖工学技術」、2017年3月17日、国内

(4) 特許出願