

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) 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  
(英語) Brain Mapping by Integrated Neurotechnologies for Disease Studies  
(Brain/MINDS)

研究開発課題名： (日本語) 遺伝子操作マーモセットの作製・世代短縮のための革新的胚操作技術の開発  
(英語) Innovation of embryo engineering for generating genetically-modified marmosets and enhancing breeding efficiency

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東京大学・饗場 篤  
所属 役職 氏名： (英語) The University of Tokyo, Atsu Aiba

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) 顕微授精による繁殖の効率化と世代短縮技術の開発  
開発課題名： (英語) Development of innovative technologies for genetic engineering and rapid reproduction of the marmoset

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所・小倉 淳郎  
所属 役職 氏名： (英語) RIKEN, Atsuo Ogura

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立大学法人東京大学大学院医学系研究科 教授 饗場 篤 総括研究報告を参照。

研究開発項目③顕微授精による繁殖の効率化と世代短縮技術の開発

遺伝子改変マーモセットの世代短縮のために、マーモセットの顕微授精技術の開発を行った。「新鮮精子および精子細胞を用いた顕微授精の技術開発」では、マーモセット後期精子細胞以降に卵子活性化能を持つことをマウス未受精卵への顕微注入実験により明らかになった。さらに幼若精巣組織観察により、12ヶ月齢で十分な数の後期精子細胞から精子が出現することを確認した。実際に12ヶ月齢凍結伸長精子細胞および精巣精子をマーモセット卵子に顕微注入した結果、それぞれ8細胞期および胚盤胞期までの発生を認めた。「幼若精細管のマウスへの移植後の精細胞発生の観察」では性成熟の早いマウスへ精巣組織を移植して精子発生の迅速化を目標としている。同種移植(マウス→マ

ウス)により陰嚢内が最適移植部位であることを明らかにした。異種移植(ウサギ→マウス)において生体より1週間ほど早い円形精子細胞の発生を確認した。マーモセット→マウスでは免疫不全マウスであるNOD/Scidよりさらに重度の免疫不全を示すNSGマウスがレシピエントとして最適であることを明らかにした。

### Research 3. Efficient production of offspring and acceleration of the generation turnover by microinsemination

This study was undertaken to develop new microinsemination (ICSI) techniques that will accelerate the generation turnover in marmosets. First, to see the stage at which marmoset spermatogenic cells acquire the oocyte-activating capacity, we injected them into mouse oocytes. The activation pattern of mouse oocytes indicated that the oocyte-activating capacity appeared at the late round spermatid stage. In prepubertal testes, these spermatids first appeared by 12 month of age. When frozen-thawed elongated spermatids and testicular spermatozoa obtained from a 12-month-old testis were injected into marmoset oocytes, they developed into the 8-cell and blastocyst stage, respectively. We also examined the possibility of early development of marmoset spermatogenic cells by transplanting immature testicular tissues into mice. We found that intra-scrotal transplantation gave the best results. In a preliminary experiment using rabbit testes, round spermatids appeared 1-week earlier than that of the normal condition. We found that marmoset testes survived in NSG mice, but not in NOD/Scid 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1件)

1. Kurotaki YK, Hatanaka Y, Kamimura S, Oikawa M, Inoue H, Ogonuki N, Inoue K, Ogura A. Impaired active DNA demethylation in zygotes generated by round spermatid injection. Hum. Reprod. 2015, 30:1178-1187.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 精巣の異種異所移植の新しい試み, 口頭, 越後貫成美, 山海直, 小倉淳郎, 第63回日本実験動物学会, 2016/5/20, 国内.
2. マーモセット精子細胞を用いた顕微授精技術の開発, 口頭, 越後貫成美, 葛西秀俊, 井上弘貴, 饗場篤, 小倉淳郎, 第109回日本繁殖生物学会, 2016/9/13, 国内.
3. 発生工学的手法を用いたマーモセット世代短縮技術の開発, ポスター, 越後貫成美, 葛西秀俊, 井上弘貴, 饗場篤, 小倉淳郎, 第6回日本マーモセット研究会大会, 2016/12/13, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし