

氏名 保地眞一

目的別テーマ：バイオテクノロジーを活用した新規繊維生物の作出

15年度研究テーマ

15-2-10：顕微授精システムを利用した形質転換動物の作出

ABSTRACT

In laboratory rats, the production of offspring by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and elongating or round spermatid injection (ELSI or ROSI) was successfully achieved. These microinsemination techniques were useful in not only rescuing infertile male individuals but also in producing transgenic rats, as an alternative method of pronuclear DNA microinjection.

研究目的

外来遺伝子の付加、あるいは改変による形質転換動物の作出方法の開発を通して、高付加価値をもつ繊維成分を生産する動物を人工的に作製することを目的としている。

一年間の研究内容と成果

実験小動物のラットにおける系で、精子を卵細胞質内に顕微注入する方法（ICSI：Intracytoplasmic Sperm Injection）あるいは未成熟な円形精子細胞を卵細胞質内に顕微注入する方法（ROSI：Round spermatid injection）で世界で初めて産仔を得ることに成功した。さらに外来遺伝子（EGFP）溶液で処理した精子を顕微授精することで緑色蛍光を発する産仔ラットを得たことから、この ICSI 技術が不妊系統の救済だけでなく、外来遺伝子付加型の形質転換動物の作製方法としても有効なことを見出した。

ラットにおける ICSI の手法を Fig. 1 に示した。準備する注入用ピペットは先端の外径が $2\frac{1}{2}$ 4 μm のもので、精子頭部のハンドリングを容易にするためにややテーパをつけておく必要がある。精子頭部をピペットの先端に引っかけるように吸引し、一旦ピペット外部へ吐き出してから透明帯に穴を開ける（図 1. 左上）。そして再び精子頭部をピペット先端に引っかけて卵細胞膜に押し当て（図 1. 右上）、Piezo パルスで細胞膜を破ると同時に精子頭部を吐き出し（図 1. 左下）、素早くピペットを引き抜く（図 1. 右下）。

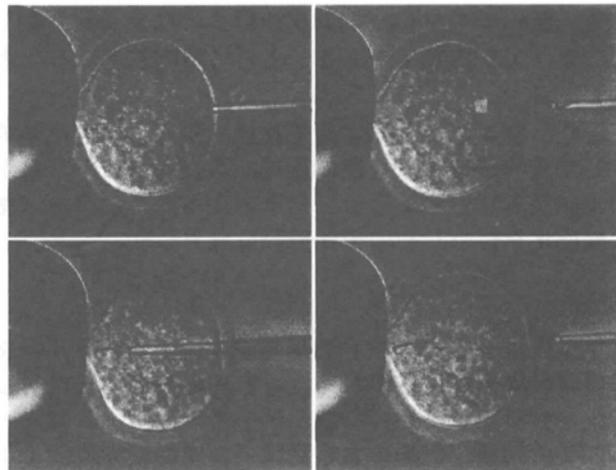


図 1. ラットにおける ICSI の手順

展望

ラットにおいて Piezo マイクロマニピュレーターを活用することにより、ICSI では哺乳類で 11 番目の動物種として、ELSI/ROSI では 4 番目の動物種として、生存産仔を得ることに成功した。遺伝子付加型の形質転換ラットを作製するのであればこれらの顕微授精技術が応用できることも証明できたので、今後は遺伝子の改変を主目的にした技術開発に展開したい。ES 細胞株の樹立や体細胞クローン作製技術が確立されていないラットでは、とくに特定遺伝子機能を破壊したノックアウトラット作製に対する要望が強い。