

課題名	ショウジョウバエ系統凍結保存法の開発
課題管理者	上田 龍 システム研究機構国立遺伝学研究所 生物遺伝資源センター
実施期間	2012 - 2013 年度
概要・実施体制	<p>NBRP「ショウジョウバエ」は、5研究機関／大学のコンソーシアムを組んで、世界最大規模となるショウジョウバエ系統のストックセンター事業を行っている。ショウジョウバエは、歴史的にも様々な努力が為されてきたにもかかわらず、未だに効率的な系統の凍結保存法が開発されていない。一方、近年のゲノム情報および遺伝子工学的技術の発展によって、体系的、大量の変異体作成プロジェクトが進行しており、世界的にも数少ないストックセンターはそれらの系統の保存に苦慮しているのが現状である。</p> <p>本事業はこのようなショウジョウバエ系統の凍結保存法を開発することを目的とする。これまで卵（胚）や精子の凍結保存法が試みられてきたが、本事業においては幼虫卵巣を対象とする。幼虫卵巣は変態時に外部生殖器原基から伸びてきた輸卵管と結合し、成虫の機能的な生殖器を形成する。従って幼虫期に移植された卵巣もある確率で生殖器システムに組み込まれ、成熟した卵を体外に産出することができる。また卵巣では成熟幼虫においてもまだ雌性生殖細胞の分化は起こっておらず、凍結保存耐性も高いのではないかと考えられる。</p> <p>初年度は卵巣の移植効率を実用的なレベルまで高める技術開発を行う。移植用ガラス針作成法の改善、無卵巣ホスト幼虫の有用性についての検定を行い、次年度に卵巣凍結法の開発を行う計画である。</p>
成果	<p>1) 幼虫卵巣移植技術の確立：Needle Puller、Micro Forge、Needle Grinder、それぞれの至適条件を検討し、50um 径の終令幼虫卵巣の移植に最適な狭窄付の鋭利なガラス針を作成。幼虫 154 個体への移植から 53 匹（34%）の成虫が羽化し、妊性のある成虫 47 匹中 14 匹（30%）から移植卵巣由来の F1 個体（計 620 匹）が羽化するまでの結果を得ることができた。最終的な移植成功率は 10%弱となるが、とりあえず系統保存手段として検討可能なレベルと考える。</p> <p>2) 卵巣凍結法の確立：カイコ蛾卵巣の凍結条件を元に凍結保護剤処理時間、凍結時間等の検討を様々に試みた。卵巣に GFP を発現する系統を用い、また vital staining で凍結融解後の卵巣細胞生存条件を検討したところ、negative control に比較してわずかに陽性のシグナルが検出されるまでになっている。より適した条件を探索すると共に、生体への移植による検討が必要である。</p> <p>発表  2012 年 12 月 日本分子生物学会特別展示 <a href="#">ポスター</a>  2013 年 12 月 日本分子生物学会特別展示 <a href="#">ポスター</a></p>