

課題名	生殖細胞の凍結保存と借り腹生産による系統の回復に関する技術開発
課題管理者	吉崎 悟朗 東京海洋大学海洋科学部
実施期間	2012 - 2013 年度
概要・実施体制	<p>メダカでは、近交系や野生の地域集団といった貴重な系統が多く存在する。しかし、魚類では卵の凍結保存が不可能であるため、現在のところ、これらの系統を保存するためには、兄妹交配による継代を行うしかない。この方法は、転位因子や突然変異による系統の変質に加え、飼育施設の事故や、病原体の感染といったリスクが常に存在する。そこで、今回の研究では代表者の研究室がニジマスを用いて世界に先駆けて開発した生殖細胞の凍結保存とその代理親魚への移植による系統の回復技術をメダカへ応用する。第一に、生殖幹細胞を含むメダカ精巣を丸ごとの状態で、ガラス化凍結する方法を確立する。次に、これらの生殖細胞を免疫系が未熟な孵化直後の仔魚の腹腔内へと移植する技術を開発する。これにより移植細胞は宿主の生殖腺へと自発的に移動し、そこで配偶子形成を再開すると期待される。最終的には三倍体の不妊宿主の大量生産系を構築し、これら不妊宿主に細胞移植を施すことで、宿主メダカが移植細胞のみに由来する配偶子、特に卵を生産するシステムを構築する。この技術を完成させることができれば、すでに構築されている精子凍結保存技術とあわせて長期間安定なメダカの系統保存法を完成させることができると期待される。</p>
成果	<p>メダカ精巣を緩慢凍結、およびガラス化することで、メダカ遺伝子資源を長期間保存する技術の構築に成功した。</p> <p>また、これらの精巣組織から細胞懸濁液を調整し、これを宿主メダカの孵化仔魚の腹腔内へと移植することで、ドナー精巣から得られた生殖幹細胞が宿主の卵巣、精巣へと移動し、そこで機能的な卵、精子にまで分化することを確認した。さらに、得られた宿主の雌雄を交配することで、その次世代にドナーに由来する個体を作成することが可能となった。以上のように液体窒素内で長期保存したメダカ精巣組織から機能的な卵、精子を、ひいては授精を介して正常な個体を作り出す技術を構築することに成功した。(プロトコル集 出版予定)</p>