

課題名	カイコの凍結保存技術の開発
課題管理者	伴野 豊 九州大学大学院 農学研究院
実施期間	2014 年度
概要・実施体制	<p>カイコは卵のステージで遺伝的に休眠する性質を持つので、卵状態で系統維持を行っているが、その有効期間は最長で1年である。多様なカイコ系統を安全に維持するには長期保存技術の開発が古くからの課題である。卵巣を利用した雌側の凍結保存技術は第2期の NBRP 事業の中で実用的になってきたが、雄側のゲノムの保存には更なる技術開発が必要である。本課題では、雄側の生殖質の長期保存技術の開発に取り組む。具体的には、生殖細胞（精原・精母細胞）を凍結保存する技術の開発、凍結卵巣で開発した技術の精巣への応用による長期保存法の応用である。生殖細胞（精原・精母細胞）を利用する方法では、保存しようとする系統の精巣内から微小ガラス管を使って精原・精母細胞を採取し、液体窒素下で保存した後、融解してホストとなる雄の精巣内へ移植して回収する計画である。一方、凍結精巣による方法では幼虫期の未分化な精巣を摘出し、凍結保存後、解凍し、ホストとなる個体へ移植する方法を予定している。雄側の生殖質保存と共に雌側の生殖質も同時に保存が出来る受精卵保存についても、新たな凍結法として注目されている CAS (Cells alive system) 冷却装置を用いて検討する予定である。</p>
成果	<p>計画した3つの方法で技術開発の可能性を追究した。その結果、精巣組織全体を用いた凍結保存が、目標とした雄側の生殖質保存技術の開発に有効であるという成果を得た。生殖細胞（精原・精母細胞）、CAS 冷却装置を用いた方法では凍結後に生存する個体を得ることが出来なかった。目標とする技術開発が可能となった精巣組織全体の長期保存技術について以下にその概要を述べる。試験では、2～4 齢期において、雄の幼虫体内から精巣を摘出し、液体窒素下に凍結保護剤と共に凍結保存した。その後、融解した精巣をホスト（宿主）幼虫へ移植した（上図参照）。供試した系統のうち、約半数の系統では凍結保存した精巣由来の子孫を得ることが可能であった。予備試験や過去の研究者の成果においては最大で1割程度の成功率であったので今回得られた成果は予想を超える高い成功率であった。高い成功率をあげることができた理由は、精巣摘出と移植の時期を発育初期から開始した点であると考えている。一般に、より未分化な状態の精巣が、高い凍結耐性を持つことが他の事例で示されている。但し、カイコの場合、2 齢以前の精巣は、大きさが1 mm未滿であって、微細操作が困難で、実用的には3 齢初期が適当であった。本プログラムで得た成果を基に改良を加え、成功率は高くなっており、実用も可能な技術となり、この方法を用いた保存も開始している。</p>

