

要 約

報告番号	① 乙 第 号	氏 名	高 橋 司
<p>主 論 文 題 名</p> <p>Birth of Healthy Offspring following ICSI in <i>In Vitro</i>-Matured Common Marmoset (<i>Callithrix jacchus</i>) Oocytes (コモンマーモセットにおける体外成熟卵子を用いたICSIによる正常産仔獲得)</p>			
<p>(内容の要旨)</p> <p>コモンマーモセット (<i>Callithrix jacchus</i>, 以下マーモセットと略す) は、高い繁殖能力を持つ小型の霊長類であり、2009年にはSasakiらによってレンチウイルスベクターを用いた遺伝子改変マーモセット作出法が確立され、遺伝子改変によるヒト疾患モデルマーモセットのバイオメディカル研究分野への貢献が期待されている。遺伝子改変マーモセットの作出には、多くの受精卵が必要となるが、マーモセットの体外受精法については、1988年に運動精子と卵子を共培養して受精卵を作出する体外受精 (<i>In vitro</i> fertilization : IVF) による産仔獲得の報告があるものの、その後詳細な検討はされておらず、安定した受精卵の作出には至っていない。IVFに代わる受精方法として、ヒトの高度生殖医療で用いられている顕微授精 (Intracytoplasmic sperm injection : ICSI) がある。この技術はマイクロマニピュレーターを用いて卵細胞質内に精子を直接注入するもので、一つの精子で受精卵の作出が可能であり、その運動性も問わないことから、IVFで問題となる精子受精能の個体差や多精子受精を解消できる。また、ICSIは受精機構の解明やレンチウイルスベクター法よりも大きな遺伝子の導入が可能な遺伝子改変個体作出法であるICSI-mediated transgenesisに応用できる非常に有用な技術であるが、これまでマーモセットではICSIによる産仔獲得の報告はない。よって本研究ではマーモセットにおけるICSIの確立を行った。まず始めにICSIを行う至適時間を調べるために、卵巣刺激後の雌マーモセットの卵巣より未成熟卵子を採取して体外成熟培養を行い、核成熟の指標となる第一極体放出後1-2時間 (h)、2-4h、4-6h、6-8hと8-10hにICSIを実施し、発生率を検討した。その結果、核成熟後のICSIの実施時間による授精率に有意な差は認められなかったが、胚盤胞への発生率は1-2h区が低い傾向にあった。次いでICSIの体外発生能を調べるため、体外成熟卵子を個体毎に二等分し、それぞれICSIとIVFを行い、受精率と体外発生率を比較した。その結果、ICSIの受精率 (93.2%) はIVF (82.2%) より有意に高く ($p < 0.05$)、その後の胚盤胞への発生率に差はなかった。さらにICSI胚の個体発生能を調べるため、6-8細胞期胚21個と胚盤胞37個を仮親に移殖した結果、合計7匹 (6-8細胞期胚から6匹、胚盤胞期胚から1匹) の産仔を獲得し、マイクロサテライトマーカーによる解析により全ての産仔がICSI胚由来であることが示された。</p> <p>以上本研究により、マーモセットにおいて世界初のICSIによる産仔獲得に成功し、効率的な受精卵作出法を確立した。</p>			