

マウスにおける超過剰排卵誘起剤の
実用化について
- 1匹の雌マウスから100個の卵子 -

(概要)

熊本大学 生命資源研究・支援センター 動物資源開発研究施設 (CARD) の 中潟直己教授、竹尾透講師らは、1匹の雌マウスから100個以上(従来法の3~4倍)の卵子を排卵させる技術を開発し、平成27年6月1日付けプレスリリースにて、発表したところですが、このたび、九動株式会社より実用化され、平成27年11月16日付で販売開始されることとなりました(製品名: CARD HyperOva)。

これにより、より効率的な実験動物の繁殖に繋がり、ひいては卵子を採取する雌の数を大幅に減少させ、実験動物の愛護・福祉に寄与することが可能です。また、超過剰排卵誘起法が未だ確立されていないラット、ハムスター、モルモットなどへの応用の可能性が極めて高く、今後その利用範囲がさらに広がるものと思われま

(説明)

熊本大学 生命資源研究・支援センター 動物資源開発研究施設 (CARD) では体外受精システムに関する技術開発に取り組んでおり、汎用的に実施できるよう、開発した技術を基にしたキットの実用化に努めて参りました。その結果、これまでに新規の凍結保存方法等を開発し、極めて高い受精率が得られる体外受精システムを確立しました(Fertiup®, CARD MEDIUM®として九動株式会社より商品化)。

効率的に体外受精を行うためには、1匹の雌からいかに多くの排卵卵子を得るかが重要になります。しかし、これまでの過剰排卵誘起法では、1匹の雌から平均20個程度の排卵卵子しか得られませんでした。

熊本大学 生命資源研究・支援センター 動物資源開発研究施設 (CARD) の 中潟直己教授、竹尾透講師らは、1匹の雌マウスから100個以上(従来法の3~4倍)の卵子を排卵させる技術を開発しました(特許出願中: 特願 2015-092485)。

(→ 別紙 平成27年6月1日付けプレスリリース参照)

この度、九動株式会社より実用化された超過剰排卵誘起剤が平成27年11月16日付で販売開始されることとなりました(製品名: CARD HyperOva)。

本技術の利用効果としては、以下のとおり期待しております。

- (1) 使用動物数の軽減

卵子採取に用いる雌の数を 1/3 ~ 1/4 以下に減らすことが可能です。実験動物の使用匹数の削減は、実験動物の愛護・福祉の重要な柱の一つです。ライフサイエンス研究という観点からのみならず、実験動物の愛護・福祉に対する社会的配慮と言う観点からも極めて意義深いもので、国際的に高い評価を得る様々な研究の推進に寄与することができます。

(2) 遺伝子改変マウスの作製・収集・保存・提供の効率化

少数の雌マウスから大量の卵子を排卵させることで、体外受精や胚移植が容易になります。よって、遺伝子改変マウスの収集・保存・提供の効率化を図ることが可能となります。

(3) 他の動物種への応用

超過剰排卵誘起法が未だ確立されていないラット、ハムスター、モルモットなどへの応用の可能性が極めて高く、今後その利用範囲がさらに広がるものと思われます。

熊本大学生命資源研究・支援センター 動物資源開発研究施設(CARD) では、これまでに様々な生殖工学技術の開発・改良を行い、マウスバンクシステムの効率化を図って参りました。当センターのバンクシステムには、以下の2つがあります。一方は、マウスの寄託を受け、保存された系統(遺伝学上の血統)について情報を公開し、第三者へ広く供給する「寄託・供給システム」で、マウスのCARDへの輸送や凍結保存経費など、寄託に関する一切の経費は無料であり、WEB公開・供給に関しては共同研究に限る、研究目的により制限する、樹立者の承諾を得る、一定期間は分与不可とする等の条件をつけて寄託することも可能です。

供給に関しては、有料(実費)で、WEBで公開された情報を閲覧した供給依頼者が、寄託者と承諾書の取り交わし、CARDへ個体または胚/精子の供給申し込みを行うシステムとなっています。他方は、有償にてマウス胚/精子の凍結保存サービスを行う「プライベートバンクシステム」で、保存したマウスを第三者へ分与しない、そのマウスの情報を公開しないという条件で実施しています。また、依頼者本人にのみ、凍結した胚や精子から個体を作製、供給するサービスも行っています。

今後、開発した超過剰排卵誘起法を様々な形で上記マウスバンクシステムに応用することで、更なる効率化を図っていきたいと考えています。より多くの研究者皆さまのご利用を期待しております。なお、本技術を含めた生殖工学技術は、オンラインマニュアル(<http://card.medic.kumamoto-u.ac.jp/card/japanese/manual/index.html>)でも公開しています。

【お問い合わせ先】

熊本大学生命資源研究・支援センター
動物資源開発研究部門(CARD)・資源開発分野
担当：中潟直己
電話：096-373-6564
e-mail: nakagata@kumamoto-u.ac.jp

平成 27 年 6 月 1 日

報道機関 各位

熊本大学

1 匹の雌マウスから 100 個の卵子を排卵させることに成功！

(概要説明)

現在、遺伝子破壊マウス（ノックアウトマウス）^{*1}のバックグラウンドである C57BL/6 系統マウスにおいて、通常の過剰排卵誘起で得られる卵子数は平均 20 個前後であり、排卵数が 10 個以下であるケースもしばしばです。排卵数が少ないということは研究効率化の妨げとなっているだけでなく、採卵はマウスを安楽死させて行うため、多数の雌を犠牲にしなければならないことも、動物の愛護・福祉の観点からきわめて大きな問題となっていました。

そこで、今回、私たちは超過剰排卵誘起法を開発し、**1 匹の雌マウスから 100 個の卵子を排卵させることに成功しました。**

これらの卵子は、体外受精-胚移植により正常な 2 細胞期胚^{*2}（図 1）および産子（図 2）へ発生することも確認されており、今後のノックアウトマウスの大量作出に極めて有用な技術となり得るものと期待されています。

この超過剰排卵誘起法は、ナショナルバイオリソースプロジェクト 基盤技術整備プログラムの支援により、生命資源研究・支援センター 動物資源開発研究部門 (CARD)・資源開発分野の中潟直己教授、竹尾 透講師らのグループが開発したものであり、その成果は 5 月 29 日に PLOS ONE に発表されました。

論文著者・タイトル

Superovulation using the combined administration of inhibin antiserum and equine chorionic gonadotropin increases the number of ovulated oocytes in C57BL/6 female mice. Takeo Toru, Naomi Nakagata

掲載雑誌

PLOS ONE

May 29, 2015DOI: 10.1371/journal.pone.0128330

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0128330>

30

ISTT blog (International Society for Transgenic Technologies BLOG)

<http://transtechsociety.org/blog/?p=1575>

(説明)

近年、ヒト遺伝子は2万数千程度であることが明らかになりました。その全遺伝子の機能を解析するために、世界中で個々の遺伝子を破壊したノックアウトマウスを網羅的に作製し、それらマウスの基礎的表現型（実際に現れる遺伝的な性質）の解析が精力的に行われています。そのために遺伝子改変マウスの作製・収集・保存・提供の効率化が必要とされています。

しかしながら、ノックアウトマウスを迅速、大量かつ効率的に作製するためには、体外受精-胚移植技術の確立が必須であり、1匹の雌から多数の卵子を排卵させる超過剰排卵誘起法の開発が望まれていました。

●従来の超過剰排卵誘起法

マウスにおける従来の超過剰排卵誘起法は、妊馬血清性腺刺激ホルモン(PMSG: 卵胞刺激ホルモン(FSH^{※3}様ホルモン))を投与することで、多数の卵胞を発育させるものですが、1匹の雌マウスから得られる排卵数は、多くても30個が限度でした。

●新規開発した超過剰排卵誘起法の原理と方法

インヒビンは発育卵胞中から放出されるホルモンで、下垂体(ホルモンを分泌する内分泌器官)から分泌されるFSHの分泌量調節因子として、排卵数を制限するため、PMSGの単独投与では限られた排卵数しか得られませんでした。そこで、抗インヒビン血清を用いて雌の体内のインヒビンを中和することでFSHの分泌を過剰に促進し、同時にPMSGを投与することで多数の卵胞を発育させることにより、1匹から100個以上(従来法の3~4倍)の卵子を排卵させることに成功しました(超過剰排卵誘起法)(図3)。

●利用効果

(1) 使用動物数の軽減

卵子採取に用いる雌の数を1/3~1/4以下に減らすことが可能です。実験動物の使用匹数の削減は、実験動物の愛護・福祉の重要な柱の一つです。

ライフサイエンス研究という観点からのみならず、実験動物の愛護・福祉に対する社会的配慮と言う観点からも極めて意義深いもので、国際的に高い評価を得る様々な研究の推進に寄与することができます。

(2) 遺伝子改変マウスの作製・収集・保存・提供の効率化

少数の雌マウスから大量の卵子を排卵させることで、体外受精や胚移植が容易になります。よって、遺伝子改変マウスの収集・保存・提供の効率化を図ることが可能となります。

(3) 他の動物種への応用

超過剰排卵誘起法が未だ確立されていないラット、ハムスター、モルモットなどへの応用の可能性が極めて高く、その利用範囲がさらに広がるものと思われます。

●今後の展開

現在、特許申請中であり（特願 2015-032354）、本排卵誘発剤を企業から発売予定です。

●用語の説明

※1 ノックアウトマウス (Knock-out mouse)

遺伝子操作により1つ以上の遺伝子を欠損させたマウス。遺伝子の塩基配列は決定しているものの、その遺伝子産物の機能が不明な場合にその機能を推定するための重要なモデル動物。

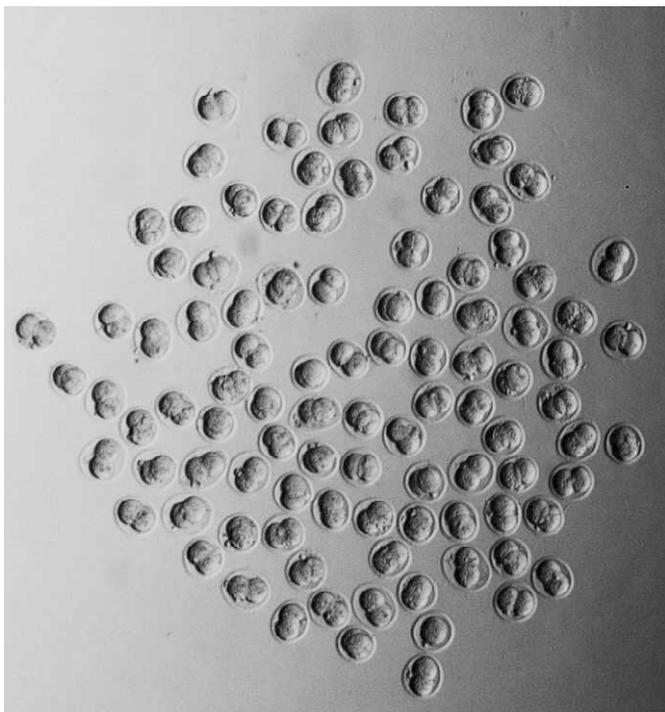
※2 2細胞期胚：

卵が分裂して2個の細胞になった状態。受精卵は発生の過程で2個、4個と分割を繰り返して成長する。

※3 FSH

卵巣に存在する卵胞を刺激して、発育を促す働きを持つホルモン。

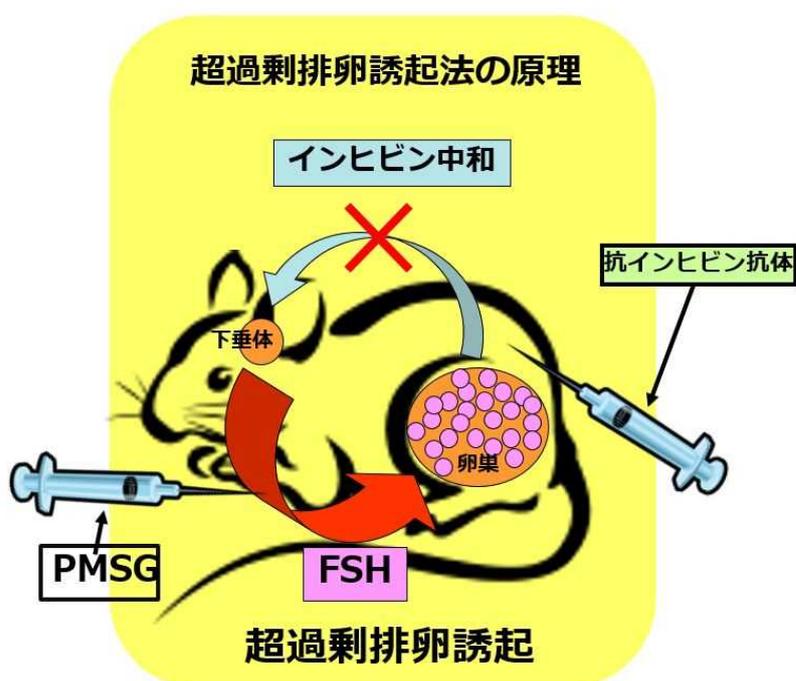
【図 1】 1 匹の雌マウスから排卵された卵子を体外受精して得られた 2 細胞期胚



【図 2】 1 匹の雌マウスの卵子から得られた 2 細胞期胚を仮親の卵管に移植して生まれた産子



【図3】 超過剰排卵誘起法



【お問い合わせ先】

熊本大学生命資源研究・支援センター
動物資源開発研究部門(CARD)・資源開発分野
担当：中潟直己
電話：096-373-6564
e-mail: nakagata@kumamoto-u.ac.jp