

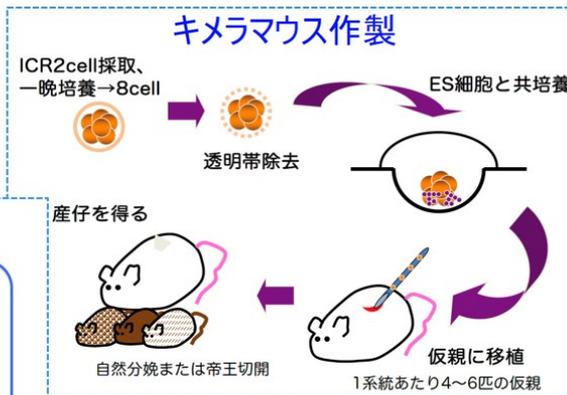
単独では高寄与率のキメラを得ることの困難な ES 細胞から、ヘルパーES細胞を用いることにより生殖系キメラを得る手法

教授・荒木 喜美

生命資源研究・支援センター 疾患モデル分野

▶ 研究内容

ES細胞からマウスラインを樹立する場合、ES細胞と正常マウス胚でキメラマウスを作製、生殖細胞にES細胞が寄与した生殖系キメラを得て交配する。



「良くない」ESとモルラ胚でキメラを作ると？

移植後、マウスが生まれない
生まれた仔の中に、100%キメラがない
生まれるものの、100%キメラに限って育たない
キメラ由来の精子が出来ない

精子形成能のないES細胞をヘルパー細胞として使用、**育たないES細胞**を混合してキメラを作製すれば、100%キメラの発育を補えるのでは？

しかし、ES細胞の状態が良くないと、個体発生が正常に進まず、生まれてこない、あるいは、生まれても成長不良などで、生殖系キメラは得られない。

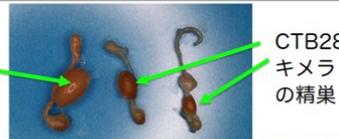
それが、ただ1クローンしかない貴重なものだった場合、マウス系統樹立は不可能となってしまふ。

CTB28細胞を用いると精子のできないキメラができる

CTB28細胞：カテプシンB遺伝子KOの際得られたクローンであるが、カテプシンBは期待通りノックアウトされていない。

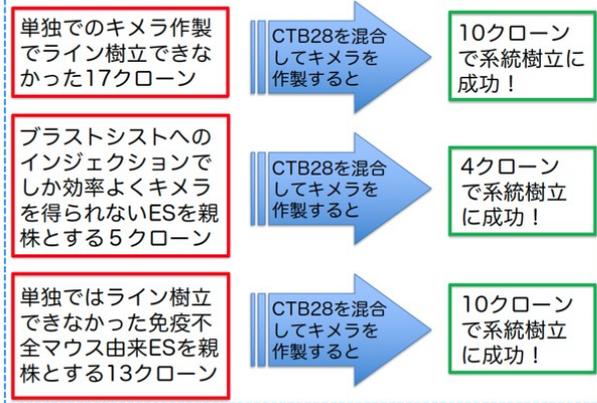
| 実験 | 移植胚数 | 仮親数 | 離乳した100%キメラ数 | 精子の得られたマウス数 |
|------------|------|-----|--------------|-------------|
| CTB28 exp1 | 100 | 4 | 7 | 0 |
| CTB28 exp2 | 150 | 6 | 15 | 0 |

CTB28のキメラでは全く精子は得られなかった。
正常個体の精巣



我々は、多くのキメラマウスを作製してきたが、その中で、キメラ率の高いキメラは生まれるものの、精子形成能に異常があり、系統を樹立できないES細胞クローン、CTB28を見出した。

CTB28細胞を用いたレスキュー



このCTB28をヘルパー細胞として使用、ES細胞と混合してアグリゲーションキメラを作製することで、単独では生殖系キメラを得られなかったES細胞においても、マウスラインを樹立する技術を開発した。
今まで blastocyst injection が必要だったESでもこのヘルパーを用いれば、ICR胚との共培養によるキメラ作出が可能になるので、**低コストでキメラ作製ができるようになる。**

▶ 提供できる技術

ヘルパーES細胞の供給 共培養によるキメラ作製技術 ヘルパーES細胞との共培養に適したC57BL/6N由来のES細胞株の供給

▶ 応用分野等

免疫不全マウスや疾患モデルマウス 野生型の細胞とのキメラにする事で病態が改善される場合 など、増えにくいマウス系統を自然交配で効率よく増やしたいとき、このヘルパーES細胞とのキメラマウスにすることで、免疫不全や疾患による交配不良が回避され、増やしやすくなると期待される。

▶ 特許

特願2012-531892 マウス系統を樹立する方法

▶ キーワード

ES細胞 キメラマウス 生殖系列キメラ 共培養によるキメラマウス作製

《ご連絡先》 コーディネータ 藤江 康光 TEL 096-342-3209 FAX:096-342-3239 mail:y-fujie@jimu.kumamoto-u.ac.jp