

和文要約

体細胞核移植技術は、家畜の育種や遺伝資源の保存、トランスジェニック動物の作製などに有効であるとともに、発生学や発生工学の研究手法としても重要である。これまで多くの家畜において核移植動物が作製されているが、家禽への応用はなされていない。

家禽では、PGCsの移植による生殖系列キメラの作製が可能であることから、PGCsも有効な体細胞核レシピエントとして用いることができる可能性がある。そこで、本研究では、体細胞核移植 PGCsの作製を目的として、(1)紫外線による PGCsの機能的除核、(2)PGCsと体細胞の電気融合、および(3)核移植 PGCsを用いた生殖系列キメラの作出について、検討を行った。

ニワトリ PGCsは、核が極めて大きい細胞であり、物理的除核は難しいと考えられるため、紫外線の照射による機能的除核法を用いることとした。紫外線照射 PGCsは、明らかな DNA 損傷を受けているものの、その生存性には変化がなく、生殖腺原基への移住能も保持していた。従って、紫外線照射 PGCsは、核レシピエントとして利用できる可能性が高いと思われる。

体細胞として胚性血球細胞(EBCs)を用い、電気融合法により PGCsへの核移植を行った。細胞を整列させる AC フィールド、および細胞融合を誘導する DC パルスの電氣的条件のほか、融合液の濃度および細胞密度について検討した。その結果、細胞密度による融合効率の差は認められなかったが、AC フィールド：350 V/cm、60 秒間、DC パルス：4 kV/cm、3 回、融合液濃度：0.25 M の時に、約 10%の PGCsが EBCsと融合することが明らかとなった。

最後に、作製された核移植 PGCsをレシピエント 2 日胚の血液中

に移植した。レシピエント胚をさらに 7 日間孵卵した後、その生殖腺から核移植 PGCs を検出することができた。この結果は、核移植 PGCs が生殖腺に移住し、レシピエント胚が生殖系列キメラ胚となったことを示すものである。

以上の結果より、紫外線照射による PGCs の核の機能的除核、および電気融合により、核移植 PGCs が作製できること、そして核移植 PGCs を用いて生殖系列キメラが作製できることが示された。

今後は、核移植 PGCs 作製効率の向上を図るとともに、核移植 PGCs の機能的解析を行い、最終的に体細胞由来産子の生産が強く期待される。