

報道機関 各位

熊本大学

遺伝子改変ラット精子の凍結保存の効率化に成功

(ポイント)

- 凍結保存が極めて困難であったラット精子の凍結保存を効率化できる新たな技術の開発に成功した。
- 凍結精子を用いた体外受精・胚移植により、1匹の雄ラットから300匹以上の産子を作製することが可能になった。
- 精子の凍結保存技術は、医学研究への需要が増加している遺伝子改変ラットの系統維持に活用できる。

(概要説明)

熊本大学生命資源研究・支援センターの中潟直己教授・竹尾透講師らのグループは、ラット精子の効率的な凍結保存に成功しました。

ラット精子は、他の動物種の精子の2～4倍の大きさであり(図1)、pH、浸透圧、温度等の物理的変化によるダメージを受け易いため、凍結保存技術の開発が極めて困難でした。中潟教授らは、できるだけ精子に物理的刺激を与えない新たな凍結方法を考案し、凍結融解精子の運動性を損なわず、効率的に受精卵および産子を作製する技術を確立しました(図2)。

精子の凍結保存法は、受精卵の凍結保存法よりも試料の採取方法が容易であり、1匹の雄ラットから多くの細胞を得ることができます(5千万～1億匹)。近年、ゲノム編集技術を用いて、ヒトの病気の治療法の開発に有用な遺伝子改変ラットが次々と作製されており、遺伝子改変ラットの系統の効率的な保存技術が求められています。今回中潟教授らが開発した技術は、遺伝子改変ラットの効率的な保存や利用を促進し、難病に対する治療法の開発を加速させることが期待できます。

本研究成果は、令和2年1月9日付の英科学誌「Scientific Reports」電子版において公開されました。

(説明)

ラット精子の凍結保存は、約20年前に開発されましたが、融解後の精子の運動性は極めて悪く、夜中(午後10:00～11:00)に雌の子宮内へ人工授精を実施しないと産子が得られず、また得られる産子数が少ないことから、実用

化があまり進んでいませんでした。

そこで、中瀉教授らは、融解後も良好な運動性が得られるラット精子の凍結保存法の開発に精力的に取り組んできました。凍結する過程で精子が動いていると融解後に運動性のある精子が得られないことがわかっていたため、まず、凍結する前に精子を氷上で冷やし、できるだけ精子の運動性を停止させました。すると、融解後、運動性のある精子がわずかに認められました。さらに、融解した精子をゆっくりと時間をかけて保存液から体外受精用培養液に移したところ、比較的良好な運動性のある精子が得られました。

このようにして開発した凍結法を用いて、緑色の蛍光を発する遺伝子改変ラット（EGFPラット）精子の凍結保存を行い、融解後、これらの精子を用いて体外受精を試みました。驚いたことに、受精率は80%を超え、得られた受精卵を仮親へ移植した結果、1匹の雄ラットから得たラット精子から、300匹以上の産子を作製することに成功しました（図3）。

ラットはマウスの約10倍の大きさであり、膨大な飼育スペースとコストが必要であることから、今回開発した「良好な成績が得られるラット精子の凍結保存技術」は、世界中で作製されている遺伝子改変ラットの系統保存技術として大きく貢献するとともに、急速に普及、グローバルスタンダードとなることが期待されます。

本研究は、熊本大学・九動株式会社共同研究事業の支援を受けて行ったものです。

（論文情報）

論文名：Establishment of sperm cryopreservation and in vitro fertilisation protocols for rats

著者：Naomi Nakagata, Nobuyuki Mikoda, Satohiro Nakao, Ena Nakatsukasa & Toru Takeo

掲載誌：Scientific Reports

doi：<https://doi.org/10.1038/s41598-019-57090-7>

URL：<https://www.nature.com/articles/s41598-019-57090-7>

（特許出願情報）

発明の名称：ラット精子の凍結方法および該方法で保存したラット精子を用いた体外受精方法

出願番号：特願 2019-231190

出願人：国立大学法人 熊本大学

発明者：中瀉直己、竹尾透、三小田伸之

図1. ラット精子 (全長約 200 μ m)

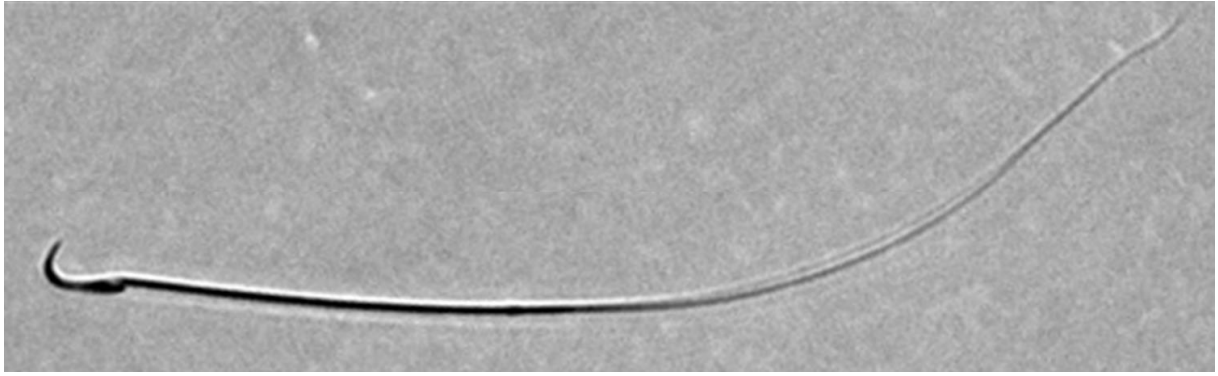


図2. 凍結ラット精子からの産子作製システム

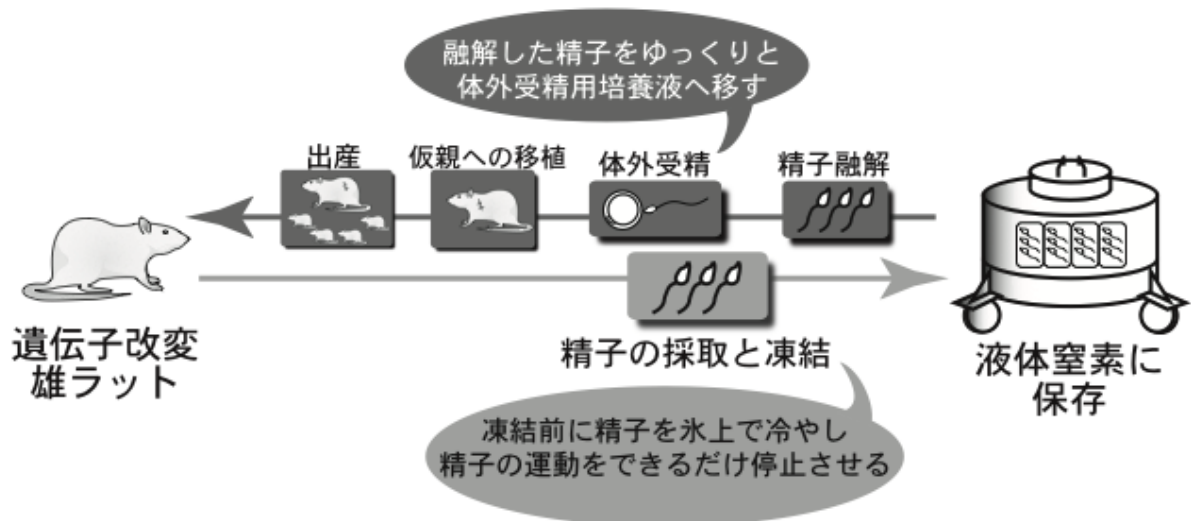


図 3. EGFP 凍結精子由来ラット産子 (右が緑色の蛍光を発している産子)



【お問い合わせ先】

熊本大学生命資源研究・支援センター

担当：中瀬直己

電話：096-373-6564

e-mail：nakagata@kumamoto-u.ac.jp