# 行動代謝分子解析センター CENTER FOR GENETIC ANALYSIS OF BEHAVIOR

遺伝子改変動物作製室 Section of Mammalian Transgenesis

#### 職員(Staff)



#### 助教授 平林真澄

名古屋保健衛生大学(現:藤田保健衛生大学)衛生学部卒,農学博士。雪印乳業株式会社生物科学研究所研究員,(株)ワイエスニューテクノロジー研究所発生生物学研究室室長,生理学研究所客員助教授を経て,平成14年4月から現職。 専攻:実験動物学。

# Associate Professor: HIRABAYASHI, Masumi, PhD

1981 Graduated from Faculty of Hygiene, Fujita Health University. 1981 Research Fellow, Laboratory Animal Center, Fujita Health University. 1983 Researcher, Research Institute of Life Science, Snow Brand Milk Products, Co. Ltd. 1992 Group Leader, YS New Technology Institute, Inc. 2001 Adjunct Associate Professor, 2002 Associate Professor, NIPS. Speciality: Laboratory Animal Science

## 研究内容

ポストゲノム時代の到来により、脳機能のような複雑な生物反応機構の解明に科学がどこまで迫れるかが問われることになった。よって、外科的手術が容易で、脳地図の解析が進み、かつ心理生理学的解析にも汎用されているラットが、今後ますます分子レベルの研究に利用されてくるだろう。遺伝子改変動物作製室では、遺伝子改変動物(マウス、ラット)の作製技術を提供しつつ、内在性の遺伝子を狙って破壊したノックアウトラット作製技術(マウス以外では作製不可能)の開発、ならびに外来遺伝子を導入したトランスジェニックラット作製の効率改善を目的として、以下の研究を行っている。

#### (1)クローンラット作製技術の確立

核移植(クローン作製)技術を応用することにより、体細胞等の細胞からキメラを介することなくノックアウトマウスが作製できると証明された。しかしラットの卵母細胞は第二減数分裂中期で減数分裂を停止していないことがクローン個体の作製を困難にしている。われわれはラット卵母細胞における細胞分裂停止因子(Cytostatic factor: CSF)の正体とその役割を追究しており、得られた知見を元にクローン作製に最も適したラット系統を選抜し、クローン個体の作製方法を確立しようとしている。

(2)トランスジェニックラット作製の効率化

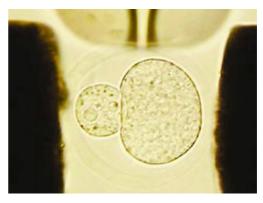
外来 DNA を前核期卵子に顕微注入する方法, および精子

に外来 DNA を付着させて顕微授精する方法のいずれでも、トランスジェニック動物が作出される割合は著しく低い。外来 DNA の導入卵子は細胞周期が G1ステージに入るたびに発生遅延・阻害を受けることから、この現象の原因を追究しつつその回避策を模索している。発生阻害を受けずに分娩に至る個体数を増やすことを狙い、結果的に総処理卵子に対するトランスジェニックラットの作製効率を改善しようとしている。

#### Research works

Our research subjects include the reproductive biotechnology to understand gamete interactions during fertilization and the development of novel methodology to produce transgenic animals. Among them, we have a special interest in the increasing demand for production of gene-targeted (KO: knock-out) rats because use of rats rather than mice is advantageous in aspects of microsurgery and mapping of brain functions. Embryonic stem cell line and nuclear transfer (cloning) protocol have not yet been established in rats, attributing to slow progress of brain research. At present, we devote all our skills (e.g. in vitro fertilization, animal cloning, microinsemination) to look for the possibility of producing KO rats, and also provide collaborative services to produce transgenic mice and rats by pronuclear DNA microinjection or intracytoplasmic sperm injection (ICSI)-mediated DNA transfer.

# ラットにおける生殖工学技術 Advanced Reproductive Technology in Rats



#### A)ラットの核移植

## A) Nuclear transplantation in rats

連続核移植によるクローン胚の作製;ラット体細胞核を除核未受精卵子に導入後,薬剤処理により活性化させる。形成した疑似前核と除核受精卵をこのように電極ではさみ,直流パルスをかけて融合させる。

Production of cloned rat embryos by serial nuclear transplantation (NT); Somatic cell nuclei are injected into enucleated oocytes (1st NT), and the couplets are activated with a chemical treatment. The karyoplast containing pseudo-pronucleus of the 1st NT embryos and enucleated zygotes are fused by a DC pulse (2nd NT).



# B)ラットの顕微授精

B) Intracytoplasmic sperm injection in rats

卵細胞質内精子顕微注入法による受精卵の作製;排卵後のラット裸化 未受精卵子に釣り針状の形をした精子の頭部1個だけをピエゾマイクロ マニピュレーターを用いて注入する

Production of fertilized rat oocytes by intracytoplasmic sperm injection (ICSI); A single fishhook-shaped sperm head is microinjected into ovulated and denuded oocytes with the aid of Piezo-micromanipulators.