遺伝工学基盤技術室

Bioresource Engineering Division

室長 小倉 淳郎

OGURA, Atsuo

当室は、理研バイオリソースセンター（BRC）が各リソース、特に実験動物および幹細胞をより高度なクオリティにて維持供給するために必要な遺伝関連技術開発、特に体細胞核移植クローン法、顕微授精法、胚・配偶子の各種保存法ならびに各種幹細胞の樹立法の開発を行っている。本年度は主にマウス、一部ウサギおよびサル胚・配偶子・細胞を材料としてこれらの技術を開発した。マウスクローンでは、初期胎盤の解析、新しい細胞種での産子作出、自然交配停止の系統マウスからの ntES 細胞の樹立に成功した。顕微授精では、亜種間の顕微授精と近交系の顕微授精の基礎データを蓄積し、また精巣上体および精巣の丸ごとの簡易凍結技術を確立した。胚・配偶子凍結技術の開発では、初期胚および精子凍結保存の各系統の基礎データを確立した。幹細胞の開発では、マウスおよびウサギの新生仔精巣および卵巣から生殖幹細胞コロニーを作出した。以上の技術は、マウスバンク業務の効率化、即ち安定したマウス遺伝資源の輸送および保存に応用されることが期待される。

1. 核移植クローン技術の開発

(1) 造血幹細胞クローンにおける低効率の原因解明（井上，越後貫，三木 *¹，小倉）

昨年度中に造血幹細胞（HSC）をドナーとした場合に、発生効率に大きな差が観察されることを明らかにした。この傾向は移植後の胚発生においても同様で、クローン産仔率は同系統の他の細胞種と比較して HSC クローンの方が低い傾向があった（雌：卵丘細胞 2.0% [9/454] vs. HSC 0% [0/53]，雄：セルトリ細胞 7.4% [6/81] vs. HSC 0.8% [2/252]）。この低効率の原因を明らかにするために、embryonic gene activation が開始される 2 細胞期胚において、発現開始時期が早い 5 種類の遺伝子発現を定量 RT-PCR で解析したところ、translation に重要な働きを持つ遺伝子 1 種類において HSC 胚における明らかな低下が観察された。今後はさらに詳細な解析を進める予定である（BRC 細胞運命情報解析技術開発サブチームとの共同研究）。

(2) 組織幹細胞を用いた体細胞クローンマウスの作製（井上，越後貫，三木 *¹，小倉）

造血幹細胞以外の組織幹細胞をドナーとしたクローン作製を試みた。初めに、成体由来の分化能確認済み間葉系幹細胞（MSC）クローンマウス作出を試みたところ、移植胚数に対して、着床率が 0 であった（0/78）。そこで、MSC の染色体数を解析したところ、モノソミー、トリソミー、倍加などが見られた。MSC は樹立の際に長期の培養を行っているため、その過程で染色体異常などが起こりやすく、クローンの核ドナー細胞としての利用は困難であることが明らかとなった。一方、胎仔に由来する sphere 型神経幹細胞（NSC）を核ドナーとした場合には、移植胚数に対し 1.6% の効率で産仔が得られ（7/189）、NSC は核ドナー細胞として十分に利用可能であることが明らかとなった（BRC 細胞運命情報解析技術開発サブチーム、BRC 実験動物開発室との共同研究）。

(3) Natural Killer T-cell（NKT 細胞）を用いた体細胞クローンマウスの作製（井上，越後貫，三木 *¹，小倉）

本研究ではすでに DNA 再構成を起こしたリンパ球の一種である NKT 細胞を核ドナーとしてクローンマウスを作出し、その次世代マウスの作製とその解析を行った。これまでに得られた 4 匹のクローンマウスの内、生存した 2 匹の雄を B6 雌と交配させ、F1~F3 マウスを獲た。その内、TCRV α , β ともに rearranged allele を homozygous で有している個体同士を交配させて、系統化を進めている。（RCAI 免疫制御研究グループとの共同研究）

(4) マウスクローン初期胎盤の異常発生の解析（井上，三木 *¹，越後貫，小倉）

マウス体細胞核移植クローンは、その産仔発生率が著しく低いことが知られており、特に着床後早期の発生停止は核移植クローン特有の現象と言える。そこでこの着床後の発生停止の原因を検討するために、初期胎盤形成に着目し、その観察および実験的検討を行った。胚移植後の子宮を 9.5 dpc で組織学的に検索したところ、着床部位あたり 31%（22/70）が尿膜絨毛膜を形成しており、そのうち約 1/4 の着床部位に生存産仔を確認した（8%、6/70）が、それらのほぼすべては胎盤外円錐（EPC）部を欠損していた。そこで、核移植胚盤胞から、EPC 細胞の増殖因子である FGF4 を添加した培養液で、trophoblast stem（TS）cell の樹立を試みたところ、44%（12/27）の効率で樹立に成功した。また RT-PCR による解析から FGF4 発現の低下が確認され、クローン胎盤異常に ICM からの EPC 増殖刺激の関与が示唆された。

(5) 自然交配停止系統からの核移植由来 ES（ntES）細胞の樹立（廣瀬，井上，三木 *¹，越後貫，小倉）

理研 BRC における系統マウスの復活のための ntES 細胞の樹立を試みた。自然繁殖を停止したりコンピナント近交系の雌と雄成熟個体より胸骨付近線維芽細胞を用いて電気融合法による核移植を行い、得られた胚盤胞より ntES 細胞を作出した。核移植率（融合率）は約 70% であり、培養胚あたり約 50% が胚盤胞へ発生した。これらの胚盤胞を用いて、DDXC-P 系統雌 3 株、同雄 1 株、CXDD-M 系統雌

5 株の ntES 細胞を樹立した。以上のように、多数の胚盤胞を一度に作出できる核移植技術を用いることにより、系統保存用の ntES 細胞を効率的に樹立できることが示された。

2. 顕微授精技術の開発・応用

(1) 簡易凍結保存した精巣上体と精巣由来の精子・精子細胞を用いたマウス産子の作出 (越後貫, 持田, 新免 *2, 大川 *3, 三木 *1, 井上, 小倉)

雄性配偶子の簡便な凍結保存技術の開発を目的として、マウス精巣上体と精巣を intact でディープフリーザー凍結保存を行った。融解後、精巣上体精子、精巣精子および円形精子細胞を採取し、マウス未受精卵へ顕微注入したところ、保存期間 (1 週間から 7ヶ月間)、マウス系統 (ICR および C57BL/6) に関わらず、全ての試験区で産子が得られた。しかし、精巣上体精子由来胚は精巣精子および円形精子細胞由来胚に比較して着床率 (26, 60, 64%), および産子率 (3, 33, 26%) が低い傾向が見られた。精巣上体精子注入胚の染色体検査を行ったところ、染色体の損傷が一部の胚に確認された。そこで細胞ダメージを極力抑える培養液を融解後の精子浮遊液として用いたところ、着床率、産子率の改善が確認された。また、英国 MRC (The Medical Research Council) から同様に凍結した C57BL/6 精巣をドライアイス便で受け取り、顕微注入を行ったところ、産子の作出に成功した。本方法により、配偶子の採取やその凍結操作を行わなくても、配偶子を -80°C において保存できることが明らかになった。この方法は特に海外の凍結技術を持たない施設から系統分与を受ける際に有効であると期待される。

(2) 顕微授精を用いた亜種間雑種胚および産子の効率的作出 (新免 *2, 大川 *3, 廣瀬, 持田, 井上, 越後貫, 三木 *1, 本多 *4, 小倉)

顕微授精技術は、胚を計画的に多数作出することができる技術である。そこで顕微授精技術を用いて、様々な遺伝的多型解析に有用な、実験マウスと野生マウスの亜種間雑種の作出効率を検討した。B6D2F1 マウス卵子へ野生マウス (JF1, MSM, SWN, HMI) の凍結精子を注入した。その結果、分割率は 71.6~84.6%, 産仔作出率は 23.3~45.1% と極めて安定していた。HMI-F1 胎盤においては典型的な種間胎盤形成異常 (HSPD) が見られた。また、すべての組合せで、胎仔および産子への精子 mtDNA の伝達が見られた。また、B6 卵子と MSM 精子を用いた顕微授精由来胚盤胞から雑種 ES 細胞の樹立にも成功した。以上のように、顕微授精技術は、マウス遺伝学に供する亜種間雑種を効率的に作出する技術として優れていることが明らかになった。

(3) マウス 6 系統を用いた顕微授精の基礎データ集積およびその解析 (大川 *3, 新免 *2, 越後貫, 持田, 小倉)

マウス顕微授精の効率は、用いる系統や精子の成熟度など多くの因子に影響されることが経験的に知られているが、これらの因子の単独あるいは複合的影響についての詳細な検討は行われていない。そこでさまざまな遺伝子型 (マウス系統), 精子成熟度 (精巣上体精子, 円形精子細胞, 伸長精子細胞), およびこれらの凍結の 3 つの因子が顕微授精に与える影響について統計的に解析を行った。卵子と精子 (細胞) は同じ系統の組合せとした。ICR, DBA/2, C57BL/6, C3H/He, 129/Sv の 5 系統を用いた。3 つの因子の組合せ

それぞれについて 2 回以上の実験を行い、卵子の生存率と分割率、2 細胞期胚移植後の着床率および産子率について、arcsine transformation 後に分散分析を行った。その結果、注入後の卵子生存率は、DBA/2 卵子および円形精子細胞が最も生存率が高かった。分割率は、精子成熟度に影響され、精子が最も成績が良かった。産子率は、精子成熟度に影響され、伸長精子細胞が最も成績が良かった。いずれの率についても、3 つの因子間に交互作用はなく、これらの因子が独立に影響していることが示された。

3. マウス初期胚および精子の凍結保存と体外受精に関する技術開発

(1) マウス各系統の体外受精成績の調査 (持田, 大川 *3, 小倉; 平岩, 小林, 小木曾, 宮崎, 藤田 (BRC 実験動物開発室))

2004 年 12 月末までに 587 系統 (のべ 1,768 回) の体外受精を行った。それぞれの受精率全体の平均は 69% であり、そのうち近交系 56 系統の平均は 60% であった。近交系のうち 129 由来 (4 系統, 20%) および BALB/c 由来 (5 系統, 36%) 系統では低い受精率を示した。30% 以下の低い受精率を示す系統では、5 匹以上の雄から精子の運動性の良好な動物を選択すること (5% から 60% へ改善), または高い運動性を持つ精子を選択的に採取して媒精に用いること (6 系統中 5 系統で 7~68% の上昇) により実用的な成績を得ることができた。

(2) マウス各系統の初期胚凍結保存の成績 (持田, 大川 *3, 小倉; 宮崎, 小木曾, 小林, 藤田 (BRC 実験動物開発室))

マウス 300 系統の 2 細胞期胚を EFS 凍結液を用いてチューブでガラス化保存-融解したところ、18 系統 (6%) で胚移植後の産子率が 10% 未満であった。そのうちの 7 系統は BALB/c 由来系統であり、5 系統が AKR と C57L, 4 系統が SM と A の交雑系統であった (他, ICR 由来と CBA 由来が 1 系統ずつ)。これらのうち 2 系統では凍結容器としてストローを用いる (1% と 4% が共に 19% へ), 体外受精ではなく自然交配で得られた胚を凍結する (0% から 14% へ), 毛色の異なる系統の胚を同時に移植する (2% から 10% へ) ことで改善がみられた。

(3) マウス各系統における精子凍結保存の実用性についての検討 (持田, 大川 *3, 小倉; 小木曾, 宮崎, 小林, 藤田 (BRC 実験動物開発室))

マウス 31 系統について精巣上体尾部精子を 18% ラフィノース+3% スキムミルク水溶液にて凍結保存し、融解後に体外受精に用いたところ、C57BL/6 バックグラウンドの TG・KO の 14 系統では平均 54% (26~75%), C3H/HeN, BALB/c, F1 バックグラウンドの TG・KO では平均 48~50% の受精率で安定して受精卵が得られた。一方, AKR, BUS, M.spretus の 3 系統では 9~13% と低い受精率を示した。一部の特殊な系統を除き、ほとんどの系統で凍結精子を安定して体外受精に用いられることが実証できた。

(4) 低温輸送した精巣上体尾部から採取した精子の受精能の検討 (持田, 大川 *3, 小倉)

C57BL/6J バックグラウンドのノックアウト・ノックインマウス 4 系統を寄託元の動物施設にて精巣上体尾部を摘出したのち、低温 (7~9 $^{\circ}\text{C}$) にて BRC へ輸送した (冷蔵

時間は4時間以内)。これらの精巢上体より精子を回収し、体外受精を行ったところ、精子の運動性は良好であり、受精率はそれぞれ70%、63%、53%、42%であった。寄託マウス系統のBRCへの簡便かつ微生物学的に清浄な搬入法として、精巢上体組織での冷蔵輸送が有効であることが確認できた。

4. 各種幹細胞株の樹立と解析および利用

(1) 生殖幹細胞株の樹立 (本多^{*4}, 廣瀬, 小倉)

これまでに、哺乳動物において雄性生殖幹細胞株樹立の報告はあるものの、雌性生殖幹細胞はようやくその存在が明らかにされたところであり、それを純化して培養に成功したという例はない。そこで我々は、マウスとウサギから雌雄それぞれの生殖幹細胞の細胞株樹立を行い、コロニー形成を確認した。特にウサギで樹立した雌雄生殖幹細胞株においては、アルカリフォスファターゼ陽性でいくつかの未分化マーカータンパク質を産生しており、継代数も未分化様の形態を保持させながら30代まで行っている。マウス生殖幹細胞は雄では比較的継代できるものの、雌性生殖幹細胞様の細胞は継代が難しい。現在は効率的な樹立や培養の条件確定を行いつつ、幹細胞としての特徴を解析している。

(2) 生殖幹細胞の利用 (本多^{*4}, 廣瀬, 小倉)

樹立した雌性生殖幹細胞を *In vitro* で卵子に分化させる試みも行った。コロニー形成をしたマウス雌性生殖幹細胞コロニーを分化させることで、減数分裂マーカーおよび発育卵子マーカーとなる遺伝子の発現および染色体の pairing を確認した。

*1 ジュニア・リサーチ・アソシエイト, *2 研修生, *3 訪問研究員, *4 基礎科学特別研究員

The objective of our research is to develop new techniques for practical genetics, which are essential for the high-quality maintenance of bioresources at RIKEN BRC.

Such techniques include nuclear transfer, microinsemination, gamete/embryo cryopreservation, and stem cell line establishment.

1. Nuclear transfer

To gain a clue for improving the cloning efficiency, we have studied the ethiology of clone-associated abnormal phenotypes, especially early placentation, and examined the genomic reprogramming in embryos constructed from different types of donor cell nuclei. We have found that the failure in early placentation observed in cloned mice is caused by decreased proliferation ability of trophoblast stem cells due to declined ICM paracrine function. We have first demonstrated that hematopoietic cells (HSCs) and natural killer T cells can be used for donors to generate normal offspring although the cloning efficiency with the former cells was unexpectedly low. By quantitative RT-PCR analysis, we found that this low developmental efficiency of HSC clones was due to their inability to activate embryo-specific genes, especially a translation initiation-related gene. In another series of experiments, we have developed a strategy to rescue mouse strains facing extinction by generating embryonic stem cell lines from nuclear transferred blastocysts.

2. Microinsemination

We have accumulated basic data on microinsemination in different mouse strains including C57BL/6, C3H, DBA/2, 129, and ICR, using fresh or frozen sperm/spermatogenic cells. Statistical analysis revealed that the three factors (strain, fresh/frozen, and the type of male germ cells) independently exerted their effects on the development of resultant embryos. We also evaluated the usefulness of inter-subspecies microinsemination by injecting frozen sperm from wild-derived mice (MSM, JF1, HMI, and SWN) into B6D2F1 oocytes. Normal pups were obtained at practical rates (23.3–45.1% per embryos transferred) in all the combinations examined. The embryos and pups were proven to be good research materials for mouse genetics. Finally we have developed the easiest-ever-known cryopreservation technique for male germ cells; whole epididymides and testes were frozen intact in a deep freezer. Spermatozoa and spermatogenic cells retrieved from epididymides and testes thus frozen supported full term embryo development following microinsemination. Normal C57BL/6 pups were born from spermatozoa from testes frozen at and transported from the U.K. by this technique.

3. Cryopreservation of mouse embryos/gametes

Since the mouse banking program started at BRC in 2002, cryopreservation techniques for mouse embryos/gametes have been optimized for each mouse strain to increase the banking efficiency. We have accumulated the basic data on embryo and sperm cryopreservation in different strains of mice maintained at BRC. Spermatozoa from 129 and BALB/c showed relatively poor fertilizing ability. Improved fertilization rates were achieved when the best sperm suspension was chosen from suspensions of a group of males. Low survival rates of frozen/thawed embryos were observed in several strains. These were improved by using straws instead of tubes as containers or by freezing embryos from natural mating instead of those from IVF.

4. Establishment of stem cell lines

We have tried to establish germline stem (GS) cell lines from testes and ovaries of newborn mice and rabbits. Colonies were formed consistently in all combinations of sex and species, but the potential of cell proliferation greatly varied. The rabbit female GS cells showed the best proliferation ability, reaching about 30 passages *in vitro*. The *in-vitro* differentiating ability was evaluated using mouse female GS cells. Under optimal conditions, they started to differentiate rapidly and expressed oocyte-specific and meiosis-specific markers as demonstrated by RT-PCR and karyotyping.

Staff

Head

Dr. Atsuo OGURA

Members

Mr. Keiji MOCHIDA

Dr. Kimiko INOUE

Ms. Narumi OGONUKI

Dr. Arata HONDA^{*1}

Ms. Michiko HIROSE*²
Ms. Kanako NAKAMURA*³

*¹ Special Postdoctoral Researcher
*² Contract Technical Assistant
*³ Assistant

in collaboration with

Dr. Hiroyuki MIYOSHI (Subteam Manipulation Cell Fate, BRC)
Mr. Shinichi NODA (Subteam Manipulation Cell Fate, BRC)
Ms. Maiko FUJITA (Exper. Anim. Div., BRC)
Ms. Noriko HIRAIWA (Exper. Anim. Div., BRC)
Ms. Akiko KOBAYASHI (Exper. Anim. Div., BRC)
Ms. Aya KOGISO (Exper. Anim. Div., BRC)
Ms. Fumie MIYAZAKI (Exper. Anim. Div., BRC)
Dr. Hiroshi WAKAO (Lab. Immune Regul., RCAI)

Visiting Members

Ms. Mika OHKAWA (CREST)
Ms. Hiromi MIKI (Grad. Sch. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba)

Trainees

Ms. Akie SHINMEN (Fac. Bioind., Tokyo Univ. Agric.)

誌 上 発 表 **Publications**

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

- Miura S., Tsunoda N., Ikeda S., Kai Y., Ono M., Maruyama K., Takahashi M., Mochida K., Matsuda J., Lane D. M., and Ezaki O.: "Regulatory sequence elements of mouse GLUT4 gene expression in adipose tissues", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **312**, 277–284 (2003). *
- Kai M., Irie M., Okutsu T., Inoue K., Ogonuki N., Miki H., Yokoyama M., Migishima R., Muguruma K., Fujimura H., Kohda T., Ogura A., Kaneko-Ishino T., and Ishino F.: "The novel dominant mutation *Dspd* leads to a severe spermiogenesis defect in mice", *Biol. Reprod.* **70**, 1213–1221 (2004). *
- Miki H., Inoue K., Ogonuki N., Mochida K., Nagashima H., Baba T., and Ogura A.: "Cytoplasmic asters are required for progression past the first cell cycle in cloned mouse embryos", *Biol. Reprod.* **71**, 2022–2028 (2004). *
- Kanatsu-Shinohara M., Inoue K., Lee J., Yoshimoto M., Ogonuki N., Miki H., Baba S., Kato T., Kazuki Y., Toyokuni S., Toyoshima M., Niwa O., Oshimura M., Heike T., Nakahata T., Ishino F., Ogura A., and Shinohara T.: "Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis", *Cell* **119**, 1001–1012 (2004). *
- Chuma S., Kanatsu-Shinohara M., Inoue K., Ogonuki N., Miki H., Toyokuni S., Hosokawa M., Nakatsuji N., Ogura A., and Shinohara T.: "Spermatogenesis from epiblast and primordial germ cells following transplantation into postnatal mouse testis", *Development* **132**, 117–122 (2004). *
- Masujin K., Okada T., Tsuji G., Ishii T., Takano K., Matsuda J., Ogura A., and Kunieda T.: "A mutation in the serum and glucocorticoid-inducible kinase-like kinase (*Sgkl*) gene is associated with defective hair growth in mice", *DNA Res.* **11**, 371–379 (2004). *
- Ohgane J., Wakayama T., Senda S., Yamazaki Y., Inoue K., Ogura A., Marh J., Tanaka S., Yanagimachi R., and Shiota K.: "The *Sall3* locus is an epigenetic hotspot of aberrant DNA methylation associated with placentalomegaly of cloned mice", *Genes Cells* **9**, 253–260 (2004). *
- Inoue K., Ogonuki N., Yamamoto Y., Takano K., Miki H., Mochida K., and Ogura A.: "Tissue-specific distribution of donor mitochondrial DNA in cloned mice produced by somatic cell nuclear transfer", *Genesis* **39**, 79–83 (2004). *
- Kamei Y., Miura S., Suzuki M., Kai Y., Mizukami J., Taniguchi T., Mochida K., Hata T., Matsuda J., Aburatani H., Nishino I., and Ezaki O.: "Skeletal muscle FOXO1 (FKHR) transgenic mice have less skeletal muscle mass, down-regulated type-I (slow twitch/red muscle) fiber genes, and impaired glycemic control", *J. Biol. Chem.* **279**, 41114–41123 (2004). *
- Uchio-Yamada K., Manabe N., Yamaguchi-Yamada M., Goto Y., Yamamoto Y., Ogura A., and Miyamoto H.: "Changes in the localization of type I, III and IV collagen mRNAs in the kidneys of hereditary nephritic (ICGN) mice with renal fibrosis", *J. Vet. Med. Sci.* **66**, 123–128 (2004). *
- Yamaguchi-Yamada M., Manabe N., Uchio-Yamada K., Akashi N., Goto Y., Miyamoto Y., Nagao M., Yamamoto Y., Ogura A., and Miyamoto H.: "Anemia with chronic renal disorder and disrupted metabolism of erythropoietin in ICR-derived glomerulonephritis (ICGN) mice", *J. Vet. Med. Sci.* **66**, 423–431 (2004). *
- Yamaguchi-Yamada M., Manabe N., Goto Y., Anan S., Miyamoto K., Miyamoto Y., Nagao M., Yamamoto Y., and Ogura A.: "Improvement of anemia associated with chronic renal failure by recombinant human erythropoietin treatment in ICR-derived glomerulonephritis (ICGN) mice", *J. Vet. Med. Sci.* **66**, 883–886 (2004). *
- Nakamura T., Yao R., Ogawa T., Suzuki T., Ito C., Tsunekawa N., Inoue K., Ajima R., Miyasaka T., Yoshida Y., Ogura A., Toshimori K., Noce T., Yamamoto T., and Noda T.: "Oligo-asthenozoospermia in mice lacking *Cnot7*, a regulator of retinoid X receptor beta", *Nat. Genet.* **36**, 528–533 (2004). *
- Miki H., Inoue K., Kohda T., Honda A., Ogonuki N.,

Yuzuriha M., Mise N., Matsui Y., Baba T., Abe K., Ishino F., and Ogura A.: “Birth of mice produced by germ cell nuclear transfer”, *Genesis* **41**, 81–86 (2005).

*

Mochida K., Wakayama T., Takano K., Noguchi Y., Yamamoto Y., Suzuki O., Matsuda J., and Ogura A.: “Birth of offspring after transfer of Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) embryos cryopreserved by vitrification”, *Mol. Reprod. Dev.* **70**, 464–470 (2005). *

(総説)

小倉淳郎: “動物の核移植クローン技術の現状”, *Med. Sci. Dig.* **30**, 410–413 (2004).

[単行本・Proc.]

(総説)

井上貴美子, 小倉淳郎: “核移植技術: マウス体細胞クローン胚作製法”, 実験医学別冊: 基礎から先端までのクローマチン・染色体実験プロトコール, 押村光雄, 平岡泰 (編), 羊土社, 東京, pp. 213–223 (2004).

越後貫成美: “異常・未成熟精子を用いた顕微授精: その有用性と限界”, 第20回日本疾患モデル学会総会シンポジウム II: 「男性不妊の疾患モデルと遺伝子工学的治療法」講演記録, 吹田, 2003–11, 日本疾患モデル学会, 東京, pp. 47–53 (2004).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Miki H., Inoue K., Kohda T., Honda A., Ogonuki N., Mise N., Matsui Y., Abe K., Ishino F., and Ogura A.: “In vitro development of embryos cloned from primordial germ cells in mice”, 1st Workshop Asian Reproductive Biotechnology, Ho Chi Minh City, Vietnam, Apr. (2004).

Miki H., Inoue K., Ogonuki N., Mochida K., Nagashima H., Baba T., and Ogura A.: “Cytoplasmic asters are required for progression of the first cell cycle in mouse cloned embryos”, 37th Ann. Meeti. Soc. of the Study of Reproduction, (University of British Columbia), Vancouver, Canada, Aug. (2004).

Inoue K., Ogonuki N., Miki H., Noda S., Kim J., Aoki F., Miyoshi H., and Ogura A.: “Development of embryos cloned from hematopoietic stem cells”, 37th Ann. Meeti. Soc. of the Study of Reproduction, (University of British Columbia), Vancouver, Canada, Aug. (2004).

Ogura A.: “ICSI in laboratory animals”, Satellite Symp. JSAR Ann. Meet. on Current Status and Perspectives in Reproductive Biology and Biotechnology, Kyoto, Sept. (2004).

(国内会議)

越後貫成美, 井上貴美子, 三木洋美, 広瀬良広, 岡田浩典, 竹入修二, 山海直, 持田慶司, 小倉淳郎: “ウサギ精子・精細胞顕微授精由来胚の発生能についての検討”, 第51回日本実験動物学会総会, 長崎, 5月 (2004).

小倉淳郎: “サル類の発生工学的研究に期待すること”, 第51回日本実験動物学会総会, 長崎, 5月 (2004).

石橋尚子, 中西友子, 久保田はるか, 小倉淳郎, 馬場忠: “外来 PLCzeta によるマウス卵子活性化の評価”, 第51回日本実験動物学会総会, 長崎, 5月 (2004).

井上貴美子, 越後貫成美, 三木洋美, 野田慎一, 金慎文, 青木不学, 三好浩之, 小倉淳郎: “造血幹細胞をドナーとしたクローン胚発生効率の検討”, 第51回日本実験動物学会総会, 長崎, 5月 (2004).

持田慶司: “理研 BRC のマウス胚・精子バンクにおける生殖工学的作業状況について”, 第51回日本実験動物学会総会, 長崎, 5月 (2004).

小倉淳郎: “何が体細胞クローンの効率を決めるのか”, 第47回発生工学・疾患モデル研究会定例会, 東京, 9月 (2004).

井上貴美子, 越後貫成美, 三木洋美, 本多新, 持田慶司, 信賀順, 古関明彦, 小倉淳郎: “マウス体細胞クローン胚に観察される初期胎盤形成不全について”, 第97回日本繁殖生物学会大会, 東広島, 9月 (2004).

三木洋美, 井上貴美子, 幸田尚, 本多新, 越後貫成美, 三瀬名丹, 松居靖久, 馬場忠, 阿部訓也, 石野史敏, 小倉淳郎: “始原生殖細胞 (PGC) を用いた核移植による産仔の作出”, 第97回日本繁殖生物学会大会, 広島, 9月 (2004).

小倉淳郎, 三木洋美, 越後貫成美, 井上貴美子: “マウス核移植クローンに見るゲノムの可塑性”, 文科省科学研究費補助金特定領域研究「生殖細胞の発生プロセス・再プログラム化とエピジェネティクス」第2回公開シンポジウム, 豊中, 11月 (2004).

前田るい, 寛山隆, 須藤和寛, 三原田賢一, 山海直, 小倉淳郎, 中村幸夫: “マウス核移植 ES 細胞の造血細胞への分化能”, 第27回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月 (2004).

須藤和寛, 寛山隆, 前田るい, 三原田賢一, 山海直, 小倉淳郎, 中村幸夫: “マウス核移植 ES 細胞の血液系細胞への分化能の検討”, 第4回日本再生医療学会総会, 大阪, 3月 (2005).