

提供機関名	: 有限会社山口ティー・エル・オー
研究責任者名、所属	: 今井 啓之 山口大学共同獣医学部
連絡担当者名、所属	: 三輪 文 技術移転部
電話番号、Email	: 0836-22-9768 tlojim@yamaguchi-u.ac.jp
機関管理番号（任意）	:

1. 発明のタイトル

齧歯類における胚の遺伝子型決定方法

2. 研究・発明の概要

再生医療や発生学研究の現場では、遺伝子導入した動物胚などのマウスの着床胚が使用されているが、着床胚は小さく、解析のための子宮からの取り出しと分割には熟練と手技精度が必要である。分割して小さくなった胚をその後の実験用いると完全な胚を用いた場合に比較して解析精度が低下し、分割後、解析したい細胞集団(将来特定の臓器になる)が含まれない側の胚を解析してしまう可能性があり、着床胚に触れずに胚の遺伝子型を調べることが求められており、実験用マウスの胚自体を傷つけることなく、その胚の遺伝子型を決定する方法の確立が必要である。そこで、今回、発明者らは、マウスの着床胚に対して胚体を支持する母体組織の脱落膜（子宮の粘膜細胞に由来する、胚の着床後、胚を包み込むように増殖したもの）に着目し、解析・検証を行った。

3. 成果概要

齧歯類の母親の子宮内膜より採取した脱落膜の核酸配列を解析することで胚体を傷つけることなく、胚の遺伝子型判定が可能であるか検証を行った。

- ① 核酸配列が Y 染色体上の遺伝子であり、齧歯類のゲノムに含まれない遺伝子であることを特徴とする遺伝子型決定方法である。
- ② マウス胚を支持する母体組織、脱落膜および胚を解析に用いて、雌雄判別・トランスジーン（遺伝子導入）の有無（成否）を判定できた。
- ③ 脱落膜による遺伝子型決定の適応可能日齢の検討を行ったところ、脱落膜による遺伝子型決定が対応できる発生段階は 8.5 日齢以上 11 日齢以下であれば確実である。

以上により、胚の受精後 8.5 日齢以上 11 日齢以下で脱落膜の遺伝子型を検査することで、脱落膜へ侵入した胚由来の胚体外組織を検出することにより胚の遺伝子型を決定できる。胚よりも大きな脱落膜を操作・解析するため、熟練度を必要とせず、また胚を分割しないので胚中の細胞群についても正確かつ安全な解析を行うことができる。

4. 適用分野・目標

- 実験動物開発分野、再生医療研究分野
着床胚解析キットとして脱落膜から DNA 抽出から PCR による遺伝子発現まで一括して行いつつ、その間胚を一時保存または同時にサンプル処理する実験キットやプロトコルでの活用

5. 今後の研究予定

- ラットやその他の実験動物での検証や遺伝子解析に頻用される Cre マウス等を用いた検証。

6. 本技術の特徴、企業へアピールしたい点（具体的に記載してください）

- 1) 胚よりも大きな脱落膜を操作・解析するため、高い熟練度を必要としない。
- 2) 胚を分割しないので胚中の如何なる細胞群についても正確かつ完全な解析を行うことができる。
- 3) 胚の発育への影響を最小限とし、発育早期に胚の遺伝型を決定することができるだけでなく、妊娠動物の胎児の遺伝子型を提示することで妊娠動物や出産される仔の商品価値を向上させることができる。

希望する提携の種類	共同研究、委託研究、ライセンスなど
特許出願の有無	特願 2022-145585
関連特許出願の有無	なし
学会発表・論文投稿の有無	<p>1. 学会発表：脱落膜を用いたマウス胚の遺伝子型同定方法の確立 (Establishment of a method for genotype estimation of mouse embryos using their deciduae.) 今井啓之, 岩森巨樹, 岩森督子, 松屋純人, 加納聖, 日下部健 2023年5月 第70回 日本実験動物学会総会@つくば国際会議場</p> <p>2. 論文発表：Verification of the efficacy of deciduae for determining the genetic type of mouse embryos. Imai Hiroyuki, Iwamori Naoki, Iwamori Tokuko, Matsuya Sumito, Kano Kiyoshi, Kusakabe Ken Takeshi. Anatomia, Histologia, Embryologia. 53(1): e12976. (2024) (doi: 10.1111/ahe.12976)</p>
共同研究の有無	なし