

2021年10月11日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構（農研機構）
国立大学法人京都工芸繊維大学

ショウジョウバエ系統の凍結保存法を開発

ショウジョウバエは、生命科学研究におけるモデル生物として、多くの突然変異系統が作出され、さまざまな生命現象における遺伝子機能の解明に役立っています。また、ヒト疾病モデルとして、医学や創薬の分野においても頻繁に利用されています。しかし、ショウジョウバエ系統は継代飼育によって維持されており、時間と共にゲノムに変異が蓄積し、系統が変化してしまうため、研究に使いえなくなることがありました。このリスクを回避するため、系統を長期間保存できる凍結保存法の確立が待ち望まれていました。

本研究では、卵や精子の元となる始原生殖細胞を、保存したい系統の卵（胚）から、ガラス針を用いて集め、液体窒素中で凍結保存する方法を開発し、ショウジョウバエ系統を凍結保存することに世界で初めて成功しました。凍結保存した始原生殖細胞は、融解した後、妊性のない別の胚に移植すると正常な卵や精子に分化し、それらを受精させると、もとの系統と全く同じ子が得られます。この技術は、京都ショウジョウバエストックセンターに技術移転され、ショウジョウバエ系統の凍結保存の実用化が、世界に先駆けて開始されています。この技術開発により、生命科学および医療・創薬分野の研究の持続的な発展を担保することができるようになることが期待されます。

研究代表者

筑波大学生存ダイナミクス研究センター

小林 悟 教授

農研機構

田中 大介 上級研究員

京都工芸繊維大学

高野 敏行 教授

研究の背景

ショウジョウバエは、世代が短く、飼育が簡単で、遺伝子の機能を欠失させたり改変するのが容易なため、多くの突然変異系統が作出され、さまざまな生命現象における遺伝子機能の解明に役立ってきました。さらに近年、ヒト疾病の原因遺伝子の60%がショウジョウバエで保存されていることが発見され、ヒト疾病モデルとして医療や創薬の分野でも頻繁に利用されています。現在、16万種類を超えるショウジョウバエ系統がありますが、これらの系統は、継代飼育、すなわち成虫から次世代の子を、その子から次世代の子をとったように、世代交代をさせながら飼育することによって維持されています。しかしながら、この方法では、飼育コストがかかる上、自然に誘発された突然変異などがゲノムに蓄積することによって、系統が変化してしまうリスクがあります。このようなリスクを避けるため、マウスや線虫などのモデル生物と同様に、ショウジョウバエにおいても凍結保存法の確立が長く望まれてきました。これまでに、卵巣や胚を凍結する試みがありましたが、いずれも再現性が低く、実用化されていません。そこで本研究では、卵巣や胚の代わりに、卵や精子の元となる始原生殖細胞を凍結保存し、そこから機能的な卵や精子を作り、子孫を得て、系統を復活させることを試みました。

研究内容と成果

ショウジョウバエの初期胚から始原生殖細胞をガラス針を用いて集め、液体窒素中で凍結保存し、融解後に、別の胚（ホスト胚）に移植したところ、移植された始原生殖細胞は、卵または精子に分化し、子を産生できることを見いだしました（参考図）。また、卵や精子を作ることができない不妊のホスト胚を用いると、ホストが産生する卵や精子は全て移植した始原生殖細胞に由来し、雌雄のホストを交配することで簡単に元の系統を復活できることが分かりました。さらに、凍結した始原生殖細胞から元の系統を復活させるために必要な移植の効率（元の系統を復活させるために必要な移植ホスト数は約15）は、凍結保存期間の長さ（0–400日間）や系統の種類（6種類）に依存しないことが明らかとなりました。

今後の展開

本研究で開発した始原生殖細胞の凍結保存の方法および移植により系統を復活させる技術は、世界にあるショウジョウバエの3大ストックセンターの一つである京都ストックセンターに技術移転され、実用化されつつあります。これは、世界で初めての試みであり、生命科学および医療・創薬分野の研究の持続的な発展を担保することができるようになると期待されます。今後、凍結保存された細胞が10年、20年後も変わらず同じ能力を持ち続けているか、保存期間中にゲノムが損傷を受けないか、について詳細に調べ、この技術の安全性を示していくことが必要です。

参考図

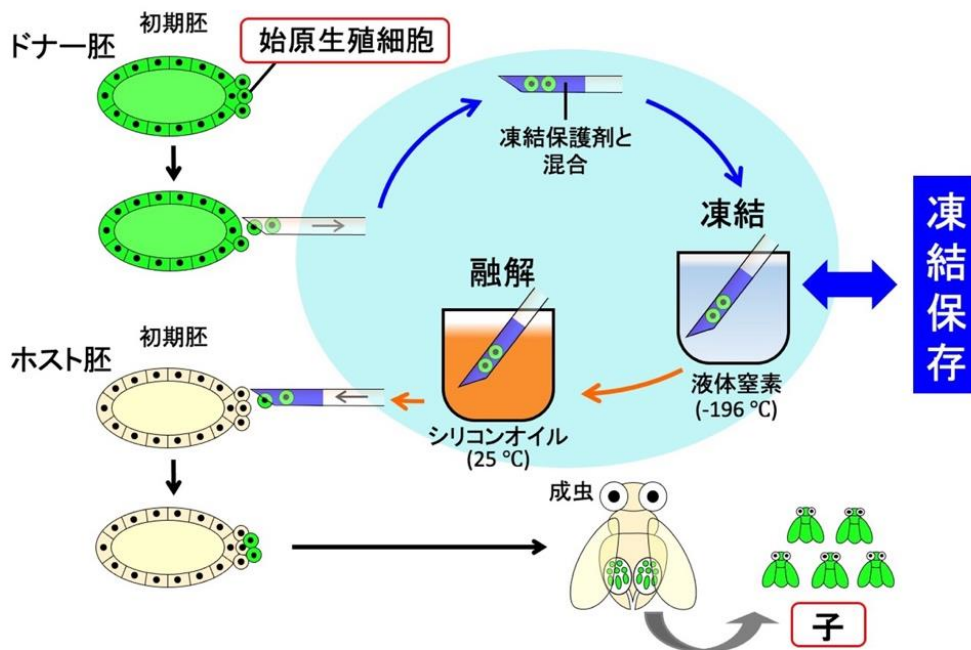


図 本研究で開発したショウジョウバエ系統の凍結保存法

保存したい系統の初期胚（緑）の後極からガラス針を用いて始原生殖細胞を吸い出し、氷晶の形成を抑え、細胞が破壊されるのを防ぐための凍結保護剤と混合して、ガラス針ごと液体窒素に浸けて凍結し、そのまま液体窒素中で保存する。系統を復活させるには、室温程度に温めたシリコンオイル中で始原生殖細胞を融解し、ホスト胚の後極に移植する。移植した胚を親まで育て、雄と雌を交配して子を得る。ホスト胚に、ホストの始原生殖細胞（淡黄色）が致死となる不妊の胚を用いると、成虫が形成する卵や精子は全て移植した始原生殖細胞（緑）由来となり、生まれる子は全てとドナーと同じ遺伝型（緑）になる。

研究資金

本研究は、科学研究費補助金新学術領域研究「配偶子インテグリティの構築」（研究期間：平成 30～令和 4 年度）、挑戦的萌芽「ショウジョウバエ始原生殖細胞の凍結保存と個体再生法の開発」（研究期間：平成 27～平成 28 年度）および日本医療研究開発機構（AMED）ナショナルバイオリソースプロジェクト（研究期間：平成 28～令和 3 年度）によって実施されました。

掲載論文

- 【題名】 Offspring production from cryopreserved primordial germ cells in *Drosophila*
(ショウジョウバエにおける凍結保存した始原生殖細胞からの子孫の産出)
- 【著者名】 Miho Asaoka, Yurina Sakamaki, Tatsuya Fukumoto, Kaori Nishimura, Masatoshi Tomaru, Toshiyuki Takano-Shimizu, Daisuke Tanaka and Satoru Kobayashi
- 【掲載誌】 Communications Biology
- 【掲載日】 2021 年 10 月 7 日
- 【DOI】 10.1038/s42003-021-02692-z