

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K05691

研究課題名（和文）哺乳類卵子・初期胚の常温長期保存に関する研究～遺伝資源保存への適用を目指して～

研究課題名（英文）Research on long-term storage of mammalian eggs and early embryos at room temperature ~for application to genetic resources preservation~

研究代表者

多田 昇弘（TADA, Norihiro）

順天堂大学・大学院医学研究科・先任准教授

研究者番号：50338315

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：乾燥時に細胞に対して高い生体成分保護効果のあるトレハロースを細胞内に取り込むことができるトレハローストランスポーターを発現するノックイン（KI）マウスをゲノム編集で作製した。KIマウスの卵子及び初期胚を用いて種々の条件下で真空乾燥・常温保存を試みたが、復水後、生存は認められなかった。また、電氣的穿孔法による初期胚へのトレハロースの細胞内への取り込みを試みたが、真空乾燥した初期胚では、保護効果は認められなかった。更に、1-細胞期卵の細胞質にトレハロースを顕微注入した後、2-細胞期胚に発生させ、これらの胚について種々の条件下で真空乾燥・常温保存を試みたが、復水後、生存胚は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵子、初期胚のような生殖機能細胞はいずれも、真空乾燥・常温保存の試みは成されているが、今だ成功していない。精子では成功しているため、その違いがどこにあるのか、核のみならず細胞質及び細胞膜の乾燥に対する耐性機構が明らかになるので、学術的な意義は大きい。また現在、生殖機能細胞の保存はすべて凍結保存であるが、本研究で真空乾燥・常温保存の有効性を明らかにできれば、遺伝資源の開発・保全に極めて有用な手段となり得る。特に、液体窒素中での凍結保存については、液体窒素を補充しなければならず、危険物なので宅配便等での輸送が制限される。しかし、常温保存であれば郵便などで容易に送ることができる。

研究成果の概要（英文）：We generated knock-in (KI) mice expressing a trehalose transporter that can take up trehalose, which has a strong biocomponent-protective effect on cells during desiccation, into cells by genome editing using CRISPR/Cas9 system. Using oocytes and early embryos from KI mice, we tried vacuum drying and room temperature storage under various conditions, but they did not survive after rehydration. In addition, we attempted to incorporate trehalose into the cells of early embryos by electroporation, but no protective effect was observed in vacuum-dried early embryos. Furthermore, after microinjection of trehalose into the cytoplasm of 1-cell stage eggs, they were allowed to develop into 2-cell stage embryos. No embryos were obtained.

研究分野：発生工学、実験動物学、資源保存学

キーワード：マウス 初期胚 真空乾燥 常温保存 トレハロース CRISPR/Cas9 電氣穿孔法 バイオリソース

1. 研究開始当初の背景

遺伝子改変マウスなどの遺伝資源は、医学・生命科学の発展に多大な貢献をしており、これらのマウスを用いて、多くの疾患の病態解明及び治療方法等が明らかにされている。遺伝子改変マウスは貴重な遺伝資源であり、受精卵や精子のような生殖機能細胞が保存されている。生殖機能細胞の保存として、常温保存、低温保存及び凍結保存が考えられている。低温保存については、長期の保存は困難であり、精子の低温保存でも2週間程度である。また、受精卵の低温保存でも4日間が最長である。凍結保存は、基本的に半永久的に受精卵・精子を保存することが可能である。我々は、以前より、マウス精子及び受精卵の凍結保存法の開発に取り組んできた(Tada et al., *J. Reprod. Fert.*, 89, 511-516, 1990; Tada et al., *Theriogenology* 40, 333-344, 1993)。しかし、凍結保存は液体窒素を用いた保存法であるが、液体窒素の補充が定期的に必要なため、保存タンクを設置するための相応の場所が必要である。また、地震等の災害が起こった場合、迅速に持ち出すことは困難である。液体窒素を用いない保存法の開発が急務であるが、今のところ、そのような保存法は見出されていない。

1998年にWakayamaらは、マウス精子のフリーズドライ(凍結乾燥)に世界で初めて成功し、低温下にて保存できることを明らかにした(Wakayama et al, *Nat Biotechnol*, 16, 639-641, 1998)。この保存方法は、凍結保存法に代わり得る方法として注目されたが、高価な真空凍結乾燥機が必要であること、精子DNAの損傷が顕著であること、及び常温下での長期保存は困難であること等の問題がある(Kusakabe et al., *PNAS*, 98, 13501-13506, 2001)。また、Biggersらは、室温下にて窒素ガスでマウス精子を乾燥させ、-80°Cで保存後、顕微授精(ICSI)により受精卵を得ることに成功し、移植により産仔が得られたことを報告している(Li MW. et al., *Reproduction*, 133, 919-929, 2007)。しかし、この方法でも乾燥させた精子の長期の常温保存は、成功していない。我々は以前より、真空乾燥させたマウス精子で常温保存を試みている。今までのところ、トレハロースに抗酸化作用のあるエピカテキン及びアスコルビン酸を加えたTris-EGTA緩衝液内でマウス精子を真空乾燥させた後、常温下で1年以上保存した精子を用いて未受精卵との間で顕微授精(ICSI)することにより、受精卵が得られ、卵管内移植により正常な産仔が得られることを明らかにした(日本実験動物学会; 2012)。しかし、卵子及び初期胚では、真空乾燥・常温保存は今のところ成功していない。

2. 研究の目的

本研究は、卵子及び初期胚の真空乾燥・常温保存法を確立するために実施する。本研究の目的を達成するためには、受精卵の核内DNAの損傷のみならず、細胞質内の細胞小器官(ライソゾーム、ミトコンドリア、小胞体等)の変性、アクチンフィラメント及びマイクログリンのような細胞骨格構造の変性、細胞膜の破壊等を抑制し得る真空乾燥・常温保存法を見出さなければならない。イスラエルのAmir Aravらは、2013年にウシ卵子のフリーズドライを行い、室温保存した後復水させたところ、受精可能な卵子が認められたとの報告をしている。しかしこれらの卵子は、本当に受精できるかどうかは、まだわかっていない(Arav A., *New Scientist*, 2013)。このように、核内DNAが無傷であれば受精することができる精子とは異なり、受精卵の場合は、前述したように核内DNAのみならず、細胞質及び細胞膜の正常性が維持されなければならないため、その困難性から、受精卵のフリーズドライに関する研究は、この程度の報告しかないのが現状である。そして、受精卵の真空乾燥・常温保存の成功例はまったく認められない。本研究の成果は、遺伝資源などのバイオリソースを収集・保存し、研究者に配布する体制が確立でき、効率的な遺伝資源の利用、それに伴う研究の発展が期待できる。

3. 研究の方法

(1) 卵子及び初期胚の真空乾燥に用いるノックインマウスの作製及びトレハロース細胞内移入法の決定

トレハロースは、乾燥に強い耐性を示すネムリユスリカの幼虫の体内(細胞内)に乾燥時に特異的に蓄積されており、トレハロースが乾燥時に細胞に対して高い生体成分保護機能を有していることがわかっている(Coutino et al., *J Biotechnol* 7, 23, 1988)。そこで、マウス受精卵でもトレハロースによる乾燥耐性が獲得できるかどうかを確認する。しかし、トレハロースは細胞膜を通過することができないため、上記のような機能を細胞内で発揮させることができない。糖が細胞膜を通過する際には、トランスポーターと呼ばれる膜蛋白質が介在することが知られている(Kikawada et al, *PNAS*, 104, 11585-11590, 2007)。そこで、トレハローストランスポーター1(Tret1)を受精卵の細胞膜で発現する遺伝子改変マウス(ノックインマウス)を作製する。即ち、ドナーベクター(CAG promoter-PvTret1-IRES2-AcGFP1)をマウス ROSA26 遺伝子座のセーフハーバー領域に挿入されたノックイン(KI)マウス(ROSA26:CAG-Tret1/GFP-KI)を、CRISPR/Cas9 systemを用いたゲノム編集により作製する。このKIマウス由来の受精卵は、その細胞膜でTret1及びGFPを共発現しており、GFPの発現を指標にしてTret1の発現を確認することが可能であり、Tret1の発現により、トレハロースを細胞内に取り込むことが期待される。一方、電気的穿孔法(エレ

クトロポレーション)により、マウス受精卵の細胞膜に小孔を開け、トレハロースを取り込むことができるか否かも確認する。トレハロースの細胞内取り込みの確認は、ローダミンデキストラン及びトレハロースを含む保存液に受精卵を移し、エレクトロポレーションにより細胞膜に小孔が開いた場合、ローダミンデキストランの細胞内への取り込みを指標にして、トレハロースを細胞内へ取り込んだ受精卵を選別し、保存液に浸漬後、デシケーター内で真空状態にし、常温下で乾燥を行い、24時間常温保存した後、復水させた受精卵について、生存性を確認した。

(2) 卵子及び初期胚の真空乾燥及び常温保存の至適条件の決定

このプロセスでは、各種の保存液、保存容器、マウス胚の発生ステージにおける真空乾燥・常温保存後の生存性を確認し、至適条件を決定する。即ち、保存液には、PB1, M2, Tris-EGTA, mCZB-hepes にトレハロース、抗酸化剤(エピカテキン、アスコルビン酸)あるいは3-O-Methyl-D-Glucoseを加えたものを使い、KIマウスの卵子、初期胚(2-細胞期、桑実期)を浸漬し、マイクロチューブあるいはクライオチューブ等に移した後、デシケーター内で真空乾燥させる。その後、同所にて常温下で保存する。1日~1年間常温保存後、滅菌ミリQ水をマイクロチューブあるいはクライオチューブ内に添加することにより、復水させた後、形態的に正常な胚について、移植により産仔への発生能を確認した。

(3) 卵子及び初期胚の真空乾燥後、長期常温保存の確認

本研究の最終達成目標として、至適な条件のもと、真空乾燥卵子・初期胚の長期常温保存を試み、復水後の正常性及び発生能を確認した。即ち、長期常温保存は、デシケーター内にて行い、期間は、1年以上とした。一定期間、常温保存した卵子・初期胚は、復水後、生存性を確認した後、移植により発生能を確認した。

4. 研究成果

(1) 卵子及び初期胚の真空乾燥に用いるノックインマウスの作製及びトレハロース細胞内移入法の決定

本研究では、乾燥保護物質としてトレハロースに着目し、トレハロースを細胞内に取り込むことができるノックインマウスをゲノム編集(CRISPR/Cas9 system)にて作製した。トレハロースは、乾燥に強い耐性を示すネムリユスリカの幼虫の体内(細胞内)に乾燥時に特異的に蓄積されており、トレハロースが乾燥時に細胞に対して高い生体成分保護機能を有していることがわかっている。しかし、トレハロースは高分子のため、細胞膜を通過して細胞質内へ取り込むことができない。そこで、トレハローストランスポーター1(Tret1)を初期胚の細胞膜で発現するノックインマウスの作製を試みた。ノックインマウス作製には、CRISPR/Cas9によるゲノム編集を適用し、ドナーベクター(CAG promoter-PvTret1-IRES2-AcGFP1; CTIG)を ROSA26 遺伝子座のセーフハーバー領域に対する sgRNA 及び Cas9 蛋白質と共にマウス1-細胞期卵の細胞質内に顕微注入した。顕微注入後、生存している受精卵 268 個を7匹のレシピエントマウス卵管に移植したところ、54匹(20%)の産仔が得られた。これらの産仔は、離乳後、尻尾より DNA を抽出し、PCR による解析を行ったところ、ROSA26 遺伝子座のセーフハーバー領域にドナーベクターがノックインされたマウスが5匹(9%)得られた。しかし、シークエンス解析を行ったところ、いずれのマウスも完全な形で CTIG がノックインされていないことがわかった。そこで、ROSA26 遺伝子座のセーフハーバー領域の別のサイトにノックインできるよう sgRNA 及び CTIG を再構築した。これらの再構築した sgRNA 及び CTIG を用いてノックインマウス作製を試みたところ、4匹のマウスが得られた。これらのマウスの内2匹は、PCR 及びシークエンス解析の結果、ROSA26 遺伝子座の目的の場所に CTIG がノックインされていることを確認した。一方、トレハロースを細胞内に取り込むための別の手段として電氣的穿孔法(エレクトロポレーション; EP)によりマウス初期胚の細胞膜に小孔を開け、トレハロースを取り込むことを試みるための前段階として、ローダミンデキストラン(3kDa)を効率良く EP で取り込める条件を決めることができた。通常、マウス初期胚に EP を実施する場合、Porting pulse 及び Transfer pulse の2段階でパルスをかけることにより、初期胚の透明帯及び細胞膜に順次穿孔を開けて行くことが知られているが、本実験では、Transfer pulse のみで初期胚の細胞内にローダミンデキストランを取り込むことができた。この理由として、初期胚を得るために体外受精を行ったが、その際に用いた体外受精用培養液中に含まれる還元型グルタチオンにより透明帯の脆弱化が生じたため、Porting pulse をかけることなく、Transfer pulse のみでローダミンデキストランを細胞質内に取り込むことができたものと推測された。

(2) 卵子及び初期胚の真空乾燥及び常温保存の至適条件の決定

ROSA26-CTIG-KI マウス2匹について、各々繁殖を行い F2 世代のホモ個体を得た後、これらのホモ個体由来受精卵(1-細胞期卵)における GFP 発現の有無を確認した。その結果、微弱ではあるが GFP 発現が認められた。これらの受精卵由来の初期胚(1-細胞期卵、2-細胞期胚、8-細胞期胚、桑実期胚、胚盤胞)を種々の保存液(トレハロース、エピカテキン、アスコルビン酸、3-O-Methyl-D-Glucose)を種々の濃度で含む PB1, M2, Tris-EGTA, mCZB-hepes)に浸漬し、真空乾燥及び常温保存(1~14日)を行った。保存後、保存胚を復水処理を施し、生存性を確認した。その結果、いずれの保存液でもすべての胚で形態的な異常が認められ、生存胚は得られなかった。しかし、保存期間を短縮して6時間保存した場合、0.1Mトレハロースを含む Tris-EGTA に浸漬し

た桑実期胚で最も生存性が高く、30%程度が胚盤胞へ発生した。その他の発生ステージの胚では、同様な条件下では生存胚は得られなかった。これらのことから、6時間の常温保存では真空乾燥が不完全であり、液状で保存されたため、生存胚が得られたものと思われる。そこで、液状保存での桑実期胚の生存性及び発生能を確認したところ、常温下では、最長で、2日間、PB1, M2, mCZB-hepes 内で保存した場合 100%生存しており、生存胚の内、17~33%が胚盤胞へ発生することがわかった。また 4℃下での低温保存では、PB1, M2 及び CZB-hepes で保存した桑実期胚で、2日間の保存で 17~67%生存していたが、M2 でのみ胚盤胞への発生が認められた。

一方、野生型マウス (C57BL/6J) の体外受精由来の初期胚 (1-細胞期卵、2-細胞期胚、8-細胞期胚、桑実期胚、胚盤胞) を、ローダミンデキストランを含む前述した種々の保存液中に浸漬し、至適条件下でエレクトロポレーションを行った後、真空乾燥及び常温保存 (1~14 日) を行った。保存後、保存胚に復水処理を施し、生存性を確認した。その結果、ローダミンデキストランの細胞内取り込みによる蛍光を発する胚は得られたが、これらの胚について真空乾燥・常温保存を行ったところ、復水後、回収された胚で生存は認められなかった。

更に、マウス 1-細胞期卵の細胞質にトレハロース/ローダミンデキストランを顕微注入した後、1日培養して発生した 2-細胞期胚について種々の条件下で真空乾燥・常温保存を行い、復水後の胚の生存性を確認したが、どの条件下でも、生存している胚は得られなかった。

以上の結果から、初期胚の真空乾燥にはトレハロースの保護効果が認められないこと、及び液状保存では、桑実期胚で比較的耐性があり、室温、低温共に 2 日の保存が限界であることがわかった。

(3) 卵子及び初期胚の真空乾燥後、長期常温保存の確認

マウス精子では、真空乾燥した精子を 1 年以上常温保存しても、顕微授精により受精能を有し、受精卵を卵管移植することにより、正常な産仔が得られている。しかし、本研究において、卵子及び初期胚では、真空乾燥の段階で死滅することがわかった。従って、真空乾燥卵子及び初期胚の長期常温保存は、実施することができなかった。

今後は、トレハロース以外の真空乾燥に効果がある生体成分保護機能を有する物質の探索が必要であるが、卵子及び初期胚は精子とは異なり、細胞質を有しているため、乾燥に対する耐性が欠如していることが推察される。従って、凍結保存のように、卵子及び初期胚を、一旦脱水させた後、トレハロースのような保護物質を含む保存液中で乾燥後にガラス化させることによって、復水後、生存胚が得られる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 21件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 N. Fujiwara, K. Miyahara, N. Nakazawa-Tanaka, Y. Oishi, C. Akazawa, N. Tada, A. Yamakata	4. 巻 39
2. 論文標題 Differentiation of enteric neural crest cells transplanted from SOX10-Venus mouse embryonic stem cells into the gut of the endothelin receptor B null mouse model.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00383-022-05318-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 S. Noda, N. Hattori, S Sato, N. Tada.	4. 巻 15
2. 論文標題 Impaired mitochondrial accumulation and Lewy pathology in neuron-specific FBX07-deficient mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 54
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13041-022-00936-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 H. Xu, M. Nakajima, I. Ogino, K. Kawamura, C. Akiba, C. Kamohara, K. Sakamoto, K. Karagiozov, E. Nakamura, N. Tada, H. Arai, A. Kondo, M. Miyajima.	4. 巻 19
2. 論文標題 Ptpn20 deletion in H-Tx rats facilitates cotransporter-mediated water transport in the choroid plexus: evidence of genetic risk for hydrocephalus in an experimental study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Fluids and Barriers of the CNS	6. 最初と最後の頁 39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12987-022-00341-z.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 A. Suzuki, C. Iwaya, K. Ogata, H. Yoshioka, J. Shim, I. Tanida, M. Komatsu, N. Tada, J. Iwata.	4. 巻 79
2. 論文標題 Impaired GATE16-mediated exocytosis in exocrine tissues causes Sjogren's syndrome.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Life Sciences	6. 最初と最後の頁 307
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00018-022-04334-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Nishina, Y. Deguchi, D. Ohshima, W. Takeda, M. Ohtsuka, S. Shichino, S. Ueha, S. Yamazaki, M. Kawachi, E. Nakamura, C. Nishiyama, Y. Kojima, S. Adachi-Akahane, M. Hasegawa, M. Nakayama, M. Oshima, H. Yagita, K. Shibuya, T. Mikami, N. Inohara, K. Matsushima, N. Tada, H. Nakano	4. 巻 12(1)
2. 論文標題 Interleukin-11-expressing fibroblasts have a unique gene signature correlated with poor prognosis of colorectal cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-22450-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y. Hayashi, H-C. Lee-Okada, E. Nakamura, N. Tada, T. Yokomizo, Y. Fujiwara, I. Ichi.	4. 巻 595
2. 論文標題 Ablation of fatty acid desaturase 2 (FADS2) exacerbates hepatic triacylglycerol and cholesterol accumulation in polyunsaturated fatty acid-depleted mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 1920-1932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.14134.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. Sato, S. Noda, S. Torii, T. Amo, A. Ikeda, M. Funayama, J. Yamaguchi, T. Fukuda, H. Kondo, N. Tada, S. Arakawa, M. Watanabe, Y. Uchiyama, S. Shimizu, N. Hattori	4. 巻 30
2. 論文標題 Homeostatic p62 levels and inclusion body formation in CHCHD2 knockout mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 443-453
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddab057	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Sakamoto, M. Nakajima, K. Kawamura, E. Nakamura, N. Tada, A. Kondo, H. Arai, M. Miyajima	4. 巻 37(11)
2. 論文標題 Ependymal ciliary motion and their role in congenital hydrocephalus.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Child's Nervous System	6. 最初と最後の頁 3355-3364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00381-021-05194-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sachiko Noda; Takahiro Fukuda; Norihiro Tada; Yasuo Uchiyama; Keiji Tanaka; Nobutaka Hattori.	4. 巻 136
2. 論文標題 Loss of Parkin contributes to mitochondrial turnover and dopaminergic neuronal loss in aged mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurobiology of Disease.	6. 最初と最後の頁 104717
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sachiko Noda; Shigeto Sato; Takahiro Fukuda; Norihiro Tada; Nobutaka Hattori.	4. 巻 13
2. 論文標題 Aging-related motor function and dopaminergic neuronal loss in C57BL/6 mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H Maruyama, A Taguchi, M Mikane, H Lu, N Tada, M Ishijima, H Kaneko, M Kawai, S Goto, A Saito, R Ohashi, Y Nishikawa, S Ishii.	4. 巻 2
2. 論文標題 Low bone mineral density due to secondary hyperparathyroidism in the GlatmTg(CAG-A4GALT) mouse model of Fabry disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FASEB BioAdv.	6. 最初と最後の頁 365-381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Juan Alejandro Oliva Trejo, Isei Tanida, Chigure Suzuki, Soichiro Kakuta, Norihiro Tada, and Yasuo Uchiyama.	4. 巻 10(1)
2. 論文標題 Characterization of starvation-induced autophagy in cerebellar Purkinje cells of pHluorin-mKate2-human LC3B transgenic mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-66370-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomoaki Koga, Fumiyuki Sasaki, Kazuko Saeki, Soken Tsuchiya, Toshiaki Okuno, Mai Ohba, Takako Ichiki, Satoshi Iwamoto, Hirotsugu Uzawa, Keiko Kitajima, Chikara Meno, Eri Nakamura, Norihiro Tada, Yoshinori Fukui, Junichi Kikuta, Masaru Ishii, Yukihiko Sugimoto, and Mitsuyoshi Nakao, Takehiko Yokomizo.	4. 巻 8
2. 論文標題 Expression of leukotriene B4 receptor 1 defines functionally distinct DCs that control allergic skin inflammation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cellular & Molecular Immunology	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41423-020-00559-7.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Asada Y, Okano M, Ishida W, Iwamoto S, Fukuda K, Hirakata T, Tada N, Fukushima A, Ebihara N, Kudo A, Matsuda A.	4. 巻 68
2. 論文標題 Periostin deletion suppresses late-phase response in mouse experimental allergic conjunctivitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 233-239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2018.09.007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Seitaro Kosaka, Masahiro Takeda, Takanori Ochi, Katsumi Miyahara, Eri Nakamura, Norihiro Tada, Geoffrey J. Lane, Atsuyuki Yamataka.	4. 巻 35
2. 論文標題 Compromised vitality of spermatozoa after contact with colonic mucosa in mice: implications for fertility in colon vaginoplasty patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 71-75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-018-4377-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koji Nishihara, Takahiro Shiga, Eri Nakamura, Tomohiko Akiyama, Takashi Sasaki, Sadafumi Suzuki, Minoru S.H. Ko, Norihiro Tada, Hideyuki Okano, and Wado Akamatsu.	4. 巻 12
2. 論文標題 Induced Pluripotent Stem Cells Reprogrammed with Three Inhibitors Show Accelerated Differentiation Potentials with High Levels of 2-Cell Stage Marker Expression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 305-318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2018.12.018.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomomasa Yokomizo, Naoki Watanabe, Terumasa Umemoto, Junichi Matsuo, Ryota Harai, Yoshihiko Kihara, Eri Nakamura, Norihiro Tada, Tomohiko Sato, Tomoiku Takaku, Akihiko Shimono, Hitoshi Takizawa, Naomi Nakagata, Seiichi Mori, Mineo Kurokawa, Daniel Tenen, Motomi Osato, Toshio Suda, and Norio Komatsu.	4. 巻 216
2. 論文標題 Hlf marks the developmental pathway for hematopoietic stem cells but not for erythro-myeloid progenitors.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Exp Med	6. 最初と最後の頁 1599-1614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20181399.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miki Yokoyama H. Kurihara, Shizuko Ichinose, Shozo Ichinose, Masaru Kurosawa, Norihiro Tada, Chihiro Iwahara, Hironori Matsuda, Kazue Terasawa, Katarzyna Podyma-Inoue, Koichi Furukawa, and Kazuhisa Iwabuchi.	4. 巻 67
2. 論文標題 KIF11 as a potential marker of spermatogenesis within mouse seminiferous tubule cross-sections.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Histochem Cytochem	6. 最初と最後の頁 813-824
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1369/0022155419871027.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Qingshum Lin, Mareki Ohtsuji, Hirofumi Amano, Hiromichi Tsurui, Norihiro Tada, Ryota Sato, Hidehiro Fukuyama, Hiroyuki Nishimura, J Sjeff Verbeek, Sachiko Hisose	4. 巻 201
2. 論文標題 FcγRIIB on B cells and myeloid cells modulates B cell activation and autoantibody responses via different but synergistic pathways in Lupus-Prone Yaa mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 3199-3210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1701487	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Asada Y, Okano M, Ishida W, Iwamoto S, Fukuda K, Hirakata T, Tada N, Fukushima A, Ebihara N, Kudo A, Matsuda A	4. 巻 68
2. 論文標題 Periostin deletion suppresses late-phase response in mouse experimental allergic conjunctivitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 233-239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2018.09.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koji Nishihara, Takahiro Shiga, Eri Nakamura, Tomohiko Akiyama, Takashi Sasaki, Sadafumi Suzuki, Minoru S.H. Ko, Norihiro Tada, Hideyuki Okano, and Wado Akamatsu	4. 巻 12
2. 論文標題 Induced Pluripotent Stem Cells Reprogrammed with Three Inhibitors Show Accelerated Differentiation Potentials with High Levels of 2-Cell Stage Marker Expression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 305-318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2018.12.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 呉林 なごみ, 児玉 昌美, 村山 尚, 杉原 匡美, 石井 光一郎, 岡部 雄太, 村越 伸行, 三浦 綾, 西尾 元, 井上-上野 由紀子, 井上 高良, 野口 悟, 中村 衣里, 金井 富士夫, 多田 昇弘, 櫻井 隆
2. 発表標題 複数のRyR2変異マウスモデル系統を用いたカテコラミン誘発性多型性心室頻拍 (CPVT) に対する抗不整脈薬の評価
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 陣内 ひろみ, 佐伯 和子, 中村 衣里, 多田 昇弘, 李 賢哲, 横溝 岳彦
2. 発表標題 雄性生殖における脂肪酸輸送体 (FATP1) の役割の解明
3. 学会等名 第95回日本生化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 陣内 ひろみ, 佐伯 和子, 中村 衣里, 多田 昇弘, 李 賢哲, 横溝 岳彦
2. 発表標題 精子における脂肪酸輸送体 (FATP1) の役割の解明
3. 学会等名 第64回日本脂質生化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野田幸子、佐藤栄人、福田隆浩、多田昇弘、服部信孝
2. 発表標題 C57BL/6マウスにおける加齢に伴う運動機能とドーパミン作動性ニューロンの変性
3. 学会等名 第68回日本実験動物学会総会 (Web開催)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村衣里、荻野郁子、川村海渡、阪本浩一朗、中島円、宮原克、多田昇弘、宮嶋雅一
2. 発表標題 水頭症を発症する微小管モーター蛋白質ダイニンDnah5欠損マウスの病態解析
3. 学会等名 第68回日本実験動物学会総会 (Web開催)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤栄人、野田幸子、多田昇弘、服部信孝
2. 発表標題 CHCHD2欠損パーキンソン病モデルマウスの解析
3. 学会等名 第68回日本実験動物学会総会 (Web開催)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村衣里、荻野郁子、川村海渡、中島円、宮原克、吉田光孝、多田昇弘、宮嶋雅一
2. 発表標題 微小管モータータンパク質ダイニンDnah5の欠損マウスは繊毛形成不全を起こし水頭症を発症する
3. 学会等名 第67回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野田幸子、佐藤栄人、多田昇弘、福田隆浩、服部信孝
2. 発表標題 加齢マウスにみられる運動機能とドーパミン神経細胞の変性について
3. 学会等名 第66回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村衣里、荻野郁子、川村海渡、中島円、宮原克、多田昇弘、宮嶋雅一
2. 発表標題 ゲノム編集技術を用いた水頭症モデルマウスの作製
3. 学会等名 第66回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口裕之、多田昇弘
2. 発表標題 新動物実験施設への移転に向けた取り組み
3. 学会等名 第53回日本実験動物技術者協会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村衣里、多田昇弘
2. 発表標題 マウスにおけるピエゾマイクロインジェクション法を用いた効率的な個体復元の試み
3. 学会等名 第65回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kosaka S, Takeda M, Miyahara K, Nakamura E, Norihiro Tada N, Lane G, Yamataka A
2. 発表標題 Decreased viability/motility of spermatozoa after contact with colonic mucosa in mice may be implicated in infertility of cloacal malformation patients after colon vaginoplasty
3. 学会等名 The Pacific Association of Pediatric Surgeons (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Seitaro Kosaka, Masahiro Takeda, Ochi Takanori, Katsumi Miyahara, Eri Nakamura, Norihiro Tada, Geoffrey Lane, Atsuyuki Yamataka
2. 発表標題 Compromised vitality of spermatozoa after contact with colonic mucosa in mice. Implications for fertility in colon vaginoplasty patients.
3. 学会等名 31st INTERNATIONAL SYMPOSIUM (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 多田昇弘 他 共著	4. 発行年 2021年
2. 出版社 (株)技術情報協会	5. 総ページ数 602
3. 書名 ゲノム編集技術を応用した製品開発とその実用化	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 パーキン病モデル非ヒト動物	発明者 佐藤栄人、野田幸子、多田昇弘、服部信孝	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-154898	取得年 2019年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------