

マウス生殖細胞は、エピプラスト領域から始原生殖細胞 (PGC) として分化を開始する。これまでに 11.5 日齢以降の PGC を用いて核移植クローンを行い、ゲノム刷込み消去のために産子は得られないことを明らかにした。DNA メチル化検索の結果、10.5 日 PGC の少なくとも 1 部は、体細胞型ゲノム刷込み状態が保たれていたことから、これらの PGC を用いることにより産子が得られる可能性がある。そこで PGC 特異マーカーを持つトランスジェニックマウス胎仔から 10.5 日 PGC を採取し、核移植クローンを行った。その結果、これまでに産子 3 匹 (うち 2 匹は死産) が得られており、生殖細胞として分化を開始した後も、ゲノム刷込みが残っている限り、完全な再プログラム化が生じることを明らかにした。

#### 4) 129 系マウスの核移植における正常性について

129 系マウスを用いることにより体細胞核移植クローンの効率が改善することが知られている。そこでその機序を検討するために、胚盤胞から着床後までの 129 系クローン胚の遺伝子発現および組織学的検索を行った。全能性維持に関わる因子である Oct-3/4 のプロモーター+GFP 遺伝子を持つトランスジェニックマウスを用いて卵丘細胞由来胚盤胞の蛍光を観察した。その結果、129 系 background の場合により蛍光強度が強いことが明らかになった。また、着床後に通常の核移植胚では胎盤外円錐細胞の増殖がほとんど見られないが、129 系卵丘細胞由来の着床部位では胎盤外円錐細胞が正常に増殖していた。そして、129 系卵丘細胞クローンの胎盤は、その大きさも組織学的構造も正常であった。

#### D. 考察

マウスバンク事業の拡大とともに、多くの自然突然変異あるいは遺伝子改変マウスの維持が必要になってきた。その一部は完全な不妊あるいは不妊傾向のある系統である。また、凍結技術の不備により、融解後の精子が完全不動となり、体外受精による産子の作出が不可能な場合も多い。これらは顕微授精などの生殖補助技術により継代が必要である。本研究により、卵子・精子とも試みた限り、近交系であっても産子を作成することに成功した。また、精子細胞のように未成熟精子であっても問題はないことが明らかであった。よって、マウスの顕微授精技術は、顕微操作、胚の培養技術、胚移植技術が一定以上のレベルになれば、マウスバンク事業へ十分応用が可能であると言える。

一方、核移植技術は、まだ系統保存への応用の段階ではない。マウス核移植クローンの効率、特に胚移植後の産子への発生率は、胚性幹細胞 (ES 細胞) をドナーとして用いた場合に有意に高いこ

とが知られている。これは、ES 細胞のゲノムが未分化状態にあるために、卵子内での再プログラム化のエラーが少ないためであると考えられている。そのため成体組織に存在する幹細胞もクローンのドナーとして適しているのではないかと、いう推測がなされている。そこで本研究では、特異抗体を用いて選別した造血系幹細胞を用いて核移植クローンを行った。2-cell へ高率な発生は予想通りであったが、その後の発生低下が顕著であった。zygote clock は正常に働いていることから、そのうちの一部の遺伝子が活性化していない可能性が高い。今後、活性化していない遺伝子の特定をする予定である。成体幹細胞のゲノムは再プログラム化されるものの、必ずしも可塑性に富むとは限らないことが示された。

本研究では、初めてマウス生殖細胞由来のクローン産子の作出に成功した。生殖細胞として分化を開始した後も、ゲノム刷込みが残っている限り、完全な再プログラム化が生じることを明らかにした。

129 系マウスを用いたクローンの解析から、マウス体細胞核移植クローンの典型的な初期胎盤形成不全および後期の胎盤過形成を生じることがなく、これが 129 系体細胞核移植クローンの良好な効率につながっていることが示唆された。本系統の詳細な検討を今後行い、クローンによる再プログラム化エラーの本態を明らかにする予定である。

#### E. 結論

マウス顕微授精実験から、顕微操作、胚の培養技術、胚移植技術が一定以上のレベルになれば、マウスバンク事業へ十分応用が可能であることを明らかにした。核移植クローン実験から、成体幹細胞ゲノムは必ずしも再プログラム化されやすくはないこと、生殖細胞ゲノムは完全に再プログラム化されうることを明らかにした。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Fulka Jr., J., Miyashita, N., Nagai, T. and Ogura, A. Do cloned mammals skip a reprogramming step? *Nat Biotechnol.* 22: 25-26, 2004.
- 2) Inoue, K., Ogonuki, N., Mochida, K., Yamamoto, Y., Takano, K., Kohda, T., Ishino, F. and Ogura, A. Effects of Donor Cell Type and Genotype on the Efficiency of Mouse Somatic Cell Cloning. *Biol Reprod.* 69: 1394-1400, 2003.
- 3) 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*. (in press).

4) 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*. (in press).

5) Kanatsu-Shinohara, M., Ogonuki, N., Inoue, K., Miki, H., Ogura, A., Toyokuni, S. and Shinohara, T. Long-Term Proliferation in Culture and Germline Transmission of Mouse Male Germline Stem Cells. *Biol Reprod*. 69: 612-616, 2003.

6) Kanatsu-Shinohara, M., Ogonuki, N., Inoue, K., Ogura, A., Toyokuni, S. and Shinohara, T. Restoration of fertility in infertile mice by transplantation of cryopreserved male germline stem cells. *Hum Reprod*. 18: 2660-2667, 2003.

7) Miki, H., Lee, J., Inoue, K., Ogonuki, N., Noguchi,

Y., Mochida, K., Kohda, T., Nagashima, H., Ishino, F. and Ogura, A. Microinsemination with first-wave round spermatids from immature male mice. *J Reprod Dev*. 50: 131-137, 2004.

8) 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-astheno-teratozoospermia in mice lacking CCR4-associated factor 1, a novel regulator of RXR $\beta$ . *Nat Genet*, (in press), 2004.

## 2. 学会発表

Ogura, A. Phenotypic effects of somatic cell cloning in the mouse. The Third Meeting on Pathology of Genetically Modified Mice. October 2-4, 2003, Kumamoto, Japan.

## 精子細胞を用いた遺伝的品質検査法の開発および改良

分担研究者 加藤 秀樹 浜松医科大学医学部附属動物実験施設助教授  
協力研究者 高林 秀次 浜松医科大学医学部附属動物実験施設助手

マウス胚および精子の凍結保存(バンク)における系統の遺伝的保証のための細胞レベルでの遺伝的品質検査システムを確立することを目的として、精子を用いたマイクロサテライトマーカーの検出について基礎的研究を行い、その検査法を確立した。

### A. 研究目的

近年、遺伝子改変動物としてのトランスジェニックやノックアウトが多数作出され、医学、生物学の基礎研究に使われている。こうした現状に伴い、系統の保存形態と輸送形態が個体から凍結保存胚や凍結精子へと移りつつあり、それらの遺伝的品質管理に関する技術開発が急務となっている。生後の個体レベルではなく、凍結した状態の胚や配偶子(精子、卵子)レベルで検査が行われれば、迅速に品質の正しさを確認し、保証できる。こうした観点から我々は精子を材料としてマイクロサテライト DNA マーカーによる遺伝的品質検査法の基礎的研究を行った。

### B. 研究方法

肝細胞および精子細胞の核 DNA の精製については常法でおこなった。微量の精子細胞からの核 DNA の調製は以下のように行った。精子用凍結保存液 R18S3 で凍結したマウスの精子  $10\mu\text{l}$  を解凍し、その  $5\mu\text{l}$  を TYH メディウム  $300\mu\text{l}$  で希釈、血球計算盤を用いてカウントした。適切な細胞数の精子液をエッペンドルフチューブに採り、遠心後、上清を捨てた。一方には Proteinase K(蒸留水で  $40\mu\text{g}/\mu\text{l}$  の濃度に調製)を含む 1xPCR reaction バッファー  $10\mu\text{l}$  を加え、もう一方には PK 加非イオン性界面活性剤(0.45% NP40, 0.45% TW20)を含む 1xPCR reaction バッファー  $10\mu\text{l}$  を加えた。55°C で 1 時間加熱した後、95°C で 10 分の PK 不活化処理を行った。上記のように処理した精子液  $2\mu\text{l}$  を用いた PCR は常法で行った。本研究は浜松医科大学の動物実験指針を基に計画され、動物実験委員会の審査によって承認され、実施された。

### C. 研究結果

肝細胞および精子細胞から核 DNA を抽出後、GeneQuant Pro で量を測定した。その結果、PK 処理 1 時間に比べ 16 時間の方が約 2 倍の収量であった。精子細胞は肝細胞に比べて Proteinase K により処理されにくいことがわかった。

次に、精子細胞からの核 DNA 抽出法として、従来法である Proteinase K を含む 1xPCR バッファーで

処理する方法とそれに非イオン性界面活性剤を加えて処理する方法とを比較した。その結果、後者の方が PCR プロダクトをバンドとしてより鮮明に検出することができた。

### D. 考察

1 種類のマイクロサテライトマーカーを検出するための PCR に用いられるテンプレート DNA の量を最大  $150\text{ng}$  とすると、これは精子約 30,000 個であり、凍結保存精子約  $0.09\mu\text{l}$  に相当する。5 種類のマーカーを調べるとしても、計約  $0.5\mu\text{l}$  である。融解した凍結精子がすべて体外受精などに使われることはないと考えられるので、一部をマイクロサテライトマーカーの genotyping に使用し、由来系統を同定することは現実的であると考えられる。

### E. 結論

本研究は、精子懸濁液として凍結保存されているマウス系統について精子を用いて系統識別を行うための遺伝子型判定法を開発することであった。体外授精などに必要として融解される凍結保存精子懸濁液が全部使用されることはないため、残った精子懸濁液を使って判定を行うことは十分可能であることが明らかになり、当初の目的が達成された。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Katoh H, Oda K, Hioki K, Muguruma K. A genetic quality testing system for early stage embryos in the mouse. *Exp Anim*, 52: 397-400, 2003.

Katoh H, Watanabe Y, Ebukuro M, Muguruma K, Takabayashi S, Shiroishi T. Chromosomal mapping of the peroneal muscular atrophy (pma) gene in the mouse. *Exp Anim*, 52: 433-436, 2003.

加藤秀樹. 遺伝的モニタリング. *医学のあゆみ* 204: 221-224, 2003.

#### 2. 学会発表

Katoh H, Kimura J, Takabayashi S. Genetic monitoring in mice. The 3rd Meeting on Pathology of Genetically Engineered Mice, Kumamoto, November 2003.

各種実験動物の血清抗体検査：ELISA法による抗HVJ抗体検出

分担研究者 山田 靖子 国立感染症研究所室長

協力研究者 中山 一栄、滝本 一広（国立感染症研究所）

研究要旨 センダイウイルス（HVJ）は宿主域が広く、マウス、ラット以外の小型齧歯類、モルモット、ウサギも汚染の可能性がある。これら動物種のHVJに対する感受性を確認すると共に、より高感度で簡便なELISA法により各種動物の抗HVJ抗体の検出を試み、CF法と感度を比較することによりその実用性について検討した。

各種動物にHVJを接種し感染血清を得た。感染血清または免疫血清を陽性コントロールとして、ELISAによる抗HVJ抗体の検出を行った。ウサギ、モルモット、ハムスター、マストミスではProtein Gが二次抗体として最適であった。スナネズミではいずれの二次抗体でも特異抗体は検出できなかったが、CF法により感受性が確認された。Protein Gを使用したELISA法は、各動物の抗IgG抗体を使用せずに、各種ウイルス、細菌の血清抗体検査に適用可能な実用的な方法と思われた。

A. 研究目的

センダイウイルス（HVJ）は、宿主域が広く、実験動物施設ではマウス、ラット以外の小型齧歯類（マストミス、スナネズミ、ハムスター等）、モルモット、ウサギも汚染の可能性がある。現在、これらの動物のHVJ検査には補体結合試験（CF法）や赤血球凝集抑制試験（HI法）が常用されている。CF法、HI法は動物種に関わらず検査可能であるが、感度が低いという短所がある。本研究では、マウス、ラット以外の小型齧歯類のHVJに対する感受性を確認すると共に、より高感度で簡便なELISA法により各種動物の抗HVJ抗体の検出を試み、CF法と感度を比較することによりその実用性について検討する。

B. 研究方法

(1) 各種動物陽性血清の作製

マストミス、スナネズミ、ハムスター、

モルモットにHVJ（Z株）を経鼻接種し、4週後に全採血して血清を得た。SPF動物を入手後すぐに全採血して得た血清を陰性血清とした。マストミス陰性血清は感染研で系統維持されているものから得た。ウサギ免疫血清は感染研加藤篤先生より御分与いただいた。

(2) ペルオキシダーゼ標識二次抗体

抗ウサギ、モルモット、ハムスター、マウスIgGの標識抗体は市販のものを使用した。各種動物のIgGに反応性が認められているProtein Gの標識試薬を購入し、発色の特異性について抗動物IgG抗体と比較した。マストミス、スナネズミの抗IgG抗体は市販されていないので抗マウスIgG抗体を使用し、交叉性を検討した。

(3) ELISA法

市販のHVJ抗原をコーティング溶液で400倍に希釈し、100 $\mu$ lずつELISA用プレートに加え、4 $^{\circ}$ Cで一晩静置した。3

回洗浄後、ブロッキング溶液を室温で 1 時間反応させた。3 回洗浄後、抗原プレートとして使用した。100 倍から 2 倍段階希釈した陽性・陰性血清を抗原プレートに加え、室温で 1 時間反応させた。3 回洗浄後、上記の抗動物 IgG 抗体あるいは Protein G を加え、室温で 1 時間反応させた。3 回洗浄後、OPD 試薬を加え、暗所で 30 分反応させた。反応停止液を加え、吸光度を測定した。

#### (4) 補体結合 (CF) 反応

非働化した陽性・陰性血清をゼラチン・ベロナール緩衝液で 10 倍から 2 倍段階希釈し、V 字型プレートへ加えた。市販の HVJ 抗原を 8 倍希釈して加え、さらに、モルモット血清を補体として加え 4°C で一晩静置した。羊感作血球を加えて 37°C で 1 時間静置後、溶血の程度により判定した。補体結合反応で得られた抗体価を ELISA で得られた抗体価と比較し、感度について検討した。

### C. 研究結果

ウサギ免疫血清は HVJ 抗原に対し特異反応を示し、二次抗体に Protein G を使用することにより顕著な反応を示した。HVJ を感染させた動物では、マストミス、ハムスター、モルモットの陽性血清は、抗動物 IgG 抗体では反応が弱く、Protein G で明確な特異反応を示した。スナネズミではいずれの二次抗体でも非常に反応が弱かった。陰性血清は、いずれの二次抗体を使用した場合でも非特異反応は認められなかった。CF 法では、スナネズミを含む全動物の陽性血清について特異抗体を検出でき、HVJ に対して感受性があることが示された。Protein G を用いた ELISA 法による抗体価は、CF 法に比べ明らかに高く、CF 法の 5-100 倍であった。

### D. 考察

マストミス、スナネズミは、ハムスター、モルモット、ウサギと同様に HVJ に対し感受性があることが示された。実験動物施設では、これら動物種が汚染源となる可能性があるため、マウス等と同様に定期的な検査が必要である。

Protein G を二次抗体として用いた ELISA 法は、マストミス、ハムスター、モルモット、ウサギの抗 HVJ 抗体を CF 法より高感度に検出でき、これら動物種の HVJ 検査に有用であると思われる。また、昨年度のワクシニアウイルスに対する抗体検出の結果と合わせて考えても、Protein G を使用した ELISA 法は、各動物の抗 IgG 抗体を使用せずに、各種ウイルス細菌の血清抗体検査に適用可能な実用的な方法と思われる。

スナネズミで、抗マウス IgG 抗体が抗ワクシニアウイルス抗体検出には有効であったが抗 HVJ 抗体検出には不適であったのは、抗体のロット差に起因すると思われるので、より適切な二次抗体を検討する必要がある。

### E. 結論

今回の結果より、マストミス、スナネズミはハムスター、モルモット、ウサギと同様に HVJ に対する感受性があることが示された。Protein G を用いた ELISA 法は、マストミス、ハムスター、モルモット、ウサギの抗 HVJ 抗体を高感度に検出でき、これら動物種の各種ウイルス、細菌の血清抗体検査に有用であると思われる。

### F. 研究発表

「マウス・ラット以外の小型齧歯類実験動物におけるセンダイウイルスに対する感受性と抗体検出法の検討」第 51 回実験動物学会総会、2004 年 5 月、長崎

**動物陽性血清**

Sendai virus (HVJ) Z株 マスト

ミス :  $3 \times 10^6$  PFU

スナネズミ :  $6 \times 10^6$  PFU

ハムスター :  $7.5 \times 10^6$  PFU

モルモット :  $1.2 \times 10^7$  PFU

経鼻接種 → 4週後採血

ウサギ: 免疫血清

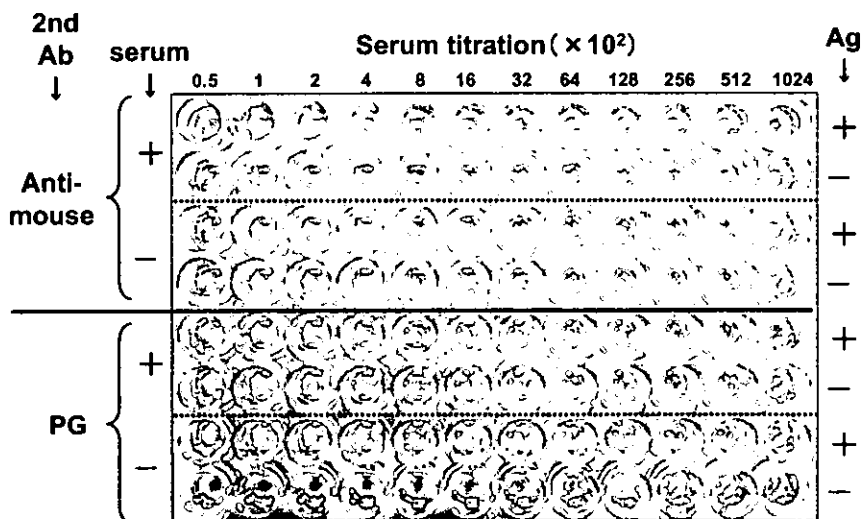
マウス: 市販のHVJ陽性血清

ELISA抗原: 市販のHVJ抗原

ペルオキシダーゼ標識二次抗体: 各動物の抗IgG抗体、  
Protein G

(Protein AはProtein Gより反応性が低いので二次抗体候補から外した)

**マウスのELISA**



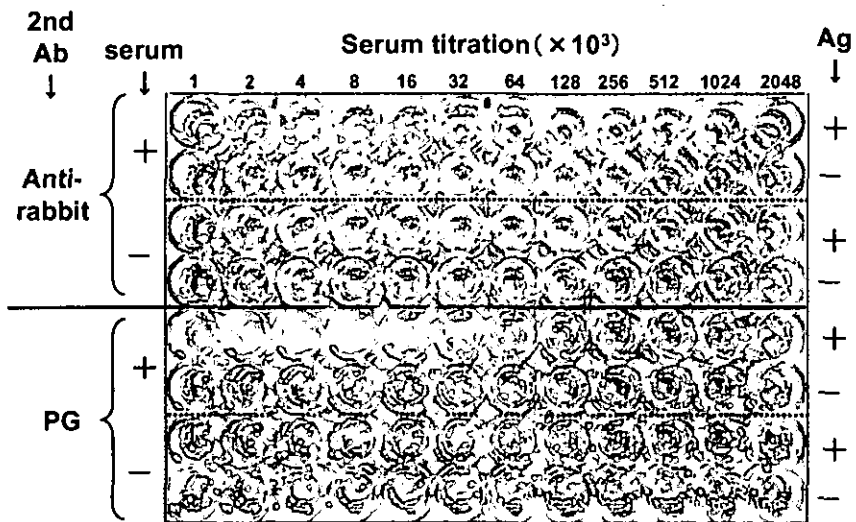
PG: Protein G







## ウサギのELISA



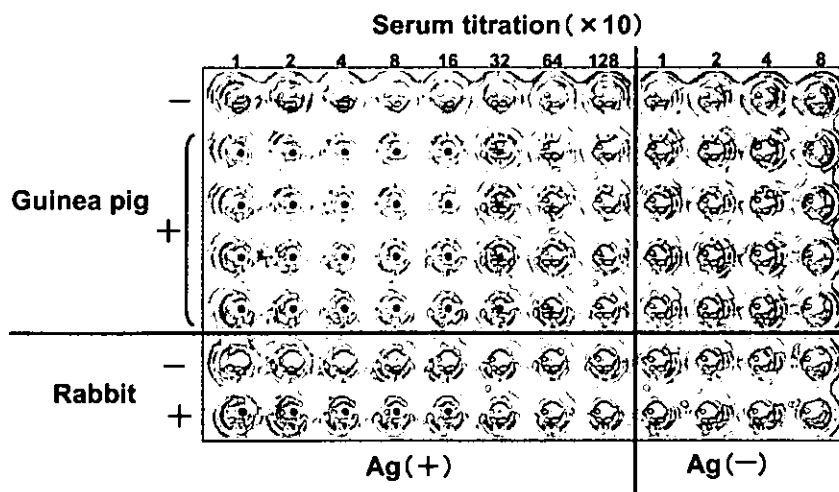
PG: Protein G

	ペルオキシダーゼ標識 ELISA二次抗体		HVJに対する 感受性
	Protein G	抗動物 IgG	
マウス	—	++	○
マストミス	+++	+*	○
スナネズミ	—	-*	○ (CF法で確認)
ハムスター	++	+	○
モルモット	++++	+	○
ウサギ	+++	+	○

\*抗マウスIgG



### モルモット、ウサギのCF test



### 各検査法の抗HVJ抗体価

	抗体価		
	ELISA (Protein G)	ELISA (抗動物IgG)	CF
マストミス	1,600	<100	40
スナネズミ	—	—	320
ハムスター	800	400	160
モルモット	12,800	200	160
ウサギ	16,000	200	160

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
中潟直己	胚操作実験施設 精子凍結保存室	有馬朗人	これからの大学等 研究施設 第2編「生命科学編」	文教施設協会、科学新聞社	東京	2003	6-24,25 6-27,28
中潟直己	遺伝子改変マウスの胚・精子バンク	山村研一	疾患モデル動物-病因解析での役割と限界 別冊・医学のあゆみ	医歯薬出版	東京	2004	24-27
葛西孫三郎	胚凍結保存	日本不妊学会編	「新しい生殖医療技術のガイドライン」改訂第2版	金原出版	東京	2003	99-111
横山泰介	胚バンク	三菱総合研究所・三菱化学生命科学研究所編著	バイオ・ゲノムを読む事典	東洋経済新聞社	東京	2004	211-213
Mukaida T, Kasai M.	Cryobiology: Slow freezing and vitrification of embryos.	Gardner DK, Lane M, Watson A (eds)	A Laboratory Guide to the Mammalian Embryo	Oxford University Press	Oxford	2004	375-390

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Ogonuki N, Mochida K, Inoue K, <u>Matsuda J</u> , Yamamoto Y, Takano K, <u>Ogura A</u> .	Fertilization of Oocytes and Birth of Normal Pups Following Intracytoplasmic Injection with Spermatids in <i>Mastomys (Praomys coucha)</i> .	Biol. Reprod.	68	1821-7	2003
Koura M, Handa H, Noguchi Y, Takano K, Yamamoto Y, <u>Matsuda J</u> , <u>Suzuki O</u> .	Sequence Analysis of cDNA Encoding Follicle-stimulating Hormone and Luteinizing Hormone Beta-subunits in the Mongolian Gerbil ( <i>Meriones unguiculatus</i> ).	Gen Comp Endocr	in press		2004
Noguchi A, Takekawa N, Einarsdottir T, Koura M, Noguchi Y, Takano K, Yamamoto Y, <u>Matsuda J</u> , <u>Suzuki O</u> .	Chromosomal mapping and zygosity check of transgenes based on flanking genome sequences determined by genomic walking.	Exp Anim	in press		2004
<u>Matsuda J</u> , <u>Suzuki O</u> , Oshima A, Yamamoto Y, Noguchi A, Takimoto K, Itoh M, Matsuzaki Y, Yasuda Y, Ogawa S, Sakata Y, Nanba E, Higaki K, Ogawa Y, Tominaga L, Ohno K, Iwasaki H, Watanabe H, Brady RO, Suzuki Y,	Chemical chaperone therapy for brain pathology in GM1-gangliosidosis.	Proc Natl Acad Sci USA	100	15912-15917	2003
Miura S, Tsunoda N, Ikeda S, Kai Y, Ono M, Maruyama K, Takahashi M, Mochida K, <u>Matsuda J</u> , Lane MD, Ezaki O.	Regulatory sequence elements of mouse GLUT4 gene expression in adipose tissues.	Biochem Biophys Res Commun	312	277-284	2003
Han MS, Niwa K, <u>Kasai M</u> .	In vivo development of vitrified rat embryos: effects of timing and sites of transfer to recipient females.	Biol Reprod	70	425-429	2004
Migishima, F., Oikawa, A., Kondo, S., Ema, H., Morita, Y., Nakauchi, H., <u>Yokoyama M.</u> , Song, S., Nishijima, M., Okabe, M. and Shinohara, N.	Full reconstitution of hematopoietic system by murine umbilical cord blood: Possible phenotypic difference between cord blood and bone marrow stem cells.	Transplantation	75	1820-1826	2003
Toyoda, M., Shirota, H., Nakajima, K., Kojima, M., Takahashi, M., Kubota, M., Suzuki-Migishima, R., Motegi, Y., <u>Yokoyama M.</u> and Takeuchi, T.	<i>jumonji</i> downregulates cardiac cell proliferation by repressing cyclin D1 expression.	Dev. Cell.	5	85-97	2003
Yamamoto, M., Wada, N., Kitabatake, Y., Watanabe, D., Anzai, M., <u>Yokoyama M.</u> , Teranishi, Y. and Nakanishi, T.	Reversible suppression of glutamatergic neurotransmission of cerebellar granule cells in vivo by genetically manipulated expression of tetanus neurotoxin light chain.	J. Neurosci	23	6759-6767	2003
Harada, T., Pineda, L. L., Nakano, A., Omura, K., Zhou, L., Iijima, M. and <u>Yokoyama M.</u>	Ataxia and male sterility (AMS) mouse. A new genetic variant exhibiting degeneration and loss of cerebellar Purkinje cells and spermatid cells.	Pathol. Int.	53	382-389	2003
Masaki, S., Takeoka, M., Taniguchi, S., <u>Yokoyama M.</u> and Nose, H.	Impaired arterial pressure regulation during exercise due to enhanced muscular vasodilatation in calponin knockout mice.	J. Physiol.	553	203-212	2003
右島富士男・横山 隆介・西島正博	ガラス化法による卵巣凍結保存の検討.	産婦人科の実際	52	2379-2382	2003
Nakatsukasa,E, Kashiwazaki,N, Takizawa,A, Shino,M, Kitada,K, Serikawa,T, Hakamata,Y, Kobayashi,E, Takahashi,R, Ueda,M, Nakashima,T, <u>Nakagata.N.</u>	Cryopreservation of spermatozoa from closed colonies, and inbred, spontaneous mutant, and transgenic strains of rats.	Comp.Med.	53(6)	639-41	2003
Kyuwa,S, Nishikawa,T, Kaneko,T, Nakashima,T, Kawano,K, Nakamura,N, Noguchi,K, Urano,T, Itoh,T, <u>Nakagata.N.</u>	Experimental evaluation of cross-contamination between cryotubes containing mouse 2-cell embryos and pathogens in liquid nitrogen tanks.	Exp. Anim.	52	67-70	2003

Suzuki,K, Satoh,Y, Lei,L, Ohta,S, Urano,T, <u>Nakagata,N</u> , Yamada,G.	Developmental biology meets with reproductive engineering; interdisciplinary science area as a breakthrough.	Cell. Mol. Biol.	49	653-60	2003
Oike,Y, Yasunaga,K, Ito,Y, Matsumoto,S, Maekawa,H, Morisada,T, Arai,F, <u>Nakagata,N</u> , Takeya,M, Masuho,Y, Suda,T.	Angiopoietin-related growth factor (AGF) promotes epidermal proliferation, remodeling, and regeneration.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA.	100	Sep-94	2003
Kamimura,E, Nakashima,T, Ogawa,M, Ohwada,K, <u>Nakagata,N</u> .	Study of low-temperature (4 degrees C) transport of mouse two-cell embryos enclosed in oviducts.	Comp Med.	53	393-6	2003
野口 章, 鈴木 治, 小浦美奈子, 高野 麻, 野口洋子, 山本美江, 松田 雅一郎	シアル酸転移酵素遺伝子ホモ導入マウスに見られた拡張型心筋症	日本疾患モデル学会記録	19	31-37	2003
<u>Suzuki O</u> , Hata T, Koura M, Noguchi Y, Takano K, Yamamoto Y, and <u>Matsuda J</u> .	Search for genes involved in developmental competence in mouse oocytes using suppression subtractive hybridization.	Reprod. Fert. Dev.	16	245-246	2004
<u>Suzuki O</u> , Hata T, Koura M, Noguchi Y, Takano K, Yamamoto Y, and <u>Matsuda J</u> .	Differential display analysis for genes relating to developmental competence of mouse oocytes.	Mol. Biol. Cell	14	108a	2003
Fulka Jr., J., Miyashita, N., Nagai, T. and <u>Ogura A</u> .	Do cloned mammals skip a reprogramming step?	Nat Biotechnol.	22	25-26	2004
Inoue, K., Ogonuki, N., Mochida, K., Yamamoto, Y., Takano, K., Kohda, T., Ishino, F. and <u>Ogura A</u> .	Effects of Donor Cell Type and Genotype on the Efficiency of Mouse Somatic Cell Cloning.	Biol Reprod.	69	1394-1400	2003
Inoue, K., Ogonuki, N., Yamamoto, Y., Takano, K., Miki, H., Mochida, K., and <u>Ogura A</u> .	Tissue-specific distribution of donor mitochondrial DNA in cloned mice produced by somatic cell nuclear transfer.	Genesis.(in press).			
Kai, M., Irie, M., Okutsu, T., Inoue, K., Ogonuki, N., Miki, H., Yokoyama, M., Migishima, R., Muguruma, K., Fujimura, H., Kohda, T., <u>Ogura A</u> , Kaneko-Ishino, T. and Ishino, F.	The Novel Dominant Mutation Dspd Leads to a Severe Spermiogenesis Defect in Mice.	Biol Reprod. (in press)			
Kanatsu-Shinohara, M., Ogonuki, N., Inoue, K., Miki, H., <u>Ogura A</u> , Toyokuni, S. and Shinohara, T.	Long-Term Proliferation in Culture and Germline Transmission of Mouse Male Germline Stem Cells.	Biol Reprod.	69	612-616.	2003
Kanatsu-Shinohara, M., Ogonuki, N., Inoue K., <u>Ogura A</u> , Toyokuni, S. and Shinohara, T.	Restoration of fertility in infertile mice by transplantation of cryopreserved mal germline stem cells.	Hum Reprod.	18	2660-2667.	2003
Miki, H., Lee, J., Inoue, K., Ogonuki, N., Noguchi, Y., Mochida, K., Kohda, T., Nagashima, H., Ishino, F. and <u>Ogura A</u> .	Microinsemination with first-wave round spermatids from immature male mice.	J Reprod Dev.	50	131-137.	2004
Nakamura, T., Yao, R., Ogawa, T., Suzuki, T., Ito, C., Tsunekawa, N., Inoue, K., Ajima, R., Miyasaka, T., Yoshida, Y., <u>Ogura A</u> , Toshimori, K., Noce, T., Yamamoto, T., and Noda, T.	Oligo-astheno-teratozoospermia in mice lacking CCR4-associated factor 1, a novel regulator of RXRb.	Nature Genetics (in press)			
<u>Katoh H</u> , Oda K, Hioki K, Muguruma K.	A genetic quality testing system for early stage embryos in the mouse.	Exp Anim	52	397-400	2003
<u>Katoh H</u> , Watanabe Y, Ebukuro M, Muguruma K, Takabayashi S, Shiroishi T.	Chromosomal mapping of the peroneal muscular atrophy (pma) gene in the mouse.	Exp Anim	52	433-436	2003
加藤秀樹	遺伝的モニタリング	医学のあゆみ	204	221-224.	2003

20030359

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。