

コモンマーモセットのマイクロサテライトマーカー開発研究

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
研究協力者 高林 秀次 浜松医科大学医学部附属動物実験施設助手
研究協力者 谷岡 功邦 財団法人実験動物中央研究所主任研究員

新たな霊長類の実験動物として財団法人実験動物中央研究所において開発が進められているコモンマーモセットの遺伝的マーカーとして、マイクロサテライトマーカーの開発を行った。

A. 研究目的

近年、新たな霊長類の実験動物として財団法人実験動物中央研究所で開発されているコモンマーモセット (*Callithrix jacchus*, 以下マーモセット) を集団として長期にわたって遺伝的に統御するためには、現集団の遺伝子型 (遺伝子構成) を把握する必要がある。調査対象としての遺伝子にマイクロサテライトマーカーを選び、その開発を行った。

B. 研究方法

NCBI ホームページのデータベースからマーモセットのゲノム DNA シークエンスをダウンロードし、遺伝子解析ソフトウェア GENETYX Ver. 7.0 (株式会社ゼネティックス) を使用し、MS マーカー (プライマーF および R) を設計した。その際的设计基準として、CA リピートが 10 個以上で、PCR により増幅される DNA の長さが約 120 ± 30 bp、 180 ± 30 bp、 240 ± 30 bp および 280 ± 30 bp のいずれかでバラつきがあること、そして、プライマーは長さが 20~25bp、GC 含量が 45~60% であるように設計した。設計したプライマーはインビトロジェン株式会社に作製を依頼した。一方、財団法人実験動物中央研究所より分与を受けたマーモセット 5 個体の皮膚をエッペンドルフチューブにとり、Lysis buffer (100mM Tris-HCl:pH7.5、12.5mM EDTA、2Na、150mM NaCl、1.0% SDS、50 μ g/ml Proteinase K) を 500 μ l 加え、55°C で 1 時間振盪した。続いて、フェノール/クロロホルム/イソアミルアルコール、クロロホルム、100%エタノール、70%エタノールのシリーズで処理をして核 DNA を精製し、最終的には TE (株式会社ニッポンジーン) に溶解し、PCR に用いた。PCR は常法により行い、泳動後、写真撮影を行って、結果を記録した。

C. 研究結果

NCBI のデータベースで「*Callithrix jacchus*」をキーワードとして検索したところ、295 クローンのマーモセットゲノムドラフトシークエンス (部分塩基配列) が公開されていた (2004 年 12 月 7 日現在)。295 クローン中から任意に約 200 クローンを選び、GENETYX により、各クローン中に存在する「CA」ある

いは「TG」リピートを検索した結果、各クローン中には平均 10 個前後の MS が存在することがわかった。そこで、ここで選んだ約 200 クローンについて、それぞれのクローンから 1 つあるいは 2 つの最適な MS マーカーを設計した。実際に PCR を行ってバンドの確認できたものが 167 個 (83.5%)、バンドの確認できなかったものが 33 個 (16.5%) であった。さらに、バンドが確認できた 167 個のうち、多型の確認できたものが 89 個 (53.3%) であった。

D. 考察

コモンマーモセットのマイクロサテライトマーカーの開発を行い、200 マーカーのプライマーを設計した。遠縁の関係にある 5 個体のマーモセットを対象にして実際に PCR を行った結果、89 個 (44.5%) に多型が検出された。82 個については、2 および 3 種類の allele を観察した。4 および 5 種類の allele を示したのも 3 個および 1 個あった。今回得た多型率は、一般に使われている近交系マウス群で観察されている率に匹敵した。なお、今後調べる個体数を増やすことによって、多型率が上がる可能性があると考えている。

E. 結論

財団法人実験動物中央研究所で維持されてきているマーモセット集団を遺伝育種学的に管理する目的で指標となるマーカー開発を行い、マイクロサテライトジェノタイピングが可能となった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Abe K, Hazama M, Katoh H, Yamamura K, Suzuki M. Establishment of an efficient BAC transgenesis protocol and its application to functional characterization of the mouse brachyury locus. *Exp Anim*, 53: 311-320, 2004.

加藤秀樹 クローズドコロニーラットの遺伝的統御と国際標準化. *実験動物ニュース* 53, 28-31, 2004.

加藤秀樹 実験動物遺伝学から見たクローズドコロニー. *アニテックス* 16, 4-9, 2004.

2. 口頭発表

加藤秀樹ら マウス精子細胞を用いた遺伝的品質検査法. 第 51 回日本実験動物学会総会、長崎、2004.

各種実験動物の血清抗体検査：ELISA 法による抗 LCMV 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 滝本 一広、田原口 元子（国立感染症研究所）

研究要旨 リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）は、小型齧歯類がヒトへの感染源となる可能性があり、検査体制の確立が必要である。今回の研究では、組換え LCM-NP 蛋白を抗原とした ELISA 法により各種小型齧歯類の抗 LCMV 抗体の検出を試みた。また、組換え LCM-NP 蛋白免疫血清の有効性について LCMV 感染血清と比較検討した。各種動物に LCMV を接種して得た感染血清を陽性コントロールとして、ELISA 法による抗 LCMV 抗体の検出を行った。マウスでは抗マウス IgG 抗体、マストミス、スナネズミでは抗ラット IgG 抗体が最適であった。ハムスターでは抗マウス IgG 抗体が抗ハムスター IgG 抗体よりやや強い特異反応を示した。マストミス、スナネズミでは、抗ラット IgG 抗体の使用により抗 LCMV 抗体を高感度に検出でき、他の抗原に対しても抗ラット IgG を用いた ELISA 法の適用が期待される。組換え LCM-NP 免疫血清は全動物種において感染血清と同等以上の反応を示し、陽性コントロールとして使用可能であることが示唆された。

A. 研究目的

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）は、ヒトが感染すると無菌性髄膜炎を引き起こすこともあり、人獣共通感染症の原因として重要である。自然宿主であるマウス、ハムスターは感染しても殆ど無症状だが、ウイルスは持続感染して唾液や糞尿中に排泄され、ヒトへの感染源となる。国内ではヒトの LCMV 感染例の報告はないが、実験動物施設では、LCMV の検査体制の整っていない施設からの実験動物の搬入、海外から搬入される実験動物の増加、LCMV に対する感受性が不明なスナネズミやマストミス等の使用、などの状況から実験室感染の恐れがある。今回の研究では、マストミス、スナネズミの LCMV に対する感受性について検討すると共に、バキュロウイルスで発現した LCM-NP 蛋白を抗原

とした ELISA 法により各種小型齧歯類の抗 LCMV 抗体の検出を試みる。また、各種動物から得た、組換え LCM-NP 蛋白免疫血清が LCMV 感染血清の代替として使用できるか否かを検討するため、両者の反応性について比較検討する。

B. 研究方法

(1) ELISA 抗原

LCM-NP 発現バキュロウイルスを Tn5 昆虫細胞に接種し、CPE を確認後 1%NP40/PBS で細胞を溶解した。遠心沈渣を 1M Urea in 1% NP40/PBS、2M Urea/PBS、8M Urea/PBS の順に溶解・遠心し、最後に得られた上清（組換え LCM-NP 蛋白）を陽性抗原、同様に処理した polyhedrin(-)バキュロウイルス感染 Tn5 昆虫細胞溶解液の遠心上清を陰性抗原として使用した。これらの抗原は感

染研 森川茂先生より御分与いただいた。

(2) 各種動物陽性血清の作製

マウス、ハムスター、マストミス、スナネズミに LCMV 弱毒株 (Armstrong 株) を腹腔内接種し、4 週後に血清を採取した。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、ハムスター陰性血清は感染研で系統維持されているものから得た。

(3) 各種動物免疫血清の作製

マウス、ハムスター、マストミス、スナネズミに組換え LCM-NP 蛋白をアジュバント (Titer Max Gold) と共に筋肉内接種した。4 週後にブースター免疫として組換え LCM-NP 蛋白を筋肉内接種し、その 4 週後に血清を採取した。

(4) ペルオキシダーゼ標識二次抗体

抗マウス、ラット、ハムスター IgG の標識抗体は市販のものを使用した。抗マウス IgG はより適切なものを選択する為に 2 社 (A 社・B 社) から購入して使用した。各種動物の IgG に反応性が認められている ProteinG 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 抗体および抗ラット IgG を使用し、交叉性を検討した。

(5) ELISA 法

上記の陽性または陰性抗原をコーティング溶液で 1600 倍に希釈し、100 μ l ずつ ELISA 用プレートに加え、4°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 ProteinG 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。

C. 研究結果

LCMV 感染マウスでは両社の抗マウス IgG 抗体で顕著な特異反応を示し、ProteinG でも特異反応が得られた。B 社の抗マウス IgG はマウスの陰性血清に対して非特異反応が認められたので、他の動物では A 社の抗マウス IgG を使用した。他の LCMV 感染動物では全動物種で陽性血清の特異反応が認められた。陰性血清、陰性抗原は、ど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。マストミスでは抗動物 IgG 抗体、特に抗ラット IgG 抗体で明確な特異反応を示したが、ProteinG での反応は弱かった。ハムスターでは抗マウス IgG 抗体及び抗ハムスター IgG 抗体で ProteinG よりも明確な特異反応を示し、抗マウス IgG 抗体で最も強い反応を示した。スナネズミでは抗動物抗体にのみ特異反応を示し、特に抗ラット IgG 抗体で強い反応を示した。各動物から得た LCM-NP 蛋白免疫血清と感染血清の反応性を、抗動物 IgG を用いて比較した。抗マウス IgG を使用した場合、全動物種の免疫血清で感染動物と同等以上の強い反応が認められ、陰性抗原に対する非特異反応も少なかった。ハムスターの免疫血清に対して抗ハムスター抗体を使用した場合も、感染血清より強い反応を示し、非特異反応も少なかった。マストミス、スナネズミの免疫血清に対して抗ラット抗体を使用した場合は、感染血清とほぼ同等の反応を示したが、非特異反応が顕著であった。

D. 考察

抗 LCMV 抗体は組換え LCM-NP 蛋白を陽性抗原とした ELISA 法で高感度に検出することが可能であった。また、

polyhedrin(-)-バキュロウイルス感染 Tn5 昆虫細胞溶解液を陰性抗原とすることで非特異反応を排除することができるので、この ELISA 法により LCMV 汚染の有無を正確に判定することができる。マストミス、スナネズミはマウス、ハムスターと同様に LCMV に対する感受性があることが示唆され、マウス等と同様に定期的な検査が必要であると思われる。マストミス、スナネズミでは、抗ラット IgG 抗体の使用により抗 LCMV 抗体を高感度に検出でき、他の抗原に対しても抗ラット IgG を用いた ELISA 法の適用が期待される。特にスナネズミでは、昨年度までに多種の動物で有効性が示された ProteinG で特異反応が得られず、抗ラット IgG により顕著な特異反応が得られたことは今後の定期検査において非常に有用である。組換え LCM-NP 蛋白免疫血清は、全動物種において感染血清と同等以上の強い反応を示し、特に抗マウス IgG 抗体を使用した場合には陰性抗原に対する非特異反応も少なく、感染血清の代替として使用可能であることが示唆された。しかし、マストミス、スナネズミで抗ラット抗体を使用した場合に陰性抗原への非特異反応が認められた。これは抗原作成過程に使用した Tn5 昆虫細胞あるいはバキュロウイルス由来の蛋白に対する反応と考えられるので、免疫抗原の精製法について検討することにより、さらに特異性の高い抗体が得られると思われる。

E. 結論

今回の結果より、マストミス、スナネズミは LCMV の自然宿主であるマウス、ハムスターと同様に LCMV に対する感受性があることが示唆された。マストミス、スナネズミでは、抗ラット IgG を使

用することにより、ProteinG より高感度に抗 LCMV 抗体を検出することができ、他のウイルス、細菌の血清抗体検査への適用が期待される。組換え LCM-NP 蛋白免疫血清は ELISA の陽性コントロールとして使用可能であることが示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

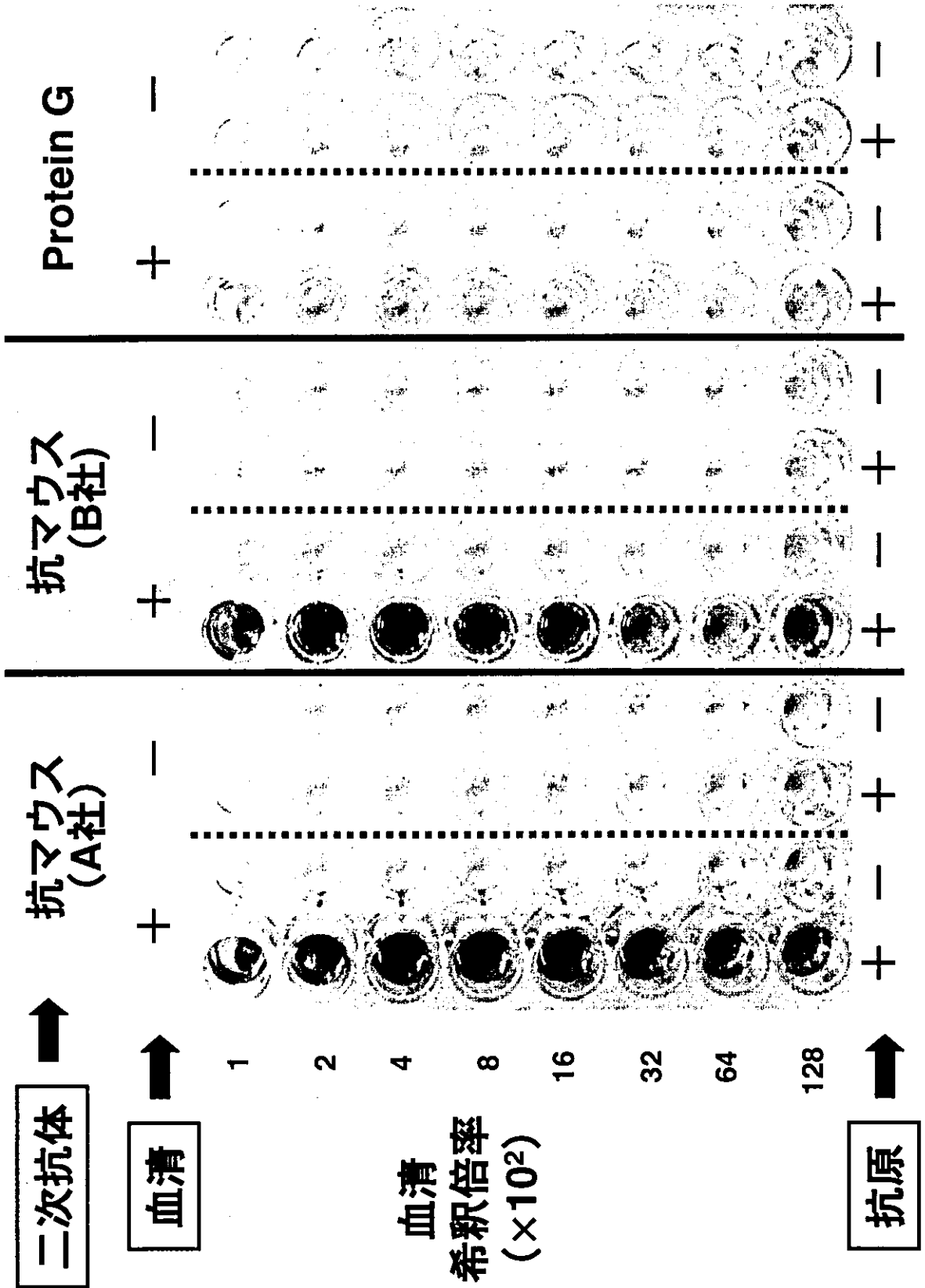
1. 論文発表

Oyanagi, M., Kato, A., Yamada, Y. K., and Sato, N. L. (2004): Detection of MHV-RNAs in mouse intestines and in filter dust in mouse room ventilation duct by modified RT-nested PCR. *Experimental Animals*, 53, 37-41.

2. 学会発表

「小型齧歯類実験動物のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスに対する感受性と ELISA 法による抗体検出」第 52 回実験動物学会総会、2005 年 5 月、東京

マウス(LCMV感染血清)のELISA



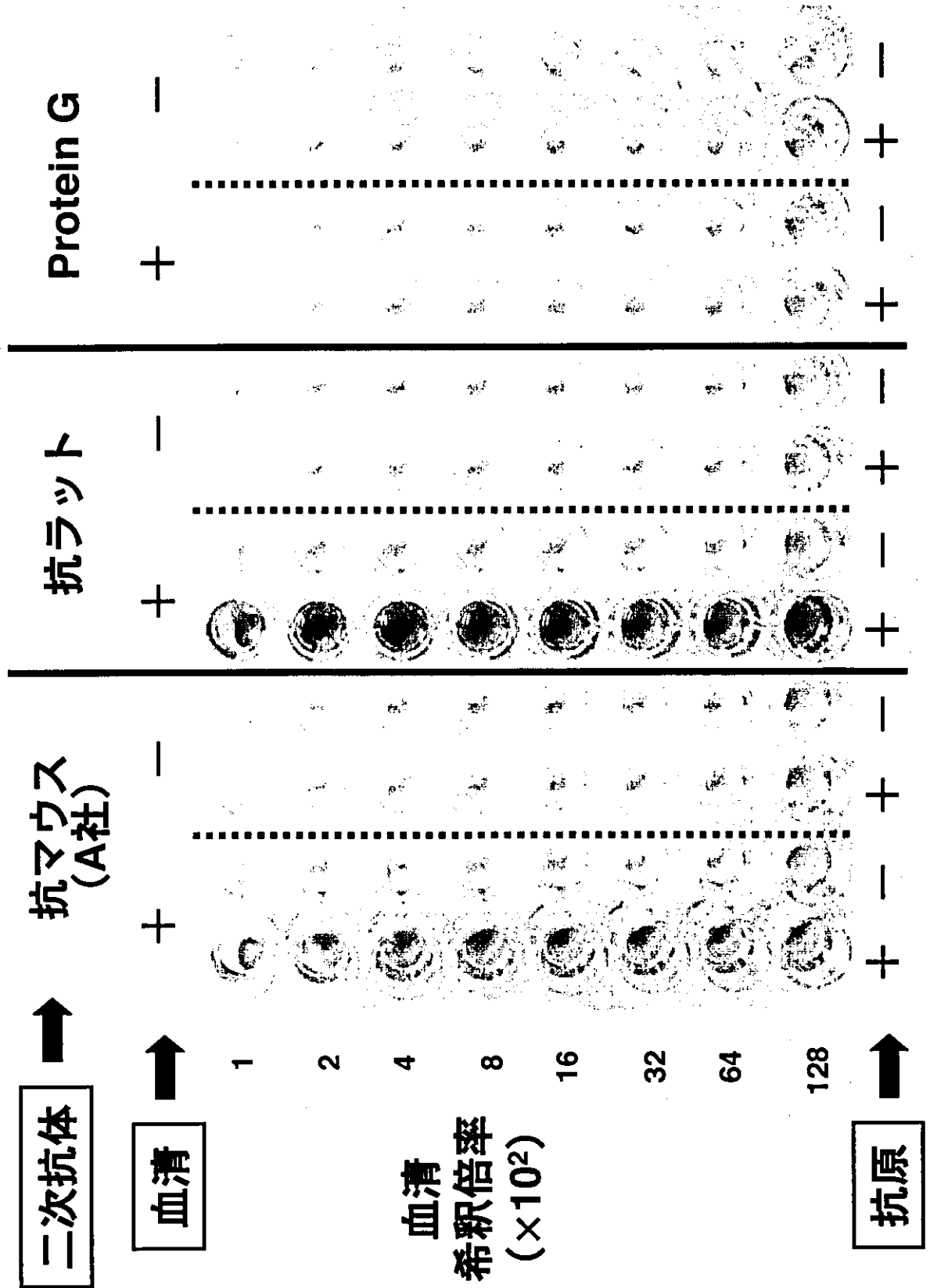
二次抗体

血清

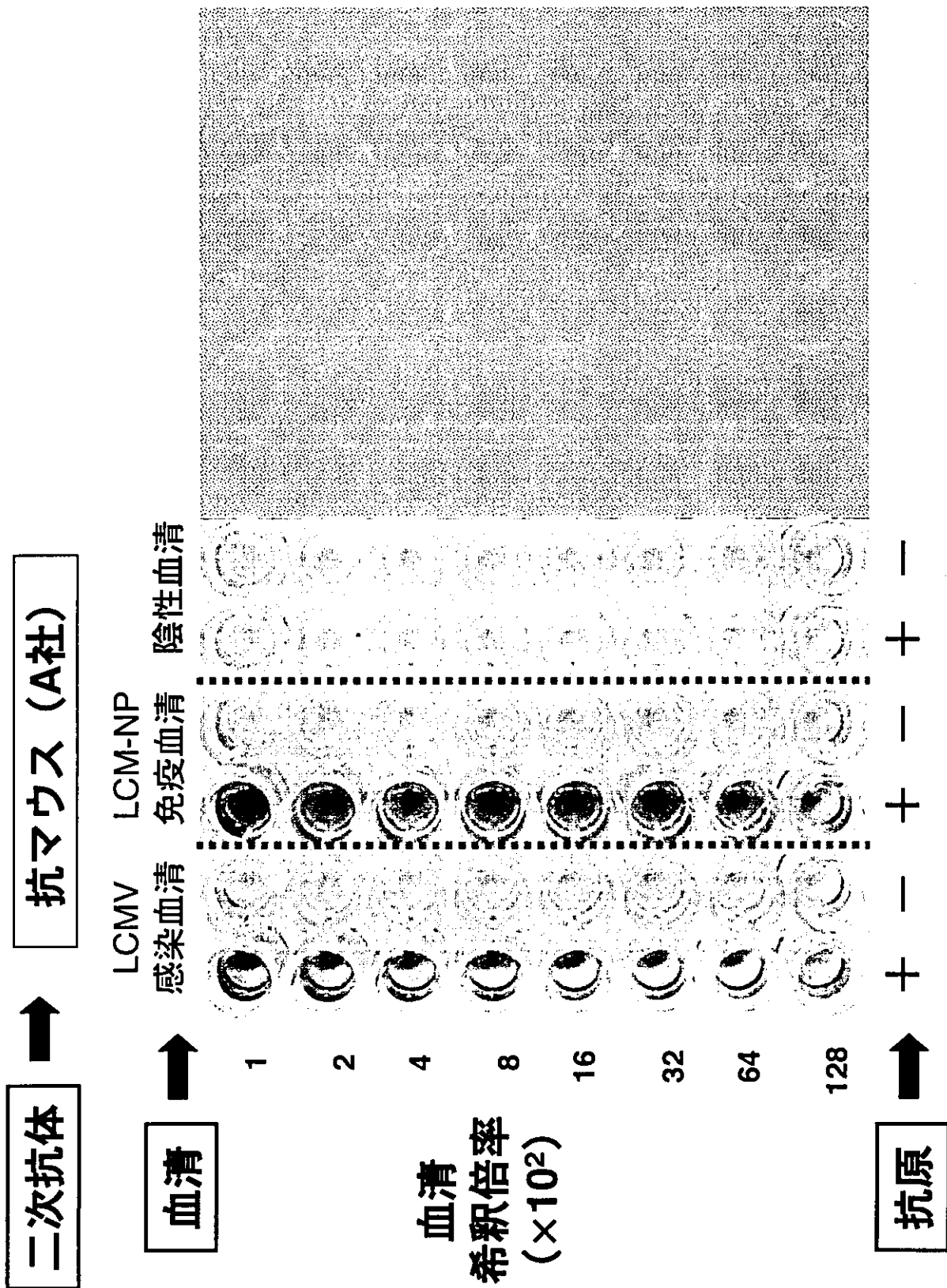
血清
希釈倍率
($\times 10^2$)

抗原

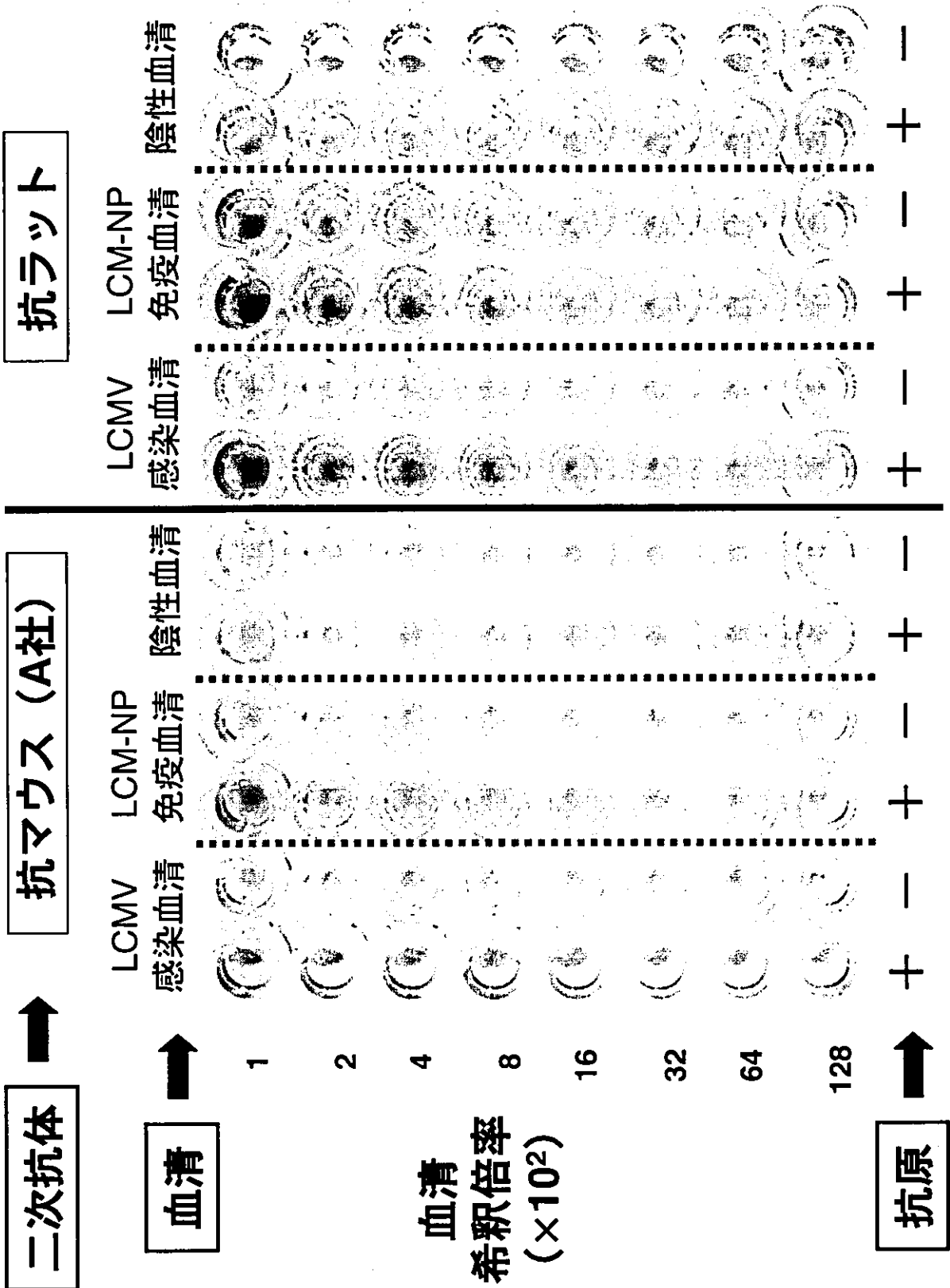
スナネズミ(LCMV感染血清)のELISA



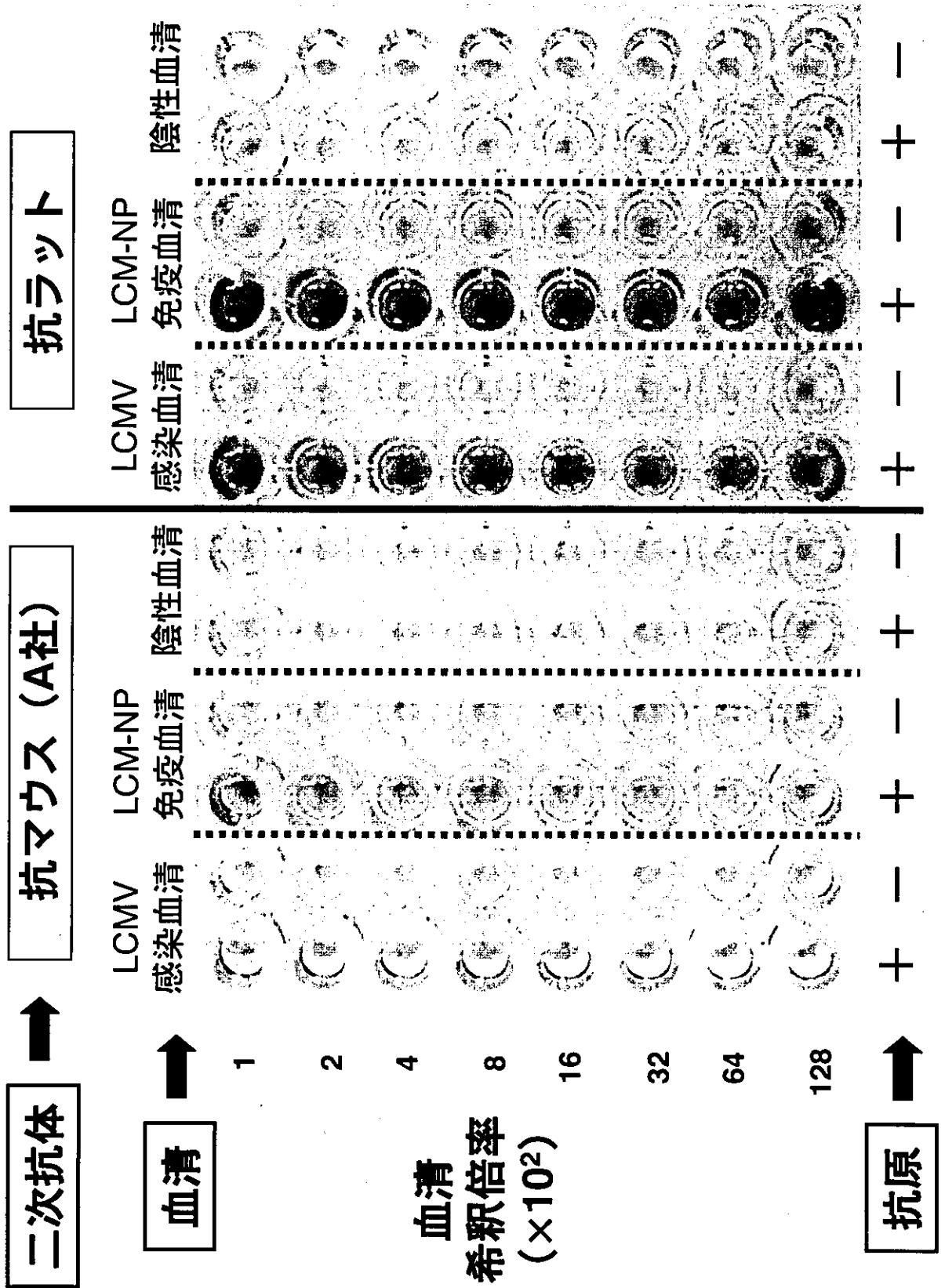
マウス(LCMV感染血清, LCM-NP免疫血清)のELISA



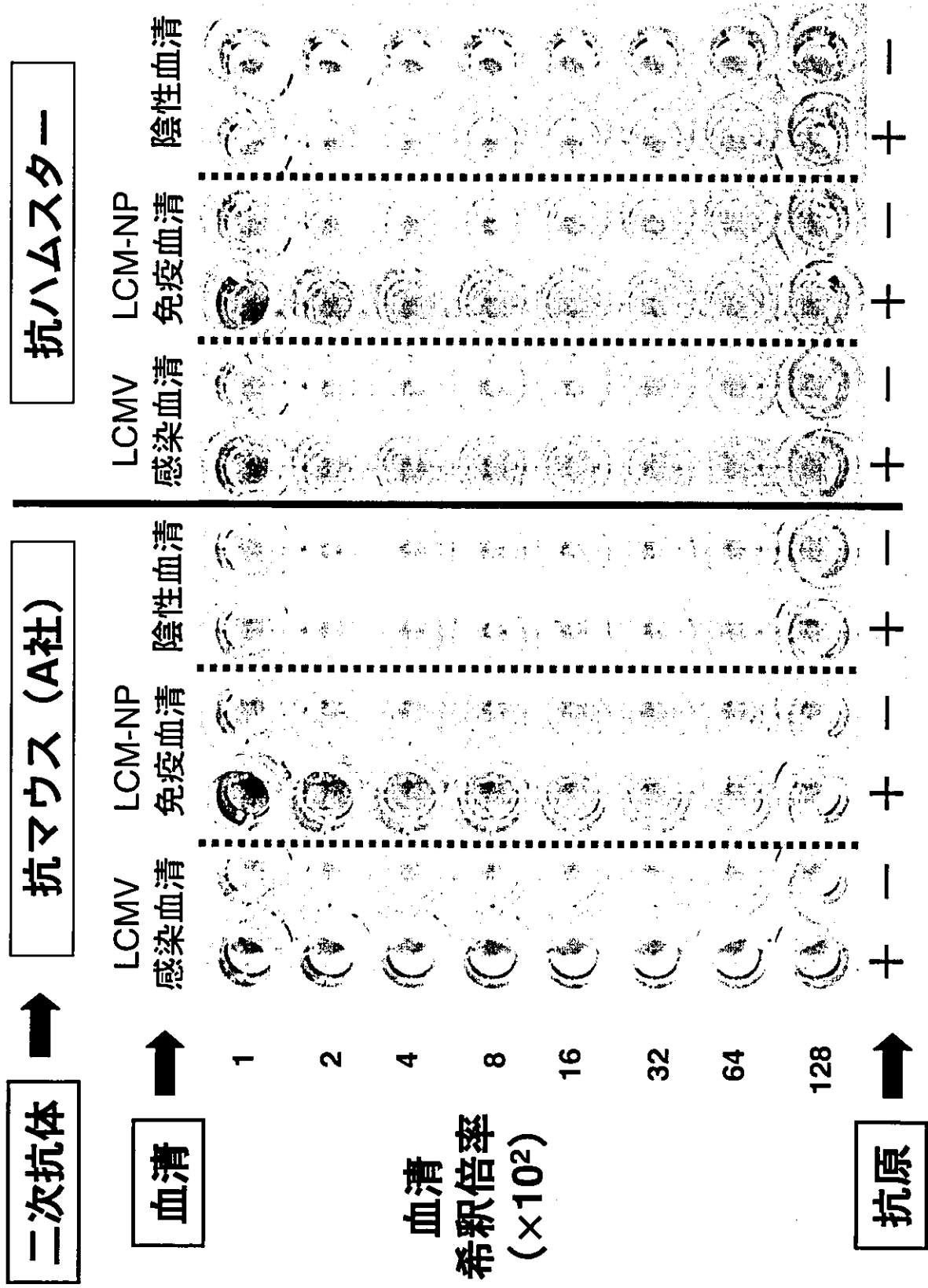
マストミス(LCMV感染血清, LCM-NP免疫血清)のELISA



スナネズミ(LCMV感染血清, LCM-NP免疫血清)のELISA



ハムスター(LCMV感染血清, LCM-NP免疫血清)のELISA



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
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		2004	375-39 0
Mukaida T, Kasai M	Vitrification of human embryos	Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shohan Z	Textbook of Assisted Reproductive Technology 2nd ed	Taylor & Francis	London	2004	281-28 9
葛西孫三郎	生殖系列細胞の 保存	日本哺乳動物 卵子学会 (井上正人)	生命の誕生に向 けて 生殖補助 医療(ART)胚培 養の理論と実際	近代出版	東京	2005	35-43
葛西孫三郎	凍結の原理	荒木康久、 佐藤和文	エンブリオロジス のための ART 必須ラボマニユア ル	医歯薬出版	東京	2005	309-31 4
横山峯介	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	211-21 3
中瀧 直己	遺伝子改変マウス の胚・精子バンク	山村研一	別冊・医学のあ ゆみ 疾患モデル動物 —病因解析での 役割と限界	医歯薬出版	東京	2004	24-27
加藤秀樹	遺伝と育種	社団法人日 本実験動物 協会	実験動物の技術 と応用:入門編	アドスリー	東京	2004	28-33

加藤秀樹	遺伝と育種	社団法人日本実験動物協会	実験動物の技術と応用:実践編	アドスリー	東京	2004	52-65
加藤秀樹	選択交配	森脇和郎、山村研一、米川博通	モデル動物の作製と維持	エルアイシー	東京	2004	100-108

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Koura M, Handa H, Noguchi Y, Takano K, Yamamoto Y, Matsuda J, Suzuki O	Sequence Analysis of cDNA Encoding Follicle-stimulating Hormone and Luteinizing Hormone Beta-subunits in the Mongolian Gerbil (<i>Meriones unguiculatus</i>).	Gen Comp Endocr	136	406-410	2004
Noguchi A, Takekawa N, Einarsdottir T, Koura M, Noguchi Y, Takano K, Yamamoto Y, Matsuda J, Suzuki O	Chromosomal mapping and zygosity check of transgenes based on flanking genome sequences determined by genomic walking	Exp Anim	53	103-111	2004
Masujin K, Okada T, Tsuji T, Ishii Y, Takano K, Matsuda J, Ogura A, Kunieda T	A Mutation in the Serum and Glucocorticoid-Inducible Kinase-Like Kinase (Sgkl) Gene is Associated with Defective Hair Growth in Mice	DNA Research	11	371-379	2004
Kamei Y, Miura S, Suzuki M, Kai Y, Mizukami J,	Skeletal muscle FOXO1 (FKHR)-transgenic mice have less skeletal muscle mass, down-regulated	J Biol Chem	279	41114-23	2004
Taniguchi T, Mochida K, Hata T,	type I (slow twitch / red muscle) fiber genes, and impaired				

Matsuda J, Aburatani H, Nishino I, Ezaki O	glycemic control				
Takano K, Koura M, Noguchi Y, Yamamoto Y, Uchio-Yamada K, Matsuda J, Suzuki O	Sequence analysis of cDNA encoding follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone b subunits in the <i>Mastomys (Praomys coucha)</i>	Gen Comp Endocr	138	281-286	2004
向井一真、平田淳也、増田圭基、小浦美奈子、鈴木 治、高野 薫、野口洋子、山本美江、松田潤一郎、太田昭彦	「マストミス精子の凍結保存法の検討」	J. Reproduction Engineering	7 Suppl	296-302	2005
Mochida K, Wakayama T, Takano, Noguchi Y, Yamamoto Y, Suzuki O, Matsuda J, Ogura A	Birth of Offspring after Transfer of Mongolian Gerbil (<i>Meriones unguiculatus</i>) Embryos Cryopreserved by Vitrification	Mol Reprod Dev	70	464-70	2005
Uchio-Yamada K, Manabe N, Goto Y, Anann S, Yamamoto Y, Takano K, Ogura A, Matsuda J	Decreased expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinase in the kidneys of hereditary nephrotic (ICGN) mice	J Vet Med Sci	67	35-41	2005
Han MS, Niwa K, Kasai M	In vivo development of vitrified rat embryos: effects of timing and sites of transfer to recipient females	Biology of Reproduction	70	425-429	2004
Kasai M, Mukaida T	Cryopreservation of animal and human embryos by vitrification	Reproductive BioMedicine Online	9 (2)	164-170	2004
葛西孫三郎	卵子の凍結保存	産婦人科の世界 (生殖補助増刊)	春季 増刊	198-205	2004

		医療マニユアル)	号		
Pedro PB, Yokoyama E, Zhu SE, Yoshida N, Valdez Jr DM, Tanaka M, Edashige K, Kasai M	Permeability of mouse oocytes and embryos at various developmental stages to five cryoprotectants	Journal of Reproduction and Development	In press	In press	2005
Valdez Jr DM, Miyamoto A, Hara T, Edashige K, Kasai M	Sensitivity to chilling of medaka (<i>Oryzias latipes</i>) embryos at various developmental stages	Theriogenology	In press	In press	2005
Mochida K, Ohkawa M, Inoue K, Valdez Jr DM, Kasai M, Ogura A.	Birth of mice after in vitro fertilization using sperm transported within epididymis at refrigerated temperatures	Theriogenology	In press	In press	2005
Valdez Jr DM, Miyamoto A, Hara T, Seki S, Kasai M, Edashige K,	Water- and cryoprotectant-permeability of mature and immature oocytes in the medaka (<i>Oryzias latipes</i>)	Cryobiology	50 (1)	93-102	2005
Takiguchi-Hayashi K, Sekiguchi M, Ashigaki S, Takamatsu M, Hasegawa H, Suzuki-Migishima R, Yokoyama M, Nakanishi T, Tanabe Y.	Generation of reelin-positive marginal zone cells from the caudomedial wall of telencephalic vesicles.	J Neurosci	24	228-229 5	2004
Takahashi M, Kojima M, Nakajima K, Kubota M, Suzuki-Migishima R, Motegi Y,	Cardiac abnormalities cause early lethality of jumonji mutant mice.	Biochem Biophys Res Commun	324	1319-1323	2004

Yokoyama M, Takeuchi T.					
Ito,K., Hirao,A., Arai,F., Matsuoka,S.,Takub o,K., Hamaguchi, I., Nomiya, K., Hosokawa,K., Sakurada,K., Nakagata,N., Ikeda,Y., Mak,TW., Suda,T.	Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of haematopoietic stem cells.	Nature	431	997-100 2	2004
Nitta Y, Yoshida K, Satoh K, Senba K, Nakagata N, Peters J, Cattanach BM.	Spontaneous and Radiation-induced Leukemogenesis of the Mouse Small Eye Mutant, Pax6(Sey3H).	J. Radiat. Res.	45	245-251	2004
Nishizono H, Shioda M, Takeo T, Irie T, Nakagata N.	Decrease of fertilizing ability of mouse spermatozoa after freezing and thawing is related to cellular injury.	Biol. Reprod.	71	973-978	2004
Nitta Y, Yoshida K, Nakagata N, Harada T, Ishizaki F, Nitta K, Torii M.	Effects of a hemizygous deletion of mouse chromosome 2 on the hematopoietic and intestinal tumorigenesis.	J. Toxicol. Pathol	17	105-112	2004
Suzuki O, Hata T, Koura M, Noguchi Y, Takano K, Yamamoto Y, and Matsuda J	Search for genes involved in developmental competence in mouse oocytes using suppression subtractive hybridization	Reprod. Fert. Dev	16	245-246	2004
Takano K, Koura M, Noguchi Y, Yamamoto Y, Uchio-Yamada K, Matsuda J, Suzuki O	Sequence analysis of cDNA encoding follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone α -subunits in the Mastomys (<i>Praomys coucha</i>)	Gen Comp Endocrinol	138	281-286	2004
Fulka Jr., J.,	Do cloned mammals skip a	Nat	22	25-26	2004

Miyashita, N., Nagai, T. and Ogura, A	reprogramming step?	Biotechnol			
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
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	1213-12 21	2004
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
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.	Oligo-astheno-teratozoospermia in mice lacking CCR4-associated factor 1, a novel regulator of RXRb	Nat Genet	36	528-533	2004

Yamamoto, T., and Noda, T					
Chuma, S., Kanatsu Shinohara, M., Inoue, K., Ogonuki, N., Miki, H., Toyokuni, S., Hosokawa, M., Nakatsuji, N., Ogura, A., Shinohara, T.	Spermatogenesis from epiblast and primordial germ cells following transplantation into postnatal mouse testis.	Development	132	117-122	2004
Kanatsu Shinohara, M., Inoue, M., Lee, J., Yoshimoto, M., Ogonuki, N., Miki, H., Baba, S., Kato, T., Kazuki, Y., Toyokuni, S., Oshimura, M., Heike, T., Nakahata, T., Ishino, F., Ogura, A., Shinohara, T.	Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis.	Cell	119	1001-1012	2004
Manonmani, P., Okada, H., Ogonuki, N., Uda, A., Ogura, A., Yoshida, T., Sankai, T.	Fertilization and preimplantation development of mouse oocytes after prolonged incubation with caffeine.	Reprod Med Biol	3	245-251	2004
Masujin, K., Okada, T., Tsuji, T., Ishii, Y., Takano, K., Matsuda, J.	A mutation in the serum and glucocorticoid-inducible kinase-like kinase (Sgkl) gene is responsible for defective hair growth in mice.	DNA Research	11	371-379	2004

Ogura, A., Kunieda, T.					
Miki, H., Inoue, K., Ogonuki, N., Mochida, K., Nagashima, H., Baba, T., Ogura, A.	Cytoplasmic asters are required for progression past the first cell cycle in cloned mouse embryos.	Biol Reprod	71	2022-20 28	2004
Ohgane, J., Wakayama, T., Senda, S., Yamazaki, Y., Inoue, K., Ogura, A., Marh, J., Tanaka, S., Yanagimachi, R., Shiota, K.	The Sall3 locus is an epigenetic hotspot of aberrant DNA methylation associated with placentomegaly of cloned mice.	Genes Cells	9	253-260	2004
Kanatsu-Shinohara, M., Inoue, M., Lee, J., Yoshimoto, M., Ogonuki, N., Miki, H., Baba, S., Kato, T., Kazuki, Y., Toyokuni, S., Oshimura, M., Heike, T., Nakahata, T., Ishino, F., Ogura, A., and Shinohara, T	Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis	Cell	119	1001-10 12	2004
Mochida, K., Ohkawa, M., Inoue, K., Valdez Jr, D. M., Kasai, M., and Ogura, A	Birth of mice after in vitro fertilization using C57BL/6 sperm transported within epididymides at refrigerated temperatures	Theriogenology	in press		2005
Mochida, K., Wakayama, T.,	Birth of offspring after transfer of Mongolian gerbil (Meriones	Mol. Reprod.Dev.	70	464-470	2005