

TT2細胞とマウスの毛色の関係

ES細胞を注入した胚を仮親に移植して生まれた子で、ES細胞由来の細胞がどの程度寄与しているか、またES細胞が生殖細胞に分化するか、さらにはES細胞由来の子孫が得られるかどうかは、通常毛色により判断する。

毛色は基本的には3つ遺伝子座によって支配される。アルビノ遺伝子座ではc(アルビノ遺伝子)はC(有色遺伝子)に対して劣性で、c/cの時のみマウスはアルビノ(白色被毛、紅眼)となる。また、Cを持つ場合にのみ、以下の有色の相違が生じる。褐色色素を生じるbは、黒色素を生じるBに対して劣性で、Aは色素を毛の先端部と毛根部に密に、中央部に粗に分布させ、aはAに対して劣性である。この結果、

‘A/-,B/-は野ねずみ色 (agouti)

‘a/a,B/-は黒色 (black)

‘A/-,b/bは黄土色 (cinnamon)

‘a/a,b/bはチョコレート色となる。

C57BL/6(a/a,B/B,C/C)とCBA(A/A,B/B,C/C)マウスに由来するTT2細胞はA/a,B/B,C/Cで野ねずみ色である。宿主胚とするICRマウスは、A/A,B/B,c/cのアルビノで、ES細胞の寄与の程度は野ねずみ色の毛の程度によって判定する。TT2細胞をICR8細胞期胚注入した場合は毛色を見て、生まれたマウスはもっぱらTT2細胞に由来する細胞で構成されている(すなわち全身野ねずみ色)か、もっぱら宿主ICR胚に由来する細胞で構成されている(すなわち全身アルビノ)かのどちらかに片寄る。稀に両者由来の細胞が混ざり合ったキメラマウスが生まれることもあるが、毛色の程度とTT2細胞に由来する子孫が得られる頻度も良く対応し、毛色で野ねずみ色が50%以下のキメラマウスから、TT2細胞に由来する子孫マウスが得られることはきわめて稀である。またTT2細胞は性染色体がXY雄であり、TT2細胞の寄与率の高いキメラマウス(毛の大半が野ねずみ色)は全て雄となる。しかしTT2細胞には一部XO細胞が混入しており、TT2細胞に由来するクローンでは稀に毛の大半が野ねずみ色であるものがすべて雌となる場合がある。

以上の点から毛色で野ねずみ色が50%以上のマウスについてのみ交配に供する。なるべく他の系統の遺伝子背景を入れたくないので、われわれは通常C57BL/6雌と直接交配している。この場合、宿主ICR胚由来の生殖細胞に由来する子であればA/a,B/B,C/cで、全ての子が野ねずみ色となる。他方TT2細胞由来の生殖細胞に由来する子である場合A/a or a/a,B/B,C/Cで、生まれる子の半分は野ねずみ色、半分は黒色となる。すなわち黒色の子が生まれていれば用いたTT2細胞(由来のクローン)から子孫マウスが得られたと判断する。なお交配は2ヶ月齢程度から始める。

生まれたマウスはPCRおよびサザン解析によって変異アリの伝達を調べる。このためには生後2週齢ほどで尾の先端を3mm程度切除し、PCRでまず同定するのが簡便である。しかしPCRの信頼性が確かめられるまでは、DNAを抽出し、サザン解析が必須。一般にヘテロ雄マウスをたくさん集める必要がある。ヘテロ変異マウスが2ヶ月齢をすぎたら、雄雌交配してホモ体を解析する。

表現型はマウスの遺伝子背景によって著しく影響されることがあり、交配に際してはこのことを念頭におかなければならないし、どのように交配をしたかは必ず記録しておかねばならない。また観察された異常はたまたま気づかずに起こっていた別の遺伝子の変異によるのかもしれない、少なくとも全く独立な相同組換えES細胞に由来する独立な2系統の変異マウスを必ず作らなければならない。競争もあり一方からは雄しかとれず、他方からは雌しかとれず、時間がないので両者を交配して変異を解析するといったこともありえるが、独立に維持する交配も必ず行う。