

第46回岡山実験動物研究会

平成15年11月28日(金)午後1時30分から午後5時20分までピュアリティまきび(まきび会館)で開催された。

はじめに、会長の倉林譲先生(岡山大学自然生命科学研究所)から開会のあいさつがあり、その後、賛助会員による講演に移った。賛助会員による講演は「実験マウス(ラット局所)用エックス線骨密度/体脂肪測定装置 PIXImus2(ピクシマウス)」と題して小西雅久氏(GE 横河メディカルシステム株)・細井實氏(株)メディケアー)が講演された。この司会は佐藤(岡山大学農学部)が担当した。

次に、特別講演に移った。特別講演は「クラレにおける化学物質の有害性評価への取り組み」と題して嶋村三智也氏(株)クラレ・構造物性研究所)が講演された。この司会は亀井千晃先生(岡山大学薬学部)が担当された。

休憩を取った後、事務局から会務報告があった。

①平成14年度の活動報告:研究会は2回開催。第43回研究会は6月7日(金)13:30から重井医学研究所で、医療法人創和会の協賛で開催。賛助会員による講演1題、一般講演3題、特別講演1題、第44回研究会は11月29日(金)13:30からメルパルクOKAYAMAで、日本生物工学会西日本支部協賛で開催。賛助会員による講演2題、特別講演1題、記念講演1題。研究会報(第19号)の発行(9月)。役員(平成15年~16年度)の選任:現役員は全員留任。理事会の開催(6月7日、11月29日)、常務理事会の開催(4月23日、9月24日)。

②平成14年度(平成14年1月1日~12月31日)の会計収支決算報告:収入総額は1,221,332円(前年度繰越金570,820円含む)、一方、支出総額は605,036円で、残高は616,296円であり、5月9日に会計監査を受けた。

③平成15年度の会計収支中間報告(平成15年1月1日~11月27日):収入総額は688,303円(前年度繰越金616,296円を含む)、一方、支出総額は377,600円で、残高は434,703円となっている。

④平成15年度の研究会の活動報告:研究会を2回開催。第45回研究会は平成15年6月13日(金)13:30から岡山大学文化科学系総合研究棟4階オープンラボラトリーA多目的スペースで開催。賛助会員による講演1題、一般講演3題、特別講演1題。第46回研究会は11月28日(金)ピュアリティまきび(まきび会館)13:30から開催。賛助会員による講演1題、特別講演1題、招待講演1題。研究会報(第20

号)の発行(10月)、理事会の開催(6月13日、11月28日)、常務理事会の開催(5月13日、10月9日)。

⑤常務理事の選任:内藤一郎先生が重井医学研究所から岡山大学大学院医歯学総合研究科へ転出されたことから、重井医学研究所の佐渡義一先生(免疫部門・部長)が選任された。

⑥会則の改正:第6条 本会に次の役員を置く。

1. 理事15名以上20名以内(現行)

1. 理事15名以上25名以内(改正案)

改正案について審議を行った。

⑦理事の選任:新たな理事として、嶋村三智也氏(株)クラレ・構造物性研究所・研究専任職)、元田龍一氏(株)林原生物化学研究所・藤崎細胞センター・主管研究員)、杉本幸雄氏(岡山大学薬学部・薬物学教室・助教授)が選任された。杉本幸雄先生は亀井千晃先生と交替。

⑧名誉会員の推戴:山下貢司先生(川崎医科大学名誉教授・現代医学教育博物館長)を本研究会の名誉会員に推戴することが諮られ、承認された。

⑨平成16年度の研究会の活動計画:2回の研究会を開催。第47回研究会は川崎医科大学の辻岡克彦先生の世話役で6月に開催予定。第48回研究会は公共施設で11月下旬に開催予定。第21号会報の発行(9月予定)、役員(平成17~18年度)、理事会(2回)、拡大常務理事会(3回)開催の予定。

会務報告後、招待講演に移った。招待講演は「サルES細胞樹立と再生医療研究への活用」と題して鳥居隆三先生(滋賀医科大・動物生命科学研究所)が講演された。この司会は倉林譲先生(岡山大学・自然生命科学支援センター・動物資源部門)が担当された。招待講演終了後、同会場で懇親会が持たれ、会員相互の親睦を深め、和やかなうちに閉会した。

賛助会員による講演

実験マウス(ラット局所)用エックス線 骨密度/体脂肪測定装置 PIXImus2(ピクシマウス)

小西雅久¹⁾・細井 實²⁾

¹⁾GE 横河メディカルシステム株)・²⁾株)メディケアー

実験マウス・ラットの体組成計測は、対象が小さいために精度の点で通常、人間用測定装置は流用できません。PIXI2は実験マウス用の骨密度及び軟部組織(脂肪量、非脂肪量)の測定装置として開発され、マウスの全身(ラット局所)の測定を5分以内で行えます。同一個体での長期観察が可能です。測定後の解析、再解析が瞬時に、しかも簡単に行え、関心傾

域(ROI)を任意の部位に設定する事もできます。リサーチプロセスの短縮で、研究効率が高まります。

製品紹介: PIXImus2 は、サンプル(実験動物)の前処理を行う必要がなく in vivo 測定が可能な、実験マウス用の骨密度及び、軟部組織量(脂肪量、非脂肪量)の測定装置として開発されました。従来の測定法に比べ、大幅に計測時間を短縮し、マウスの全身、ラットの局所測定を5分以内で行え、同一個体の長期観察も可能です。また、1回の測定で、骨密度(g/cm²)、脂肪量(g)、非脂肪量(g)の測定が可能で、測定後の解析、再解析が瞬時に、しかも簡単に行え、関心領域(Region of Interest)を任意の部位に設定する事も可能です。すべての計測値は、画像データとは別にテキストファイル形式で保存されますので、測定値の集計や統計処理が極めて簡単に行えます。PIXImus2 は、マウス・ラットを使用するリサーチプロセスを大幅に短縮し、研究自体の効率化を実現します。

導入メリット: 学術的な研究者、あるいは製薬・食品研究者は遺伝子、細胞生理学、骨や軟部組織に係りのある作用などの研究目的で、日常的にマウスとラットを使います。二重X線エネルギー吸収法(DEXA)は、骨密度、体組成測定に何日も、場合によっては何週間も掛る、時間と人手を要する解剖による科学的分析作業を不要にします。骨密度測定装置を使うことで、研究者にとっては動物の生存時間中の測定回数を増やすことができます。DEXA(デキサ)骨密度測定装置でも直線走査法によるものは、全身測定には30分程度を要し、且つ、精度5%以下、分解能も0.5mm以下です。長期間測定では、その間動かないようにするには高度の技術を要し、動物の生命にも危険を伴います。PIXImus2 では、全身測定で骨塩と体組成を5分以内に測定できます。スピードの速い測定により、麻酔の使用も少なく済み、動物にとってはより安全性が高くなります。PIXImus2 では、10~50gの実験動物(例えばマウス、レミングなど)の骨と組織を精密・正確に測定することができます。この方法による骨の測定では灰化法との相関も非常に高く、相関は(r=0.99)と出ています。

(検査データ: 米国・バーミングハム アラバマ大学 T.R. Nagy P.Dによる)

PIXImus2 では非常に低密度の骨の画像化のため人間用部分骨密度測定装置で使用されるよりも、さらに低エネルギーX線を使っています。BMDと体脂肪パーセントを高精度で測れる PIXImus2 は時系列研究には最適です。全身の基準としては「頭部」を除く部位に焦点を合わせています。体の中で特に脊椎や大腿骨といった決められた部位についてはマニュアル操作でROI(関心領域)の設定ができます。

主な特徴:

- 全身骨及び局所(腰椎、大腿骨などの)in vivo 測定が可能
- 脂肪量、非脂肪量(Body Composition)の同時計測が可能
- 高速測定 5分以内
- 超高画質 0.18x0.18mm ピクセル
- 高精度 ・BMD 1%CV
 - ・灰化骨との相関 BMC r=0.99
 - ・化学分離法との相関 非脂肪量 r=0.99
 - 脂肪量 r=0.93
- 自動解析、Windows 対応による簡単な操作法
- 省スペース設計、ラボサイズ

特別講演

クラレにおける化学物質の有害性評価への取り組み

嶋村三智也

(株)クラレ・構造物性研究所

当社では、構造物性研究所(倉敷)に所属する1つの研究チームが化学物質の有害性評価を目的とする生物学的試験(動物試験・細胞及び菌類培養試験)を担当している。「環境重視」という当社企業理念及び製造物責任(PL)・レスポンシブルケア(RC)の観点に則り、研究開発途上の化学物質の「適正な取り扱い」や「事業化の可否」について判断すること、さらには「当社製品からの有害物質を排除する」ことを目的としている。

社内試験はあくまで非GLPのスクリーニング試験であり、事業化を決断した時点で実施する法規制対応のためのGLP準拠試験は専門機関に委託している。また、効率・迅速性・動物犠牲の低減を重視し、「伝統的な毒性試験法」よりも「シャープなエンドポイントを有する簡易試験法」を社内評価系として好んで採用する傾向にある。ごく少人数で多種類の試験に取り組み、しかも最新の評価技術を取り入れる姿勢を怠らないため、人的に活性化した評価チームであると自負している。

当社内で稼働化している評価系の種類を紹介する。講演においては、これらの概要とともに、最も需要が高く多くの実績を上げている「マウスを用いる皮膚感作性試験」について若干の詳細を紹介したい。

招待講演

サルES細胞樹立と再生医療研究への応用

鳥居隆三

滋賀医科大学・動物生命科学センター

本学の研究支援施設として、マウス、ラット、ウサギ、イヌ等の飼育管理をはじめとして各種動物実験に関する支援業務を行ってきた医学部附属動物実験施設は、平成14年4月、改組、改称し、「動物生命科学研究センター」として発足した。ここでは、平成16年4月の国立大学の独立行政法人化を念頭に入れ、本学を他の大学と比較して特長ある施設とするために、従来から行ってきたサル類の医学研究への活用とそのための自家供給体制を整備し、サルに特化した研究を協力的に推進することを目的とした。改組に至る過程には、サル類の体外受精法、顕微授精法、体外培養法、胚移植法等の発生工学的手法の開発を行い、これらの方法を用いて作製した胚盤胞気胚から、カニクイザルとニホンザルの胚性幹細胞 (Embryonic stem cell : ES 細胞) 株の樹立に成功したこと等が大きく寄与している。今回は、ES 細胞の分離・樹立に至る経緯とその意義、さらに現在行っている再生医学研究に向けた発生工学的手法とサル ES 細胞の活用について紹介する。

1. サル ES 細胞の樹立の必要性

ヒト ES 細胞から分化・誘導して作り出される各種機能細胞は生に移植し、疾病により失われた生體的・機能的損傷を修復しようとする再生医療は、パーキンソン病、アルツハイマー病、糖尿病等の難治性疾患の治療法として、また心臓、肝臓等の臓器移植に替わるものとして期待され、最近急速な研究と成果がもたらされてきている。しかし実際にヒトに臨床応用するまでには、ES 細胞から機能細胞への効率よい分化・誘導および選別法の開発、さらに *in vivo* での生着と機能や安全性の確認など、基礎的な実験研究を十分行う必要がある。その為には、現在用いられているマウス ES 細胞ではなく、よりヒトに近い種の ES 細胞が必要であり、実験動物の中で最もヒトに近似する種であるサル類の ES 細胞株の樹立が必要になる。事実、ヒト ES 細胞の形態、培養方法、特性などは、サル ES 細胞との間にほとんど差異はないが、マウス ES 細胞とは大きく異なっている。

2. 実験用サル類の新たな有用性に向けた品質向上

現在医学実験用に用いられているサル類は、野生由来のニホンザルや、外国からの輸入に依存しているカニクイザル、アカゲザル等であるが、それらはいずれも遺伝学的な統御や微生物学的統御は全く成されていない。そのため、各種実験から得られる成績の精度や再現性は極めて低く、かつ人獣共通感染症の危険性も高い。体外培養法、顕微授精法、体外培養法、胚移植法等の発生工学的手法は、これら遺伝学的、微生物学的統御された個体の作出を可能とし、さらにこれらの手法を用いて、室内での人工繁殖による計画的な生産を行うことにより、医学研究用実験動物としての SPF サルを提供できる。

3. 発生工学的手法の新たな活用とサルの有用性

発生工学的手法とサル ES 細胞は、ヒトの再生医学研究を具体的に進展させることが出来る技術であり材料である。すなわち、前者は体細胞クローンは胚の作製によってテラーメードの ES 細胞の作製を行うための必須の技術であり、また後者はヒト ES 細胞の機能細胞への分化誘導と選別方法の開発になくはない材料である。さらに、作製された機能細胞の安全性や機能の確認には、実際にサル個体へ細胞移植 (*in vivo* 実験) を行う必要があるが、これら実験に供するサルは上記各種統御が成された SPF 個体を用いることによって安全でかつ精度の高い実験成績をもたらすことが出来る。また、ES 細胞に遺伝子改変を加えて作製する遺伝子改変ザルは難治性疾患の機序の解明や治療法の開発に結びつくものである。

4. 再生医療への期待と活用

1) 遺伝子改変個体作製に向けて

ヒト難治性疾患であるアルツハイマー病等の遺伝子改変モデル個体を作製するため、その基本となるサル ES 細胞への遺伝子導入法を検討しているが、エレクトロポレーション法によってマーカーとなる GEP 遺伝子の導入に成功した。この GEP-ES 細胞は各種の機能細胞への分化誘導過程において蛍光により目視で捕らえられる有用性があり、これは *in vivo* 実験においても極めて有用な材料となる。現在、各種疾患遺伝子のサル ES 細胞への導入を試みている。

2) テラーメード ES 細胞樹立に向けて

再生医療における大きな障壁は、機能細胞移植時の免疫拒絶である。これを解決する手段として、体細胞の核移植によるクローン胚作製と ES 細胞樹立、すなわちテラーメード ES 細胞の樹立が必須である。すでにサル羊膜細胞を核移植し、電気融合と活性化処理によりサルでは世界で最初の体細胞クローン胚の作製に成功した。現在ここから ES 細胞の樹立を試みている。

3) 移植機能細胞の生体内動態の追跡

もう一つ重要なことは、機能細胞を生体内に移植した後の生体内での増殖、移動等を追跡することである。上記 GEP-ES 細胞は、移植した動物個体に外科的手術あるいは体外に取り出して生着、増殖などを確認しなければならない。これに対して現在、MR (磁気共鳴) による *in vivo* での非侵襲的な追跡方法について検討を加えている中で、ES 細胞内に MR で確認できる常磁性体を特殊な方法により導入し、マウス脳内へ移植した結果、ES 細胞の存在と移動を確認することに成功した。本年度内に7テスラのサル用 MR 装置を導入するが、これにより極めて精度の高い再生医療研究に向けた応用研究が実施できることが期待される。

性、安全性と同時に地球環境を考えた新世代の尿石除去剤です。大きな特徴として、サンアライエースを数日間連続して散布すると、尿石の付着を防止する皮膜を形成します。これは中性ポリマーによる皮膜形成（コーティング）によって、糞や尿を流れやすくし、水洗板への付着を防止します。一度皮膜を形成すると定期的にサンアライエースを散布頂くだけで、尿石除去と尿石付着防止効果を発揮します。このような作用により作業時間、労力の軽減、また使用量も従来の尿石除去剤と比べると半分程度になるため経済性も優れています。

次にご紹介させていただきますニッサンアノン#300は両性界面活性型殺菌消毒剤です。両性界面活性剤は、一分子中にカチオン活性とアニオン活性の両方の性質を兼ね備えています。消毒に広く用いられている逆性石鹼と呼ばれるカチオン（陽イオン）活性剤は、殺菌作用に優れ、一方アニオン（陰イオン）活性剤は、洗浄作用に優れているという性質を持っています。逆性石鹼をはじめ、殺菌消毒剤の大半は、体液・排出物などの有機物が混入すると、急激に殺菌力が低下するという傾向がみられますが、両性界面活性型の殺菌消毒剤は、これらの有機物が混入しても殺菌力の低下が少なく、カチオンとアニオンの両性を持っているため、殺菌力と洗浄力の両性能を発揮します。また毒性・皮膚刺激性も低く、安全性の高い殺菌消毒剤です。

最後にご紹介させていただきますパルマス 3000 とパルマス μ はマウス・ラット用の床敷です。パルマス 3000 はバージンパルプ 100%のシートタイプのため、床敷交換が簡単に行えます。また糞尿がケージに付着しにくいいためケージ洗浄作業の効率化が図れます。また、多層構造によって吸収した尿などの水分を速やかに乾燥するため、7 日間以上の使用でもマウスの被毛などの汚れを防ぎます。またパルマス μ はパルマス 3000 をカットし、短冊状に加工したものです。パルマス 3000 の利点を引き継ぎ、また交換頻度を少なくすることで、繁殖時のマウスの食殺を軽減できますので繁殖用の床敷に適しています。

一般講演 1

ヒト角膜上皮細胞を用いた弱酸性次亜塩素酸水の安全性予備試験の試み

山下光治・小野朋子・三宅真名・那須玄明・増田 礎¹⁾・倉林 謙²⁾

¹⁾ (株) エイチ・エス・ピー

²⁾ 岡山大学・自然生命科学研究支援センター
動物資源部門

弱酸性次亜塩素酸水は、次亜塩素酸ナトリウムの pH を塩酸で弱酸性域に調整した水溶液で、比較的濃度（50～100ppm、有効塩素濃度）で、広い抗微生物スペクトルをもつことが知られています。そしてその自然分解性、安全性、経済性、利便性から、厨房や食品加工工場、畜産、農業、医療現場、プール、製紙、そして動物実験施設など、広い分野で利用されています。

消毒用アルコールで洗顔することは眼に沁みてとてもできないけれども、弱酸性次亜塩素酸水での洗顔は苦痛を感じないのはなぜか。弱酸性次亜塩素酸水が眼に説液した場合、角膜は損傷を受けるかどうか。その毒性を調べる予備試験として、ウサギ（眼）によるドレーズ法の動物実験にかえて、市販のヒト角膜上皮細胞を用いてその死滅割合を調べる試みを行なったので報告したいと思います。また、これまでおこなってきた弱酸性次亜塩素酸水についての研究と活用の現段階、そしてトピックを紹介して行きたいと考えています。

【試験方法】 600～1200cell/cm²に培養したヒト角膜上皮細胞（クラボウ）を、ステリミキサー（HSP）で調整した有効塩素濃度 50, 100, 200ppm、pH5.7 の 3 種の弱酸性次亜塩素酸水で 3 回洗浄して培養液を十分に除去したのち、それぞれの被検液に 3 分、9 分、30 分間浸漬し、細胞の検鏡と写真撮影を行なった。対照として滅菌生食を用いた。その後細胞増殖因子を加えた培液（EPI-LIFE、クラボウ）を所定量加えて静置し細胞数の測定と検鏡によって上皮細胞の死滅割合をしらべた。さらに 48 時間培養して増殖の有無を調べた。

【結果】 600～1200cell/cm²での細胞密度では洗浄によって剥離する細胞もあったが、有効塩素濃度 50 ppm・30min、100ppm・30min、200ppm・30min の浸漬において、死滅割合は順に 0%、18%、30%であった。またこれら実験群すべてにおいてヒト角膜上皮細胞は死滅せず、48 時間後には細胞分裂を確認した。

【考察】 *Bacillus subtilis* (ATCC6633) の芽胞液 10⁷CFU/ml では、50ppm 弱酸性次亜塩素酸水の 10 分間の浸漬で死滅することが知られているが、ヒト角膜上皮細胞は、少なくともその 12 倍以上の濃度時間積で死滅しない抵抗性をもっていることが判った。

しかし細胞に与える生理的影響はこの試験だけでは不明であり更なる検証が必要である。培養細胞を用いた試験は長時間の接触試験が容易に調べられる点、弱酸性次亜塩素酸水の失活剤として働く涙液の影響を、細胞洗浄によってなくすることができる点で、有効な手法であると考えられた。さらに、上皮細胞に対する細胞毒性と、細菌に対する殺滅作用についての差違について仮説を立てながら検討を進めていきたい。

一般講演 2

クラレにおける培養細胞を用いる化学物質 発癌性評価の取り組み

小平和久

(株)クラレ・構造物性研究所

化学物質の発癌性を予測するインビトロ試験としては、AMES試験や、染色体異常誘発試験などがよく用いられている。しかし、これらの試験は遺伝子の突然変異や、染色体の異常から発癌性を類推しているに止まり、発癌物質の検出率は60~70%と決して高いとはいえないのが現状である。培養細胞発癌試験はシャーレ上で細胞の癌化を直接評価するもので、インビトロ試験としては最も信頼の置ける方法と考えられている。しかし、本試験はノウハウ性が高いことなどから一般に普及していない。

当社では先駆的に本試験を確立した化学物質評価研究機構より技術指導を受け、社内で研究開発段階の化学物質のスクリーニング試験として活用している。試験の原理としては、正常な細胞は増殖する時、他の細胞と接触することで増殖を停止する。これを接触停止能といい、この性質により、培養された細胞は重なり合うこと無く培養器底面に一層のシート状に広がる。それに対し、増殖中に発癌性の化学物質等によって癌化した細胞は接触停止能が消失し、細胞が重なり合っ
て癌コロニーを形成する。当社で撮影した実際の培養細胞の癌化する様子を示す。講演においては培養細胞発癌試験の意義とその試験技術を中心に紹介する。

一般講演 3

skeletal fusion with sterility (*sk/sk*) 突然変異マウスの分子遺伝学的解析

秋山耕陽¹⁾・野口純子²⁾・辻 岳人¹⁾・国枝哲夫¹⁾

¹⁾ 岡山大学大学院自然科学研究科

²⁾ (独) 農業生物資源研究所

【目的】skeletal fusion with sterility (*sk/sk*) 突然変異マウスは、1982年に米国 Jackson 研究所で維持されている A/J 系統において出現した骨格異常および生殖異常を呈するマウスである。*sk/sk* 個体は、頸椎、胸椎、腰椎、尾椎、及び肋骨における著しい骨融合が認められる。雄の *sk/sk* 個体の精巣は、著しく小さく、精子形成過程の減数分裂第一分裂(第一分裂)前期以降の生殖細胞数の減少およびシナプトネマ複合体の形成不全が報告されている。一方、雌の *sk/sk* 個体は、卵巣に組織学的異常は

ないが、交配実験から産仔を得られず、体外受精を行っても受精卵を得られないことから不妊であるとされている。これら表現型は、常染色体単一劣性の遺伝様式を示す *sk/sk* 遺伝子座に支配される。*sk/sk* 遺伝子座は、マウス第4染色体上約 54.6cM に位置づけられているが、その変異は、未だ同定されていない。そこで本研究は、*sk/sk* 遺伝子の同定およびその機能解析を目的とし、詳細な表現型について形態学的及び組織学的な解析を行うとともに、第4染色体上の *sk/sk* 遺伝子座の位置をより正確に限定することを試みた。

【方法・材料】成体、新生仔、および胎仔(胎齢 14.5 日)についてアルシアンブルー/アリザリンレッド染色、もしくはアルシアンブルー染色により骨格標本作製することで形態学的解析を行った。精巣及び精巣上体について組織切片を作製後、ヘマトキシリン・エオジン (H.E.) 染色した。また、精巣から定法により RNA 抽出し、cDNA を合成した。合成した cDNA を用いて精子形成の各時期特異的な発現が確認されている遺伝子をマーカーとした半定量的 RT-PCR を行った。さらに、組織切片について分裂細胞を特異的に染色する抗 PCNA (増殖細胞核抗原) 抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。成体の卵巣について組織切片を作製し、H.E. 染色により組織学的解析を行った。JF1/Msf と *sk/sk* 個体の間で F₁ を作出し、F₁ (*sk/sk*/+) 同士を交配させ、得られた F₂ を用いて連鎖解析を行った。定法によりゲノム DNA を抽出し、マウス第4染色体上に存在するマイクロサテライトマーカーを用いてタイピングを行った。

【結果・考察】形態学的解析から *sk/sk* 個体の成体および新生仔に認められた骨格異常は、胸椎、尾椎、そして肋骨において顕著であった。さらに、多指症を発症する個体も存在することが新たに判明した。また、胎仔の時点で既に骨格異常が発生していることが明らかとなった。H.E. 染色による組織学的解析から、成体の *sk/sk* 個体の精細管内には、第一分裂前期以降の生殖細胞がほとんど存在しないことが観察された。また、半定量的 RT-PCR においても第一分裂中期以降に発現している遺伝子は、検出されなかった。しかし、抗 PCNA 抗体を用いた免疫染色では、正常個体とほぼ同数の陽性細胞が認められたことから、精原細胞の増殖および減数分裂の開始については正常に進行していることが示唆された。以上のことから、*sk/sk* 個体の精子形成は、第一分裂前期を境にその発生を停止していることが明らかとなった。成体の *sk/sk* 個体の卵巣は、これまでの報告とは異なり、極端に小さかった。また、組織学的解析から、卵巣内に含まれる生殖細胞数が著しく減少していることが明らかとなった。F₂ を用いた連鎖解析を行うことで *sk/sk* 遺伝子の位置を第4染色体

