

○大島 一輝・谷 哲弥・加藤 容子

近畿大学大学院農学研究科

【目的】 マウス体細胞核移植胚の胚移植後の体内発生能が著しく低い原因の1つに、遺伝子発現様式が体内受精卵とは大きく異なっていることが挙げられる。核移植胚で抑制されている遺伝子を活性化させることにより、核移植胚の発生能が向上することが明らかとなっており、初期胚での遺伝子発現様式は発生能の指標となり得る。本研究では核移植胚で発現が乱れる遺伝子の1つである Nanog に着目した。Nanog は胚盤胞の ICM に局在し、胚盤胞以降の胚発生に重要な遺伝子であるため、胚盤胞での Nanog の発現様式が核移植胚の後期発生にどのように影響するかを検討した。

【方法】 遺伝子発現様式の測定と胚移植を同一胚で行うため Nanog-GFP 核移植胚を用いた。レシピエント卵子は、BDF1 雌マウスより得られた MII 期卵。ドナー細胞には Nanog-GFP マウス (C57BL (+/+)) × BDF1 より得られた卵丘細胞を用いた。活性化処理は 100 nM TSA, 5 μ M LatA, 10 mM SrCl₂ を含む Ca²⁺ 不含 KSOM 培地で行った。胚盤胞 (D5 : hCG 後 116 時間目) まで発生した核移植胚は、UV 照射により Nanog の発現様式を観察し、3つの区 (ICM のみに発現 (I 区), ICM, TE 両方に発現 (IT 区), ほぼ発現なし (L 区)) に分け、ICR 雌マウスへ移植し発生能を検討した。

【結果】 移植後の着床率は、L 区で I, IT 区よりも有意に低かった (それぞれ 43, 64, 56%)。着床率では I, IT 区で差はなかったが、満期胎子は IT 区でのみ得ることができた (1.7%)。また、胚盤胞をさらに 24 時間培養 (D6) し、発現様式の変化を観察すると、I 区では 39% の胚盤胞で発現がほぼ検出できなかったが、IT 区でその割合は 8% と有意に少なかった。これらの結果から、本来 ICM に局在する Nanog であるが、核移植胚では、ICM, TE 両方での発現が必要であることが明らかとなった。これは長期間 Nanog の発現が維持され、着床後の胚形成を支持しているものと考えられる。