

マウス 2-cell block 胚に関する原因候補遺伝子の多型解析と顕微操作による解除

家畜生産学講座 家畜改良増殖学分野

小池剛

【目的】 特定系統由来のマウス受精胚は体外培養すると 2 細胞期で胚発生を停止することが知られており、この現象は特に 2-cell block と呼ばれている。これまでの研究により、2-cell block 胚は細胞周期の G2/M 期で発生停止していることが明らかとされており、2-cell block 胚では M 期移行の分子機構に何らかの欠如があることが示唆されている。また、マウス系統間の交配実験および連鎖解析から、2-cell block には二つの遺伝子座が関与し、原因遺伝子は第 3 染色体の 16.5~18.5 番地周辺と、第 4 染色体の 56.5 番地周辺に存在すると考えられている。そこで、本研究では、最初に 2-cell block 胚における M 期促進因子である Cdc2-CyclinB1 複合体の活性化機構を検討し、次に 2-cell block 原因遺伝子座付近に存在する候補遺伝子の探索を行なうことにより、2-cell block の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

【方法】 2-cell block を起こす系統に AKR/N、起こさない系統に C57BL/6、C3H、BALB/c を用いた。活性型 Cdc2 および活性型 CyclinB1 cRNA を人為的に作成し、それぞれの cRNA を AKR/N 受精胚に顕微注入した後、2-cell block が解除されるか胚発生を観察した。また、マウス第 3 染色体で *Ccna2*、*Fgf2*、*Exosc9*、*A330050B17Rik*、第 4 染色体で *Dph2*、*Zyg11B*、*Hdac1* の合計 7 つの候補遺伝子に着目し、前述の 4 系統から cDNA をクローニングし、多型解析を行った。

【結果】 活性型 Cdc2 および活性型 CyclinB1 cRNA を AKR/N 受精胚に顕微注入した結果、32.8% および 23.1% の胚が 2-cell block を解除した。また、2-cell block 原因候補遺伝子の多型解析を行った結果、第 3 染色体上の *Exosc9* と *A330050B17Rik* でそれぞれ一箇所、第 4 染色体上の *Zyg11B* と *Hdac1* でそれぞれ一箇所、および *Dph2* で二箇所の AKR/N 系統に特異的なアミノ酸置換が検出された。

【考察】 活性型 Cdc2 および CyclinB1 cRNA を顕微注入すると 2-cell block が解除されたことから、2-cell block 胚では Cdc2-CyclinB1 の活性化機構に何らかの欠如があると考えられた。また、原因遺伝子座周辺には AKR/N 特異的なアミノ酸置換を有する遺伝子が存在したため、これらの遺伝子が 2-cell block に関与している可能性も考えられた。