

## マウス 2-cell block 胚の初期胚発生制御に関する研究

家畜生産学講座 家畜改良増殖学分野

柴垣佳秀

【目的】特定系統のマウス受精胚を体外培養すると 2 細胞期で発生が停止し、これを 2-cell block と呼んでいる。2-cell block 胚は細胞周期の G2/M 期で発生停止していること、M 期促進因子(MPF)の活性化機構に問題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マイクロサテライトマーカを用いた連鎖解析から、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 17.5 番地周辺と、第 4 染色体 58 番地周辺に存在する可能性が高いことが示唆されている。そこで、本研究では、MPF 活性化機構の上流に位置する Aurora-A および Plk1 と 2-cell block との関係を調べるとともに、原因候補遺伝子の探索を行い、2-cell block 胚の発生制御に関する分子機構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。Cdc2、CyclinB1、Aurora-A、Plk1 の活性化型 cRNA を作製し、それぞれ AKR/N 受精胚に顕微注入を行い、2-cell block が解除されるかその後の発生を観察した。第 3 染色体 17.5 番地付近の遺伝子 *Nudt6*、*Act16a*、*Zmat3* および第 4 染色体 58 番地付近の遺伝子 *Cdca8*、*Sf3a3*、*Snip1*、*Rspo1* を上記 4 系統で多型(cSNPs)解析を行った。また、cSNPs の検出された遺伝子の cRNA を作製して同様に AKR/N 受精胚に顕微注入を行い、その後の発生を観察した。

【結果】活性化型 Cdc2 および活性化型 CyclinB1 cRNA の同時注入、および活性化型 Cdc2、活性化型 CyclinB1、活性化型 Aurora-A、活性化型 Plk1 cRNA 個別注入の結果、それぞれ 39.5%、28.6%、17.0%、14.0%、0%の胚が 2-cell block を解除した。また、原因候補遺伝子の多型解析の結果、*Nudt6*、*Cdca8*、*Snip1*、*Rspo1* に cSNPs が検出された。しかし、候補遺伝子の cRNA 顕微注入実験では 2-cell block の解除は見られなかった。

【考察】MPF 活性化を引き起こす上流因子 Aurora-A cRNA の AKR/N 受精胚への顕微注入実験により、2-cell block がある程度解除し、Aurora-A からの MPF 活性化経路は 2-cell block と関与することが示唆されたが、Plk1 を介した経路は関与しないと考えられた。原因候補遺伝子の顕微注入による 2-cell block の解除は認められなかったが、原因遺伝子は第 3 と第 4 染色体に一つずつ存在し、一方でも変異型であると胚発生を停止する。そのため、今回解析した遺伝子が必ずしも原因遺伝子でないと言い切れず、今後さらなる解析が望まれる。