

マウス 2-cell block 現象における *Plk4* と *Hdac1* 遺伝子のプロモーター領域の関与

家畜生産生物学講座 家畜改良増殖学分野
山口 理子

【背景と目的】家畜胚を体外培養すると、特定ステージで発生停止がみられる場合がある。一方、特定系統のマウス胚を培養すると 2 細胞期で発生停止を示す、いわゆる 2-cell block 現象が知られている。このメカニズムが解明できれば、家畜胚の体外発生率向上につながるかもしれない。これまでの研究から、2-cell block を起こす AKR/N と起こさない C57BL/6 のヘテロである F1 メス由来胚は、2-cell block を起こさないことがわかっている。また、2-cell block 原因候補遺伝子座は第 3 染色体 17.5 番地および第 4 染色体 58 番地付近に存在すると予測されている。そこで本研究では、実験 1 として、コンジェニックマウス由来胚を体外培養に供し、その体外発生率を調べることで原因候補遺伝子座の検証を行った。また、実験 2 として、遺伝子転写制御に着目した原因候補遺伝子プロモーター領域多型解析を行い、2-cell block への関与を調べた。

【方法】実験 1 では、第 3 染色体 17.5 番地と第 4 染色体 58 番地の原因候補遺伝子座を AKR/N(A)と C57BL/6(B)のヘテロにしたコンジェニックマウスを作製した。戻し交配 3 世代目の N3 コンジェニックマウスのメス由来胚を、(A, A)、(A/B, A)、(A, A/B)、(A/B, A/B)の 4 つの遺伝子型ごとに分類した。得られた 1 細胞期胚を体外培養に供し、2 細胞期と胚盤胞期での発生率を調べた。実験 2 では、候補遺伝子として初期胚発生に重要と考えられる第 3 染色体 *Plk4*、および、第 4 染色体 *Hdac1* に注目した。両遺伝子のプロモーター領域について AKR/N、C57BL/6、BALB/c、C3H 系統を対象にシーケンズ解析し、AKR/N 特異的多型の検出を試みた。

【結果】

<実験 1> コントロール C57BL/6 では、2 細胞期で 98%、胚盤胞期で 90%の発生率を示した。コンジェニックマウス由来胚では全ての遺伝子型で 2 細胞期への発生率が 85.7-97.2%であり、コントロールと有意差はみられなかった ($P < 0.05$)。しかし、胚盤胞期では、(A/B, A/B)遺伝子型のみ 44.4%の発生率を示したのに対し、他の 3 遺伝子型では胚盤胞期胚への発生はみられず、2-cell block を起こしていた。

<実験 2> *Plk4* プロモーター領域では、AKR/N はデータベース配列に相違なく、AKR/N 特異的多型は存在しなかった。*Hdac1* プロモーター領域では、AKR/N は 8 塩基欠損と 4 つの塩基置換が存在した。しかし、同様の欠損と置換は BALB/c および C3H においても存在したことから、AKR/N 特異的多型は存在しなかった。

【考察および結論】(A/B, A/B)遺伝子型のコンジェニックマウス由来胚においてのみ胚盤胞期への発生が観察されたことから、第 3 染色体 17.5 番地と第 4 染色体 58 番地付近が 2-cell block 原因候補遺伝子座であることが強く支持された。また、*Plk4* および *Hdac1* 遺伝子は、プロモーター領域に AKR/N 特異的多型が存在しなかったことから、プロモーター転写活性の観点からは、2-cell block に関与しないと考えられる。