

マウス体細胞クローン胚における DNA シトシンメチル化の制御

家畜生産生物学講座 家畜改良増殖学分野
佐藤恒平

【背景と目的】体細胞クローン動物の誕生が報告されてから 15 年もの歳月が経っているにも関わらず、発生異常が頻発するという問題は依然解決されていない。体細胞クローン胚は、通常受精卵と比べて、遺伝子発現調節に密接に関連する DNA シトシンのメチル化レベルが高い状態にあることがわかっている。この結果、体細胞クローン胚では遺伝子発現異常が引き起こされると考えられている。体細胞クローン胚における高メチル化状態の原因は定かではないが、近年明らかにされてきた初期胚発生過程における脱メチル化機構との関連が予想される。そこで、本研究では、連続した核移植によって、初期胚発生過程で DNA が受ける脱メチル化作用の回数を増やし、体細胞クローン胚の高メチル化異常の改善を試みた。

【方法】実験 1 では連続核移植法を用いて体細胞クローン胚 (se-NT) を作出し、通常法で作出した体細胞クローン胚 (si-NT) との間で 2 細胞期胚および胚盤胞期胚への発生率の比較を行った。実験 2 では、実験 1 で作出した si-NT および、se-NT 胚盤胞期胚からゲノム DNA を抽出し、メチル化レベルを検証した。検証方法はサテライト配列である Line1 に対して、シトシンのメチル化状態を識別する Bisulfite sequence を行った。

【結果】<実験 1> si-NT 胚と se-NT 胚において発生率を比較した結果、2 細胞期への発生率 (54.6% vs. 23.1%) および、胚盤胞形成率 (5.6% vs. 5.1%) における処理間での有意差はみられなかった。<実験 2> si-NT 胚盤胞期胚の Line1 配列は高メチル化状態であり (71.9%)、核移植に用いたドナー細胞 (92.0%) と同程度のメチル化レベルであった。これに対して、se-NT 胚盤胞期胚は低メチル化状態であり (37.8%)、体外受精胚 (34.0%) と同様のメチル化レベルであり、si-NT との間のメチル化レベルには有意差が見られた ($p < 0.05$)。

【考察および結論】本研究結果より、連続核移植によって体細胞核の高メチル化状態を低メチル化状態に制御することが可能であることが示された。今後、メチル化レベルの低減化が遺伝子発現に及ぼす影響を調べると共に個体までの発生能を比較していく必要がある。