

## 二母性マウスを用いた新規刷り込み遺伝子発現の検証

家畜生産生物学講座 家畜改良増殖学分野

馬狩 柚子

【背景と目的】刷り込み遺伝子（インプリント遺伝子）とは、主として生殖細胞形成過程において受ける DNA シトシンのメチル化修飾領域の違いによって、片親性発現を示す遺伝子である。母性片親由来のゲノムからなる単為発生マウスは、インプリント遺伝子の発現異常により胎齢 9.5 日 (E9.5) で致死となる。そこで、卵子形成過程における母性メチル化インプリントが付与されていない新生子期の非成長期卵母細胞 (ng 卵子) ゲノムの父性メチル化領域を 2 か所 (第 7 番と 12 番染色体) 操作し父性ゲノム化したものと、通常の雌ゲノムである MII 期卵子ゲノムを組み合わせ、成体まで個体発生できる二母性マウスの作出が試みられた (Kawahara M., et al., 2007)。二母性マウスは父性ゲノムを持たないため、野生型マウスとの間で生じる遺伝子発現の差は、未知のインプリント遺伝子によってもたらされると考えられ、父性メチル化インプリント遺伝子の有無を調べるのが可能になる。そこで、本研究では E12.5 において野生型および二母性マウス胎子間での遺伝子発現差を調査し、さらに、それらの遺伝子の発現アレルを亜種間多型を用いて解析した。

【方法】E12.5 の二母性マウス ( $\Delta$ chr7&12)、ng 卵子の父性メチル化インプリント領域を 1 か所ずつ操作した  $\Delta$ chr7、 $\Delta$ chr12 マウスおよび野生型マウスの計 4 種類のマウス胎子全組織における遺伝子発現量をマイクロアレイによって解析した。全てのタイプの二母性マウスに共通して、野生型との発現量差が 2 倍以上であった遺伝子を選択した。これら遺伝子について JF1 系統-C57BL/6 系間の多型をそれぞれ検出し、ダイレクトシーケンスにより発現アレルを決定した。

【結果】マイクロアレイによる網羅的解析の結果、6 遺伝子において野生型よりも 2 倍以上高い発現が確認された。また、29 遺伝子において、野生型のほうが二母性マウス胎子よりも 2 倍以上高い遺伝子が検出された。亜種間多型を調べた結果、3 遺伝子を除く 32 遺伝子で検出された。32 遺伝子の発現アレルは、すべて両アレル発現を示していた。

【考察及び結論】E12.5 二母性-野生型マウス胎子間でみつけた発現の差異は新規インプリント遺伝子によるものではなかったことから、全身性のインプリント遺伝子は既知 3 領域 (第 7, 9, 12 番染色体) 以外にない可能性が示唆された。