

細胞内脂質の系統間差が ガラス化保存マウス胚の生存性に及ぼす影響

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 家畜改良増殖学 佐野渚

1. はじめに

生殖医療および発生工学分野などにおいて、受精卵のガラス化保存法が広く用いられているが、動物の種や系統によっては保存が難しいものも依然としてある。2013年卒論において、ガラス化後のマウス胚の生存性を ICR と比較したところ、より研究需要の高い C57BL/6N (B6) 系統由来胚の生存性が有意に低いことを明らかにした (77.3% v. s. 10.7%)。そこで、本研究では、この違いの原因を明らかにするために胚細胞中の脂質含量や胚の酸化の系統間差を調べることにより、ガラス化保存マウス胚の生存性に及ぼす要因について、細胞内脂質の観点から解析した。

2. 方法

1) 二系統間の胚における脂質含量解析 ICR および B6 系統マウスから採取した卵子および体外受精により作出した胚盤胞期胚を固定後、Oilred により脂質染色して脂質の状態を検出した。それぞれの画像データを取り込んだ後、画像解析ソフト (ImageJ) により胚中の脂肪滴面積を算出し、脂質の系統間差を解析した。

2) 脂質の酸化的分解過程でフリーラジカルが脂質から電子を奪い、その結果細胞膜などが障害を受けることが知られていることから、二系統間の脂質含量や脂肪小滴の状態と酸化ストレスとしての活性酸素検出を試みた。ICR, B6 系統由来のマウス胚盤胞期胚を用いて、生じた活性酸素と反応し多際に蛍光を発する CellROX を用いて胚内の酸化ストレスを検出した。

3. 結果と考察

1) 形状や小滴数を含めた脂質含量の系統間差の解析 胚面積当たりの脂肪滴面積は、卵子と胚盤胞期の両ステージにおいて系統間で有意な差は見られなかった。また、卵子と胚盤胞期胚の両方において、脂肪滴数は ICR に比べ B6 において有意に少なく、平均脂肪滴面積は有意に大きかった。そのため、脂質代謝の状態が系統間で異なっていることが示唆された。また、ガラス化成績には、脂質の含量よりも、脂質の形状の違いが影響を与えている可能性も考えられた。

2) 胚の酸化ストレス状態における系統間差異の解析 ICR 系統由来胚に比べて B6 系統由来胚では胚盤胞中の活性酸素産生量は、有意に高かった。このことより、ICR に比べ、B6 由来胚は酸化ストレスを受けやすく、そのことがガラス化成績に影響を与えている可能性が考えられた。

4. 結論

マウス胚のガラス化生存率と胚の脂質含量や状態の関与が示唆された。加えて、脂質代謝が関わると考えられる細胞内過酸化が胚の膜構造を含めたガラス化に影響を与えていることが示唆された。