

ウシ胚の初期発生と分化に関わるカテプシンの発現動態の解明

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 家畜改良増殖学 前地真奈

1. はじめに

体外受精・培養技術の発達により、哺乳類の初期胚発生メカニズムの研究が進められている。胚発生および分化には多くの因子が関連していることが知られ、未だ明確な解明には至っていないが、近年一つの要因として細胞内蛋白質の異化に関わるリソソームシステインプロテアーゼであるカテプシン(CTSs)が関わるということが報告されている。ウシ卵子および初期胚において、低品質胚でカテプシン B(CTSB)の活性が高く、その活性阻害によって胚発生と胚品質を向上できることに加え、マウス胚では、初期胚発生の後期に発現している CTSs がその後の発生に重要な役割を果たすことが明らかとなっている。しかし、現在までにウシ胚の発生における CTSs の発現動態に関しての知見は少ない。そこで本研究では、知見の乏しいウシ胚の発生過程における遺伝子発現並びに酵素活性の動態を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

体外受精・体外培養して発生させた胚を 1 細胞期, 8 細胞期, 桑実期, および胚盤胞期でサンプリングした。胚盤胞期胚はさらにマイクロブレードにより栄養外胚葉のみの側(TE)と内部細胞塊側(ICM+TE)とで切断したものをサンプリングし、それぞれの発生時期における CTSB, D および Z の mRNA 発現量をリアルタイム PCR によって解析・比較した。また, CTSB によって分解されることで蛍光を発する蛍光基質ペプチドを用いて胚内の CTSB 活性を各ステージおよび胚盤胞期胚の TE, ICM-TE 分画で検出し、画像解析により解析した。

3. 結果と考察

1) CTSB, D および Z の mRNA 発現量を各ステージで比較したところ, 3 遺伝子とも 1 細胞期で最も高い発現を示し、一度低下した後, CTSB, Z では分化が起こる発生の後期にかけて増加する傾向にあった。細胞分化が始まった胚盤胞期での ICM+TE と TE で遺伝子発現を比較したところ, CTSB, Z では, ICM+TE に比べて TE での発現が有意に高かった。

2) CTSB 活性については, 1 細胞期と桑実期で有意に高かった。また, 胚盤胞期において, 有意差はなかったが, ICM+TE の方が TE と比べて高い活性を示した。本研究結果より, ウシの胚発生過程における CTSs の遺伝子発現は, 成熟・受精の時期と分化が始まる時期で高まり, CTSB では発生過程において活性と発現挙動の一致が確認された。このことは, 成熟・分化時に異化特性が高まることが示唆された。しかし, ICM+TE と TE に細胞分化が起こった胚盤胞期では, 遺伝子発現量と酵素活性が全く逆の状態を示したことは興味深く, 転写促進による遺伝子発現量の増加と翻訳された酵素自身の活性化, 不活性化状態が分化時に何らかの作用を果たしている可能性が示唆された。

4. まとめ

ウシ胚における CTSB, D, Z の遺伝子発現と CTSB の酵素活性の動態が明らかとなり, その動態から CTSs の初期胚分化への影響が示唆された。