

# ウシ-マウス間におけるミトコンドリアヘテロプラスミー胚の受胎能

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 遺伝繁殖学 詫間光

## 1. はじめに

ミトコンドリアはあらゆる真核細胞に存在し、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の構造および細胞小器官としての機能は種間で高度に保存されている。しかし、マウス胚にウシミトコンドリアを混入させたヘテロプラスミー胚 (mtB-M 胚) を母体に移植しても、胎子が得られないことから、mtB-M 胚の受胎能は欠落していると考えられる。本研究では、mtB-M 胚の受胎能を更に詳しく評価すべくアポトーシス関連遺伝子発現および胎盤形成に不可欠な栄養膜幹細胞 (TS 細胞) の樹立能を検証することで、mtB-M 胚の着床不全の原因を探りミトコンドリア機能の攪乱が哺乳類初期胚の受胎能に及ぼす影響を調べた。

## 2. 方法

1) アポトーシス関連遺伝子の発現解析 ICR マウス卵母細胞を体外受精 (IVF) に供し前核期胚にウシ胚由来ミトコンドリアを導入し、mtB-M 胚を作出した。mtB-M 胚は体外培養に供し胚盤胞期まで発生させた。アポトーシス関連遺伝子である *Bax*, *Bcl2*, *Caspase3*, *7* および *9* の発現を定量 PCR によって解析した。対象区として IVF 胚およびマウス胚に他のマウス由来ミトコンドリアを導入した mtM-M 胚を用意した。

2) mtB-M 胚の TS 細胞樹立能の検証 IVF 胚および mtB-M 胚について定法に従い TS 細胞樹立を試みた。対象区となる IVF 胚由来細胞では TS 細胞樹立の指標となる 5 回以上の継代培養と分化誘導による胎盤構成細胞への分化能の検証も実施した。また、mtB-M 胚由来細胞では、ウシ mtDNA の検出を試みた。

## 3. 結果と考察

1) mtB-M 胚では IVF 胚と比較して *Bax*, *Caspase3*, *7* および *9* の発現レベルが有意に増加していた。先行研究で mtB-M 胚ではアポトーシス細胞が増加し、栄養外胚葉 (TE) 細胞数が減少することが判明しているため、本研究結果と併せて mtB-M 胚では TE でアポトーシスが亢進されていると考えられた。

2) mtB-M 胚では TS 細胞樹立の指標となる継代 5 回目まで TS 細胞コロニーを維持することができなかった。継代数 5 回以前のコロニーからウシ mtDNA を検出した。以上より、mtB-M 胚では TS 細胞を保持しておらず胎盤形成能が欠落していることが判明した。

## 4. まとめ

mtB-M 胚では、アポトーシス亢進により生存性が低下し、かつ、TS 細胞欠如により胎盤形成能が欠落していることが示された。本研究により、ウシミトコンドリアの混入はマウス胚の栄養外胚葉の発達を妨げ受胎能を著しく低下させることが明らかになった。