

体細胞ミトコンドリアの導入がマウス初期胚発生に及ぼす影響

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 遺伝繁殖学 林 芳弘

1. はじめに

細胞小器官の 1 つであるミトコンドリアは、エネルギー産生や細胞死の誘導などを担っており、細胞の生存には不可欠である。ミトコンドリアの形態は一様ではなく、個体発生中に著しく形態を変化させる。この過程は、ミトコンドリアの成熟とよばれる。しかしながら、ミトコンドリアの成熟の度合いと機能の関連については理解が進んでいない。古くより、体細胞クローン胚発生異常の原因として、成熟度の異なるミトコンドリアの同一細胞内における混在が疑われてきたものの、未だ確定的な実験報告はない。本研究では、成熟度の異なるミトコンドリアが同一細胞で混在したときの影響を確認するために、未成熟なミトコンドリアを保持する細胞の代表として初期胚を対象に、終末分化した成体由来の肝臓体細胞ミトコンドリアを導入する実験系を構築した。さらに、成熟度の異なるミトコンドリアの混在が初期胚発生に及ぼす影響を調べた。

2. 方法

マウス初期胚への体細胞ミトコンドリアの導入系の確認は次の 2 つの方法により行った。① ミトコンドリア蛍光標識したマウス線維芽細胞を作製し、体外受精(IVF)胚に顕微注入した。② 成体肝臓由来のミトコンドリアを顕微注入したのち、透過型電子顕微鏡観察を行った。③ 確立したミトコンドリア導入系により肝臓ミトコンドリアを導入したマウス初期胚の体外発生率を調べた。さらに、胚盤胞期における免疫染色を行い、細胞系列の分化状態への影響について調べた。

3. 結果と考察

上記①において、導入ミトコンドリアの蛍光シグナルを観察した。②において、形態の異なるミトコンドリアの混在を確認した。以上①と②の検証により、マウス初期胚内に体細胞ミトコンドリアを導入する実験系を整えた。次に③において、胚盤胞期胚までの発生能力を通常の IVF 胚と比較したところ、体細胞ミトコンドリア胚の 2 細胞期胚率 (98/201; $48.8 \pm 25.7\%$)、胚盤胞期胚率 (18/201; $8.8 \pm 9.5\%$) は、IVF 胚の 2 細胞期胚率 (143/150 : $95.6 \pm 6.8\%$)、胚盤胞期胚率 (122/150 : $81.8 \pm 7.8\%$) および、バッファー導入胚の 2 細胞期胚率 (133/140 : $95.1 \pm 5.2\%$)、胚盤胞期胚率 (97/140 : $70.6 \pm 9.6\%$) に比べて有意に低かった ($P < 0.05$)。さらに、胚盤胞期胚における免疫染色を行ったところ、胎子形成に重要な内部細胞塊の平均細胞数 (9.7 個) は IVF 胚および (14.8 個) バッファー導入胚 (14.7 個) に比べて有意に低かった ($P < 0.05$)。

4. 結論

成熟度の異なる体細胞ミトコンドリアを受精卵に導入した際、胚発生率の減少や、内部細胞塊細胞数の低下が確認された。このことから、成熟度の異なるミトコンドリアの混在は、初期胚発生に悪影響を及ぼすことが示唆された。