

## 細胞内遺伝物質の種統一性が個体発生に及ぼす影響

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 遺伝繁殖学 横井 芙実

### 1. はじめに

初期胚におけるミトコンドリアの機能不全は、胚の発生停止をまねく。また、ミトコンドリアは核 DNA とは別のミトコンドリア DNA(mtDNA)を持っており、核 DNA と mtDNA が呼吸鎖複合体を形成することが正常な胚発生に必要な。さらに、初期胚における異種ミトコンドリアの混在により、胚盤胞期までの発生率は低下し、胎生致死となる。核 DNA-mtDNA の両遺伝物質が由来する種の不一致が発生阻害の根本的な原因であると仮定した場合、遺伝物質の種の一致を確保すれば、それ以外の細胞成分が他種由来であっても発生は継続されるかもしれない。この疑問に答えるべく、本研究では、遺伝物質である核およびミトコンドリアの双方の種をマウスで統一し、かつ、細胞質成分を異種であるウシを用いたウシ細胞質マウス胚の構築における問題の探索と解決を目指した。

### 2. 方法

ミトコンドリアのみを効率よく細胞間に入れ替えるためには、遠心操作により初期胚中にミトコンドリアを偏在化させる必要がある。マウス胚では、遠心操作しても偏在化しないため、本研究では細胞骨格阻害剤であるノコダゾール処理の追加を試し、ミトコンドリア偏在化に及ぼす影響について調べた。さらに、異種どうしの細胞膜融合は一般に低効率であるため、細胞融合方法についてもウイルス単独、電気刺激単独、および複合処理を試して融合効率の改善を図った。これらの検討の後に、ウシ胚から核とミトコンドリア双方を吸引除去し、残った細胞質にマウス胚から採取したミトコンドリアおよび核を導入して作出したウシ細胞質マウス胚の発生率を調べた。

### 3. 結果と考察

ノコダゾール処理により、マウス胚のミトコンドリアを効率的に偏在化させることができた。また、ウイルス単独(8.3%)および電気刺激単独(50.0%)と比較して両者の複合処理によりマウス胚とウシ胚の融合率が82.0%まで向上した。これらの方法を用いてウシ細胞質マウス胚を作出して体外発生を調べたところ、4細胞期までは発生が進むが、それ以降は発生しないことが判明した。作出したウシ細胞質マウス胚の mtDNA コピー数を測定すると、マウス mtDNA とほぼ同量のウシ mtDNA を確認したため、残存したウシミトコンドリアによって発生阻害が引き起こされた可能性がある。以上より、遺伝物質をマウスに統一したウシ細胞質マウス胚を作出するためには、今後効率的なウシミトコンドリアの除去方法を確立する必要があることが明らかになった。

### 4. 結論

ウシ細胞質マウス胚を作出するために必要な、マウス胚のミトコンドリア偏在化および異種細胞質融合の効率化を可能とした。しかし、ウシ細胞質マウス胚の発生能力を正確に評価するためには、遺伝物質の導入法のみならず細胞質に残留したミトコンドリアの除去を達成する必要がある。