

\*\*\*\*\*

## ウシ初期胚発生と核メチル化制御に及ぼす 暑熱ストレスの作用機構解明

九州沖縄農業研究センター畜産草地研究領域・主任研究員 阪谷 美樹

\*\*\*\*\*

### ■ 目的

ウシの夏季受胎率の低下は近年大きな問題である。母体の体温上昇が生殖器官も高温に曝し、卵子の品質や受精の成立、初期胚の発生を阻害させることがこれまでの報告でも明らかになりつつある。一方、エピジェネティクスによる遺伝子発現制御は初期発生に大きな役割を果たしている。特にDNAのメチル化状態の変化は初期発生に影響を与える。しかしながら、夏季のウシ受胎性の低下と卵子・初期胚におけるDNAメチル化制御に関して検討はほとんど行われていない。本研究課題では高温成熟条件が卵子の品質、胚発生能に与える影響をエピジェネティクスの観点から解析を行った。

### ■ 方法

1) 屠場由来ウシ卵巣より採取した卵子を38.5°Cで成熟培養した後、体外受精、発生培養を行った。成熟後の第二減数分裂期(MII)卵子、体外受精後の1、2、8細胞期胚、桑実胚、胚盤胞のメチル化制御に関わる遺伝子(*TET2*, *TET3*, *DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*)の遺伝子発現パターンをqPCR法により評価した。

2) 1)と同様に得た卵子を38.5°C(通常)、40.0°C(高温)で成熟培養した後、通常条件で体外受精・発生培養を行い、成熟温度の差が胚発生、メチル化制御に関わる遺伝子発現、5メチルシトシン(5mc)、5ハイドロキシメチルシトシン(5hmc)の発現、胚盤胞におけるメチル化状態に与える影響を解析した。

### ■ 結果および考察

1) メチル化制御に関わる遺伝子発現は、発生ステージ依存的に変化した。*TET2*, *3*, *DNMT1*は発生初期の8細胞期まで高く、*DNMT3A*, *3B*は胚盤胞で高い発現を示した。8細胞期以降にembryonic genome activationが生じることから、母型由来の*TET2*, *TET3*, *DNMT1*が高発現していると考えられる。

2) 高温成熟により卵子の成熟率、胚発生率は有意に低下した。また5mcを5hmcに変換する*TET3*の遺伝子発現に差が認められたが、MII、1細胞期胚の5mc、5hmcの発現パターンに成熟温度による差は認められなかった。一方、DNAメチル化に関与する*DNMTs*の発現は1細胞期、胚盤胞期胚で差が生じ、胚盤胞の品質に関わる*NANOG*の遺伝子発現、メチル化レベルにも差が認められたことから、卵子成熟期の高温がDNAメチル化パターンを変化させ胚発生能に影響を与える可能性が示唆された。

### ■ 結語

メチル化制御に関わる遺伝子発現は発生ステージによって大きく異なり、マウスとはそのパターンが異なること、またその発現が高温成熟によって変化し、DNAのメチル化制御に影響を与えている可能性が示唆された。しかしながら、成熟卵子、1細胞期胚で5mc、5hmcの発現や分布に高温成熟による差は認められなかったことから、高温成熟がエピジェネティクスによる遺伝子発現制御に与える影響を明らかにするには更なる検討が必要であると考えられる。