

受精卵期に経済形質をプログラミングする培養方法の創出

京都大学大学院農学研究科・助教 池田 俊太郎

■ 目的

家畜生産において受精卵期に将来の優れた経済形質をプログラムする方法を創出することを目的とし、体外培養系を用いて、受精卵を取り巻くメチル基栄養条件を改変することにより、受精卵の中で、胎仔発育を含めた成長・代謝に密接に関わる遺伝子(インスリン様成長因子[IGF]関連遺伝子およびチオレドキシシン相互作用タンパク質[Txnip])の発現に変化が起こるかどうかを、エピジェネティック修飾の変化も含めて検討した。

■ 方法

【実験1】体外受精によって得られたウシ8細胞期胚を、メチオニンアデノシルトランスフェラーゼ2A(MAT2A)の阻害剤であるFIDASを添加した(MAT2A阻害区)、あるいは添加しない(対照区)修正合成卵管液で培養した。両区で得られた胚盤胞からRNAを抽出し、*IGF2*、*IGF2R*、*IGFBP2*、*IGFBP3*のmRNA発現量をRT-qPCRによって解析した。また、*IGFBP3*のプロモーター領域について、ヒストンH3の9番目のリジン残基のトリメチル化(H3K9me3)の程度をクロマチン免疫沈降(ChIP)により解析した。

【実験2】3～7週齢のICR系雌マウスを過排卵処理し、BDF1系雄マウスと交配させて得た1細胞期胚を、メチオニンとビタミンB群ミックスを添加した、あるいは添加しない(対照区)KSOM培地で培養した。得られた胚盤胞からRNAを抽出し、*Igf2r*、*Igfbp2*、*Igfbp3*、*Txnip*のmRNA発現量をRT-qPCRによって解析した。RT-qPCRおよびChIPの結果についてt検定により統計解析を行った。P<0.05をもって有意とした。

■ 結果および考察

IGFは、その受容体(IGF1R、IGF2R、インスリン受容体)や結合タンパク質(IGFBPs)との相互作用を通じて、細胞の増殖や同化、栄養素の取り込みを制御し、胎仔発育を含めた成長・代謝に密接に関与する。実験1において、MAT2A阻害区では対照区に比べ胚盤胞発生が低下するとともに、*IGF2R*、*IGFBP2*、*IGFBP3*の発現が有意に増加した(P<0.05)。興味深いことに、発現の増加が見られた*IGFBP3*遺伝子のプロモーター領域について、そのヒストン修飾を解析したところ、転写抑制性のヒストン修飾であるH3K9me3がMAT2Aの阻害によって低下する傾向が見られた(P=0.069)。この結果から、MAT2Aの活性制御により、エピジェネティック修飾を介して成長・代謝に重要な役割を果たす遺伝子の発現制御が可能であることが示唆された。一方、実験2において、マウス胚の培養液にメチオニンとビタミンB群ミックスを添加すると、得られた胚盤胞で*Igf2r*、*Igfbp2*の発現が有意に減少した。また、糖代謝と関連する遺伝子で、特定の条件下で培養されたマウス体外受精卵および産仔で発現が高値となる*Txnip*についても同様に発現の減少が見られた。メチル基栄養代謝の阻害(MAT2Aの阻害)によってこれらの遺伝子の発現が増加し、逆に代謝の促進(関連栄養素の添加)によってその発現が減少するという結果を考えると、メチル基栄養代謝がIGF関連遺伝子を含む成長・代謝関連遺伝子の発現に対して出力のあるセンサーとして働いている可能性が示唆された。

■ 結語

今後は、メチル基栄養代謝の制御による受精卵のヒストン修飾がその後の細胞分裂を経て維持されるのか、またDNAメチル化を含む他のエピジェネティクス制御機構の素因になるのか、そしてそれは実際に出生後の形質(健康・疾病・経済形質)に変化をもたらすのかについて研究を進めていきたい。