

## 受精後の DNA メチル化リプログラミングにおける種間差異

澤田 友季乃、舟橋弘晃、若井拓哉

岡山大学大学院環境生命科学研究科動物生殖細胞工学分野

哺乳類では受精後、分化全能性を獲得する着床前の発生過程において、遺伝子発現のリプログラミングが起こる。遺伝子発現を制御する主要なエピジェネティクス修飾の一つである DNA のメチル化修飾は、胚盤胞期までにゲノム広範囲で脱メチル化がおこる。マウスやウシやヒトの場合、雌雄ゲノムで DNA 脱メチル化の様式に明確な差異が存在し、雌性ゲノムでは、DNA 複製時に新規鎖でメチル化シトシン (5mC) が維持されない結果生じる“受動的脱メチル化”が卵割(細胞分裂)とともに進行するのに対して、雄性ゲノムでは、受精直後に 5mC から 5-ヒドロキシメチル化シトシン (5-hmC) への変換を介した急速な脱メチル化 “能動的脱メチル化” が起こる。ところが、雌雄ゲノムでみられる DNA 脱メチル化の非対称性は、ウサギやヤギ等の幾つかの動物種では認められない。以前我々が行ったブタ受精卵を用いた研究においても、雄性ゲノムで明瞭な能動的脱メチル化が観察されなかった。そこで本研究では、ウシやブタ等の異種の精子をマウス卵へ顕微注入し、DNA メチル化リプログラミングの種間差異について検討した。

未受精卵は 8~12 週齢の BDF1 雌マウスに過排卵処理を行い採取した。顕微授精には 12 週齢の BDF1 雄マウスの精巣上部尾部から採取した精子、黒毛和種雄牛由来の凍結融解精子およびバークシャー種の雄ブタから採取した新鮮精子を用いた。顕微受精後、前核期の受精卵を固定透過処理し、5mC および 5-hmC を免疫蛍光染色により解析した。

マウスの精子を注入した前核期卵では、雌性前核で検出された明瞭な 5mC が雄性前核では検出されず、雄性前核でのみ 5-hmC が検出された。ウシ精子を注入した前核期卵では、マウスと同様の検出パターンが観察されたのに対して、ブタ精子を注入した卵の多くで、雄性前核に 5-hmC が検出されたが、5mC が検出された卵とされなかった卵が観察された。ブタの雄性ゲノムでは、能動的脱メチル化が起こらないとされていたが、マウス卵内においては一部誘導されることが明らかとなった。マウスでは 5mC から 5-hmC への変換は卵内の ten-eleven translocation 3 (TET3) 活性により誘導されることが分かっており、ブタなどの能動的脱メチル化が起こらない動物種では卵内の TET3 の活性が低い可能性が考えられる。