

マウス初期胚における母性 mRNA の選択的分解機構に関する研究

2008年3月修了 先端生命科学専攻 資源生物制御学分野

学生証番号 66543 氏名 平坂聡 指導教員 永田昌男教授、青木不学准教授

Keywords; マウス卵, 母性 mRNA, 選択的分解, MII 期への進行, 3' UTR

序論

マウス卵は成長過程において活発に転写を行い、細胞内に mRNA を蓄積する。転写は成長過程が終わる前に停止し、蓄積された mRNA はその後の発生のために使用される。mRNA は成長期においては安定だが、第 1 減数分裂前期の卵核胞期 (GV 期) から第 2 減数分裂中期 (MII 期) にかけてその量が減少している。分解は受精後も続くが、このときの分解速度は mRNA の種類によって異なる。受精後の初期胚において Mos、Gdf9、H1oo、tPA mRNA は Hprt1 や Cyclin A2 mRNA に比べて急速に分解される。一方、卵に含まれる mRNA は受精後の胚性遺伝子発現 (ZGA) において合成されるか否かで 2 つのクラスに分けられる。第一のクラスの mRNA は ZGA によって合成され、卵と初期胚に共通に含まれるものである。このような mRNA は卵においても胚においても必要とされるものであり、細胞の基本的な機能を担っていると考えられる。第二のクラスの mRNA は ZGA によって合成されず、卵にのみ含まれるものである。このような mRNA は胚においては不必要だけでなく、有害となることもある。受精後の初期胚において比較的安定である Hprt1 や Cyclin A2 mRNA は第一のクラスに属し、急速に分解される Mos、Gdf9、H1oo、tPA mRNA は第二のクラスに属す。ゆえに、卵には mRNA をその必要性に応じて選択的に安定化あるいは分解する機構が存在すると考えられる。本研究はこの機構について明らかにすることを目的とし、何がこの機構の誘因となっているのか、また、どのようにして mRNA 種に選択性もたらされるのかについて調べたものである。

結果

受精前後における mRNA 量の変化

すべての mRNA は GV 期まで安定であるが、その後何れを誘因として安定性に差を持つようになるのかを調べるため、GV 期から 1 細胞期までの卵成熟および発生過程における様々な事象に着目した。すなわち、卵成熟過程における卵核胞崩壊 (GVBD)、MI 期への進行、MII 期への進行、そして受精後における MII 期の終了、前核形成、DNA 複製開始である。これらの事象を正確な時間で同期化して扱える *in vitro* での成熟系 (IVM) と体外受精系 (IVF) で再現し、それぞれの事象が

起こってから 2 時間後の各種 mRNA 量を測定した (図 1)。その結果、Hprt1 と Cyclin A2 mRNA は GV 期から受精後 DNA 複製を開始するまでの間、一定の速度でゆっくりと分解されていった。一方、Mos、Gdf9、H1oo、tPA mRNA は MII 期に進行した後に顕著に分解の速度が上がり、特に Mos と Gdf9 mRNA につい

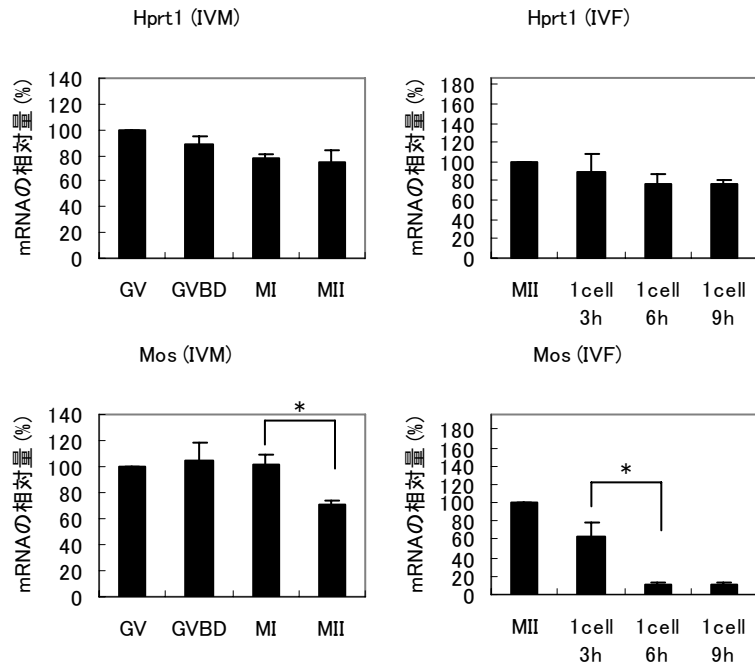


図 1. 受精前後における mRNA 量の変化 IVM と IVF における mRNA 量の変化。Hprt1 と Mos についてのみ示した。* $p < 0.05$

ては有意にその量が減少した。また、受精後 3 時間から 6 時間にかけても顕著に分解の速度が上がり、特に Mos mRNA については有意にその量が減少した。これらの結果より、mRNA がその種類によって分解速度に差を持つようになるのは、MI 期から MII 期に進行すること、あるいは初期胚において前核を形成することが誘因であることが示唆された。

mRNAの分解に対する卵成熟・受精の影響

mRNA がその種類によって分解速度に差を持つようになるのは、MII 期に進行することが誘因であるか否かを調べるため、減数分裂進行阻害剤である IBMX の存在下、非存在下でそれぞれ培養を行い、mRNA 量を測定した (図 2)。その結果、Mos、Gdf9、H1oo、tPA mRNA について、IBMX 非存在下で培養後 12 時間で見られた顕著な減少が IBMX 存在下では見られなくなった。特に Mos と Gdf9 mRNA については有意に差があった。これらの結果より、mRNA がその種類によって分解速度に差を持つようになることに対して、MII 期に進行することが誘因であることが示唆された。

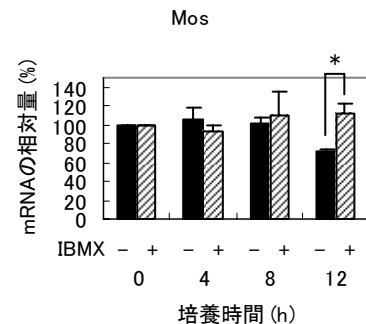


図 2. mRNA の分解に対する卵成熟の影響
培養時間 4, 8, 12h はそれぞれ GVBD, MI, MII への進行から 2 時間後である。

また、受精の有無による mRNA 量の変化を調べたが、受精による mRNA 量の安定性に対する影響は見られなかった。

mRNAの安定性に対する 3' UTR欠失の影響

一般的に mRNA の安定性に大きく影響するといわれている 3' UTR をすべて、または後半のみ、または前半のみ欠失した Hprt1 と Mos mRNA の分解を調べた。その結果、Mos mRNA は 3' UTR のどの領域を取り除いても影響を受けず、3' UTR のすべてを含むものと同様の速い分解が見られた。一方、Hprt1 mRNA は 3' UTR をすべてを含むものは比較的安定であったが、3' UTR のすべてを欠失、あるいは前半のみを欠失させることで安定性が有意に減少した。しかし、3' UTR の後半部分を欠失させても有意な減少は検出されなかった。これらの結果より、Hprt1 mRNA 3' UTR の前半部分に mRNA の安定化に寄与する因子が存在することが示唆された。

考察

本研究は、卵成熟の過程における事象ごとの各種 mRNA 量の変化を詳細に調べることにより、ある種の mRNA に対する選択的な分解が MII 期への進行を誘因に引き起こされることを明らかにした。また、mRNA の安定性に対する 3' UTR の影響を調べることにより、Hprt mRNA 3' UTR 前半に分解に拮抗する因子が存在することを示した。これまで、MII 期の mRNA 量が GV 期に比べて少ないことから、GV 期から MII 期にかけて起こる mRNA の大規模な分解は、卵成熟の開始と共に起こると考えられてきた。しかし、本研究で明らかになった、MII 期への進行と共に引き起こされる分解機構が、この大規模な分解を担っているのかもしれない (図 3)。

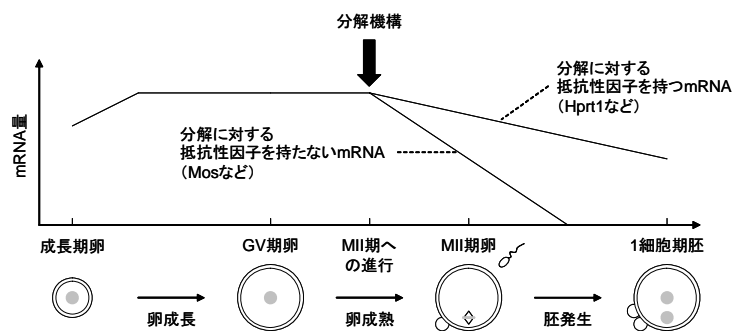


図 3. マウス卵における mRNA の選択的安定化機構