

マウスの生殖系列から変異型ミトコンドリア DNA が消失する機構の検証

伊藤 香菜子 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 中田 和人 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

細胞内小器官の1つであるミトコンドリアは、内部にミトコンドリア DNA (mtDNA) と呼ばれる核 DNA とは異なる独自の DNA を有している。哺乳類では、mtDNA は体細胞では細胞あたり数百から数千コピー、成熟した卵では十万コピーほど存在すると言われている。mtDNA はミトコンドリアの呼吸機能に関する遺伝子をコードしているため、病原性突然変異が生じた mtDNA が蓄積すると、ミトコンドリア呼吸機能の低下が引き起こされ、ミトコンドリア病と総称される病気を発症することが知られている。ミトコンドリア病の原因となる病原性突然変異のひとつに、mtDNA の全長の 1/3 程が抜け落ちた大規模欠失型突然変異があり、欠失によって短くなった変異型 mtDNA を Δ mtDNA と呼んでいる。 Δ mtDNA の蓄積は、ヒトでは CPEO (Chronic progressive external ophthalmoplegia) や KSS (Kearns-Sayre syndrome) と呼ばれるミトコンドリア病の原因となることが知られている。所属研究室では、ヒトの Δ mtDNA とほぼ同じ領域を欠失したマウス Δ mtDNA を有するミトコンドリア病モデルマウス、Mito-mice Δ の樹立に成功している。

ヒトやマウスといった哺乳類の mtDNA は母性遺伝様式によって次世代に伝搬されることが知られているが、ヒトで報告されている CPEO や KSS の症例の大部分は孤発性で、家族性ではないことが多い。これは、mtDNA の大規模欠失突然変異が発生の初期段階で体細胞にのみ生じ、生殖系列にはこの Δ mtDNA が存在していないためであると考えられている。しかし、Mito-mice Δ では、 Δ mtDNA が母親から仔へと遺伝するため、系統維持が可能である。雌マウスの Δ mtDNA の割合が高すぎると不妊であり、逆に低すぎると Δ mtDNA がほとんど次世代に受け継がれない。そのため、 Δ mtDNA の割合が 10-30% 程度の雌を交配に用い、野生型の雄と交配させる。この系統維持を通じ、「母マウスが若齢のときには Δ mtDNA を様々な割合で有する産仔が得られるのに対し、母マウスが加齢すると、 Δ mtDNA が仔に伝わらなくなる」ことが明らかとなった。一般的に、卵の質は母親の加齢に伴い低下すると言われているため、「加齢すると Δ mtDNA をもたない正常な仔マウスしか生まれなくなる」というのは通説と逆説的な現象である。そこで、本研究では加齢に伴う Δ mtDNA の消失が、「どのようにして起こるのか」を明らかにすることを目的とする。

その機構として、① Δ mtDNA が卵母細胞ごと除去される② Δ mtDNA が特異的に排除されるという 2 つの仮説が考えられる。本研究では前者の仮説の検証を行うことにした。

【方法】

野生型マウスと 10-30% の割合で Δ mtDNA を持つ Mito-mice Δ の雌から、2 ヶ月、4 ヶ月、6 ヶ月、8 ヶ月時点で卵巣を採取し、連続切片を作製した。それらの切片についてアポトーシス細胞を特異的に検出する、TACS2 TdT *in situ* Apoptosis Detection Kit を用いて TUNEL 染色をし、TUNEL 陽性である卵母細胞数のカウントを行った。

【結果・考察】

詳細な結果と考察については発表会にて提示する。