

特別講演 5

全能性胚の *in vitro* 再構築

理化学研究所バイオリソース研究センター

筑波大学大学院生命環境科学研究科

小倉淳郎

全能性は、1 個の細胞が個体発生過程に生じるすべての細胞・組織へ分化する能力であると定義される。哺乳類では、胎児組織だけでなく胎盤も形成する能力とされ、その生殖サイクルのうちでは受精卵のみが持つ能力である。近年、配偶子を用いた発生工学技術の進歩とともに、自然な生殖サイクルでは生じない全能性胚を人工的に作出することが可能になっている。その端的な例が核移植クローン胚である。さらに未成熟精子（精細胞）を用いた顕微授精胚も、広い意味でこの範疇に含まれる。私たちは長年にわたり、この核移植クローン技術と顕微授精技術を用いて、1 個の再構築胚が完全な個体まで発生する条件を追い求めてきた。これらの条件は核レベルでは **genetic** な条件と **epigenetic** な条件に分けて考えることができるが、いずれについても卵子の成分（母性因子）が大きな役割を果たす。たとえば、**genetic** な条件は、正常な $2n$ の染色体が再構築され、それが卵割中に維持されることであるが、これらが正常に進行するために必須の母性因子が数多く同定されてきている。また、**epigenetic** な条件としては、再構築胚のゲノム状態が受精卵と同じになること、すなわちゲノム再プログラム化が完成し、胚性ゲノム活性化が進行することが挙げられる。これらの現象にはヒストン、ヒストンシャペロン、転写因子などの母性因子が重要な役割を果たす。もちろん、以上の現象は、正常な受精卵にノックアウトやノックダウンなどの処理を加えることで見えてくるものもあるが、核移植クローンや顕微授精技術によって、よりダイナミックかつ大規模に解析が可能になる。

私たちは、これらの研究をほぼ全てマウスを用いて行なってきた。マウスは、小型で妊娠期間が短いことやゲノム情報が豊富であることが主な利点として挙げられるが、さらに遺伝的に均一な個体集団を実験に用いられることが大きい。例えば、最初の体細胞クローンマウスは、**B6D2F1** (**F1** 交雑系) マウスの卵子と卵丘細胞を用いてハワイで生まれているが(Wakayama et al. 1998)、その後の技術改良も世界中で同じマウスを用いて行なわれたことで、いつでも出生率の向上を正確に把握することが可能になっている。同様の実験条件下で、私たちも体細胞由来のクローン胚ゲノムをいかにして受精卵ゲノムに近づけるか、その方法を追求している。その結果、「余分な」体細胞のゲノム情報（抑制性ヒストンマークなど）および「足りない」生殖細胞のゲノム情報（一部のゲノム刷込み）をいかに正常化していくかという比較的シンプルな課題に集約されることがわかってきた。しかしながら、その正常化はまだ不完全であり、出生率は最大 20%程度に留まっている。一方、顕微授精に関しては、精子を用いた顕微授精 (**ICSI**) および伸張精子細胞を用いた顕微授精 (**ELSI**) によって実用的な出生率が得られている。しかしながら、円形精子細胞を用いた顕微授精(**ROSI**)および一次精母細胞を用いた顕微授精は未だに低率である。前者は主に **epigenetic** な異常が生じ、後者は **genetic** な異常が生じていることが明らかになっている。これらを解決する手段も徐々に開発を進めているところである。

本講演では、核移植クローン技術および顕微授精技術を用いた研究の成果をもとに、再構築胚が完全な個体へ発生する能力、すなわち全能性獲得の条件について解説をしたい。