

30-0323 W102-1

PHG P x ノックアウト胚の致死の解析

○鈴木 利幸¹, 今井 浩孝¹, 鈴木 絢子¹, 中川 靖一¹ (¹北里大薬)

<目的>我々は昨年の本学会においてリン脂質ヒドロペルオキシドグルタチオンペルオキシダーゼ (PHG P x) のノックアウトマウスが7.5日から8.5日の間で致死になることを報告した。しかし、その致死のメカニズムやどのタイプのPHG P xが胚致死の要因になっているのかについては全く明らかになっていない。そこで本研究では、6.5日から8.5日のKO胚の性状解析をおこなった。<方法>当研究室で作成したPHG P xヘテロマウス同士を交配させ、プラグの確認ができた日を0.5日とし6.5、7.5、8.5日の子宮から脱落膜を回収し組織切片の作成、胚を回収し解析を行った。PHG P xの胚発生での発現はPHG P x抗体による組織染色でおこなった。PHG P xノックアウト胚はGenotypingによる遺伝子解析により同定した。また7.5日の初代培養系の構築をおこなった。<結果>抗PHG P x抗体による組織染色の解析をおこなったところ、PHG P xは7.5日から9.5日で発現が高くなり、12.5日では染色されなかった。7.5日KO胚ではPHG P x抗体による染色がみられず、TUNEL染色の解析から、KO胚はアポトーシスをおこなっていることが明らかとなった。6.5、7.5日胚の大きさを検討したところ、6.5日では大きさがほとんど変わらないのに対し、7.5日ではKO胚はWild、ヘテロ胚に比べ小さかった。7.5日胚の初代培養系を構築したところ、Wild、ヘテロ胚は4日目まで増殖したのに対し、KO胚は全く増殖しなかった。<考察>以上の結果からPHG P xノックアウト胚では7.5日ですでにアポトーシスをおこし、細胞増殖の停止、胚発生の停止がおきていることが明らかとなった。