

第9回 日本生殖再生医学会

2014.03.16、大阪

ブタ GV 期卵母細胞に注入したミトコンドリアの細胞内動態

矢持隆之、橋本周、天羽杏実、後藤大也、山中昌哉、井上正康、森本義晴

IVF なんばクリニック

不妊の一因と考えられている肥満、I型糖尿病、あるいはインスリン抵抗性のモデルマウスでは卵母細胞の発育能が低いこと、およびそれらと正常マウスの卵母細胞におけるミトコンドリアの分布に顕著な違いが有ることが判明している。このことからミトコンドリアの機能や細胞内挙動が卵母細胞の発育に影響する可能性が示唆される。しかし、卵母細胞のミトコンドリアの挙動制御機構については不明な点が多い。本研究では、卵母細胞内のミトコンドリアの分布や挙動を解析するため、ブタ GV 期卵母細胞に蛍光標識したミトコンドリアを注入し、その細胞内動態を観察した。

春機発動前ブタ卵巣内卵胞(直径 2-6 mm)から卵母細胞を採取し、その一部をミトコンドリア(細胞質)のドナー細胞、残りをレシピエント細胞として解析に用いた。ドナー卵母細胞を MitoTracker-Orange CM-H₂TMRos (10 μM)を含む Hank's 199 溶液で 30 分間培養してミトコンドリアを染色後、10,000 x g で 15 分間 (37°C) 遠心して細胞内高比重画分にミトコンドリアを濃縮し、Mitochondria-enriched ooplasm (MEO)をインジェクションピペットで吸引採取した。これをレシピエント卵母細胞の中央部または細胞膜直下に局所注入後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて蛍光標識ミトコンドリアの細胞内動態を経時的に解析した。解析の結果、ミトコンドリアが卵母細胞内で中心部から細胞膜直下へ、および細胞膜ペリプラズマに沿って速やかに拡散移動する 2 種類のトラフィックが存在することが判明した。