Japan Society of Obstetrics and Gynecology

351　マウス初期胚におけるNa^+/H^+ exchanger遺伝子発現の検討

東京大，同農学部応用生命科学研究科*
末永昭彦，堤　治，矢野　哲，舘　鄰*，武谷雄二

[目的]桑実胚から胞胚が分化する際の胞胚腔の形成になんらかのイオン交換体が関与していると考えられる。Na^+/H^+ exchanger(以下NHE)は,細胞の体積増加,細胞内pHの調節に関与する。そこで,初期胚におけるNHE type1(NHE 1)の遺伝子発現を検討した。[方法]マウス初期胚におけるNHE 1の遺伝子発現をRT-PCR法により解析した。まず,マウスNHE 1の部分塩基配列を保存領域に対するPCR産物のcDNAクローニングにより決定し,Rat NHE 1とのhomologyを検討した。決定したマウスNHE 1の部分塩基配列に基ずき,PCRに用いるprimerを設定した。初期胚は,ICR系マウスを用い,過排卵処理hCG投与後(40h),(64h),(76h),(88h)・mating後,それぞれ2cell,8cell,桑実胚,胞胚を回収した。胚100個をMicro Fast TrackによりRNAを抽出し,RT-PCRを行った。発現は電気泳動後のbandをImage analizerで解析した。[成績]マウスNHE 1の部分塩基配列685bpを決定した。Rat NHE 1とのhomologyは、99%と非常に高かった。RT-PCR法により,マウス初期胚全てにおいてNHE 1遺伝子発現が確認された。NHE 1/β-actin比は,2cell(2.6)8cell(0.3),桑実胚(1.6),胞胚(0.2)で特に2cell、桑実胚の発現が高く認められた。[結論]マウス初期胚におけるNHE 1の遺伝子発現を確認し,特に2cell,桑実胚の発現が高く認められた。8cellでの発現の低下は,maternal gene expressionが消失したことによると思われる。一方,桑実胚では,自己の遺伝子が発現し,その生物学的意義として胞胚腔形成にNHE 1が関与していることが示唆された。

352　マウス着床前胚における Growth Hormone Receptor の発現

山形県立中央病院
寺田幸弘，堤　誠司，千葉由美代，遠藤　敦

〔目的〕従来、Growth Hormone（GH）の生物学的作用は、生殖領域には関与しないと考えられていた。しかし、近年卵胞発育、特に顆粒膜細胞のステロイド産成に直接的に関与していることが明らかになり、生殖領域との関わりが見直されている。今回我々は、マウス卵、着床前胚におけるGrowth Hormone Receptor（GHR）の発現をタンパクと遺伝子の両面から検討した。

〔方法〕マウス卵、着床前胚の採取：6－8週齢ICR雌マウスを過排卵誘発後、交配し、各発育段階の胚を採取した。免疫蛍光抗体法によるGHRタンパクの発現：卵、胚はGHRモノクローナル抗体（Mab 5）を用いた間接蛍光抗体法にて染色、全載標本を蛍光顕微鏡で観察した。RT－PCRによるGHRmRNAの発現：30－50個の卵、胚を採取しPoly A RNAを抽出、更にcDNAを作成しPCRに供した。使用したプライマーは、GHRの細胞外領域をコードするexon2からexon4の部位を検出するべく設定した。

〔成績〕免疫蛍光染色ではcompaction後の胞胚から細胞表面にGHRが発現しているのが観察された。RT－PCRでは、8－12細胞期からGHRmRNAが発現しているのが観察された。

〔結論〕着床前胚において、GHRが発現していることを初めて明らかにした。GHRはcompaction以降に発現し、そのmRNAは8－12細胞期から発現していた。この事実は、着床前胚に対しGHの直接作用が存在することを示唆する。

NII-Electronic Library Service