
遺伝子発現プロファイルに基づく ウシ体外受精胚の新規培養技術の開発

岩手大学農学部・准教授 澤井 健

■ 目的

ウシ体外受精(IVF)胚の体外発生(IVC)培地の組成は様々な遺伝子の発現プロファイルに強く影響する。胚の受胎率が体内受精・体内発生胚と比較して低いこと、産子に生時体重の増加(過大化)がみとめられることなどウシ IVF 胚に認められる異常を克服するためには、IVF 胚における機能性の客観的評価を基に体外培養技術の構築を行う必要がある。本研究では、ウシ初期胚の機能性に関わる遺伝子の発現プロファイルを評価指標として用いることにより、ウシ IVF 胚の体外発生培地への Progesterone (P4) 添加効果を検討した。

■ 方法

ウシ IVF 胚を 15 ng/ml の P4 添加もしくは無添加の修正 TALP 培地を用いて IVC を行った。実験 I では、ウシ IVF 胚を P4 添加または無添加の PVA 添加もしくは BSA/CS 添加培地で培養した。実験 II では、P4 添加または無添加の BSA 添加培地で培養を行った。実験 I および II ともに、培地に添加した P4 がミネラルオイルに吸着することを避けるため、IVC は 4-well dish (Nunc) を用いて行った。また、実験 I および実験 II において、拡張胚盤胞期まで発生した一部の胚を採取し、総細胞数の計測を行った。さらに、実験 I において得られた胚の遺伝子発現解析を行った。Day8 で得られた拡張胚盤胞期以上へ発生した胚を 1 胚ずつサンプリングし得られた RNA サンプルを逆転写し、cDNA を得た。リアルタイム PCR 法により IFN- τ 、CDX2 および GATA3 遺伝子の mRNA 発現量を解析した。

■ 結果および考察

実験 I：Day5 での桑実期以上、Day7 での初期胚盤胞期以上さらには Day8 での脱出胚盤胞への発生率に関しては、PVA 添加培地と比較して BSA/CS 添加培地において有意($P < 0.05$)に高い値を示した。PVA 添加培地においては Day5 の桑実期以上への発生率において、P4 無添加区 (25.0%) と比較して P4 添加区 (37.9%) において高い傾向を示したが、PVA 添加培地および BSA/CS 添加培地いずれにおいても P4 添加の有無による胚発生率に有意な差はみとめられなかった。

実験 II：Day5 での桑実期以上、Day7 での初期胚盤胞期以上さらには Day8 での脱出胚盤胞への発生率に関しても培地への P4 添加の有無による差はみとめられなかった。

総細胞数：IVC 培地の組成にかかわらず、IVC 培地への P4 添加は拡張胚盤胞期における総細胞数に影響をおよぼさなかった。

遺伝子発現動態：血清成分が添加された IVC 培地においては、培地への P4 添加はむしろ IFN- τ 発現を抑制する傾向にあり、さらに、血清成分の添加により GATA3 の遺伝子発現が増加することが明らかとなった。

■ 結語

これまで胚盤胞期までの発生率によって評価されてきたウシ IVF 胚の IVC 培地において、本研究により、胚の発生率と合わせて胚の遺伝子発現動態を評価指標に加えることで、胚の機能性を客観的に評価できることが示された。今後さらに、胚の機能性を評価し得る遺伝子の種類を検討することで、より効果的な胚の機能性評価が可能となると思われる。