

組織分化制御因子の遺伝子発現プロファイルに基づく ウシ体外受精胚の機能性向上

岩手大学農学部動物科学科・教授 澤井 健

■ 目的

ウシの体外受精(IVF)胚は受胎率が低く、さらに流死産の発生や胎子(産子)の過大化が問題となっている。我々は、ウシ IVF 胚において OCT-4 や CDX2 など組織分化制御に関わる因子の遺伝子発現動態(遺伝子発現プロファイル)に異常が認められることを明らかにしており、それらの発現異常が、IVF 胚の低い受胎性や産子の過大化に関与している可能性がある。L-アスコルビン酸は、DNA 脱メチル化を促進することで、ES 細胞の遺伝子発現動態を変化させる。ウシ IVF 胚における遺伝子発現異常の原因は明らかではないが、受精後の DNA 脱メチル化が関与している可能性があり、体外発生(IVC)培地への L-アスコルビン酸添加によってウシ IVF 胚の遺伝子発現動態の正常化が期待できる。

本研究は、組織分化制御因子の遺伝子発現プロファイルを評価指標として、ウシ IVF 胚の IVC 培地に添加する因子の種類や濃度を検討し、ウシ IVF 胚の機能性を向上させることを目的とした。具体的には、IVC 培地への L-アスコルビン酸添加が、ウシ IVF 胚の胚盤胞期への発生におよぼす影響を明らかにするとともに、L-アスコルビン酸がウシ IVF 胚の組織分化制御因子の遺伝子発現におよぼす影響について検討した。

■ 方法

ウシ卵巣から卵丘細胞—卵子複合体を採取し、IVMD-101 培地(機能性ペプチド研究所)で体外成熟(IVM)を行った。IVM 後、IVF-100 培地(機能性ペプチド研究所)を用いて媒精を行った。IVC は修正 TALP 培地を用いた。IVF 胚を、L-アスコルビン酸添加(25、50 および 100 μ g/ml)または無添加の IVC 培地に移し、7 日間 IVC を行なった。また、L-アスコルビン酸無添加もしくは 50 μ g/ml 添加の IVC 培地で発生した胚盤胞期胚の *OCT-4*、*CDX2* および *FGF4* の遺伝子発現量解析を RT-リアルタイム PCR 法により行った。

■ 結果および考察

ウシ IVF 胚の胚盤胞期への発生率において、L-アスコルビン酸添加区(34.6-42.0%)と L-アスコルビン酸無添加区(39.3%)の間に差は認められなかった。本研究の結果から、ウシ IVF 胚において IVC 培地への L-アスコルビン酸添加は胚盤胞期への発生を促進しないことが示唆された。

L-アスコルビン酸添加区における *OCT-4*、*CDX2* および *FGF4* の遺伝子発現量は、いずれにおいても L-アスコルビン酸無添加区と比較して差は認められなかった。しかし、個々の胚盤胞期胚における *OCT-4* および *CDX2* の遺伝子発現量においては、L-アスコルビン酸無添加の場合、そのばらつきが大きく、さらに平均値よりも発現量が低い胚が認められたものの、L-アスコルビン酸添加区では発現量のばらつきが少なく、発現量が低い値を示す胚の数は少なかった。ウシ IVF 由来胚や産子において、すべての胚もしくは産子に低い受胎性や過大化が認められるわけではなく、正常に受胎し正常な胎子発育を示す IVF 胚と低い受胎性もしくは過剰な胎子発育を示す IVF 胚が混在する。*OCT-4* や *CDX2* などウシ胚の発生および組織分化を制御する因子の発現量のばらつきが減少することは、IVF 胚の受胎率向上や過大子が誕生する頻度の抑制につながる可能性がある。

■ 結語

本研究の成果により、組織分化制御因子の遺伝子発現動態を評価指標とすることで IVC 培地の改良が可能であることが示されるとともに、IVC 培地への L-アスコルビン酸の添加により IVF 胚からの効率的な子牛生産の可能性が示された。