

-----  
[ 成果情報名 ] 発生培地へのリファンピン添加による牛体外受精胚の生存率向上

[ 要約 ] 体外受精後の発生培地にリファンピンを添加することにより、胚のP糖タンパク質量が増加し、凍結融解後の生存率が向上、移植可能胚数を増やすことができる。

[ キーワード ] 牛、体外受精胚、P糖タンパク質、リファンピン、凍結、生存率

[ 担当部署 ] 家畜部 工学・養豚チーム

[ 連絡先 ] 092-925-5232

[ 対象作目 ] 肉用牛・乳用牛

[ 専門項目 ] 繁殖

[ 成果分類 ] 技術改良  
-----

[ 背景・ねらい ]

牛の体外受精は、体内受精に比べ低コストで胚を生産できる技術であるが、胚の耐凍性が低いため、耐凍性向上につながる培養技術が重要である。近年、異物排出能力など代謝機能を担う生体防御関係膜タンパク質（P糖タンパク質）が豚の生殖細胞に存在し、また、人の体細胞ではリファンピンはP糖タンパク質関連遺伝子の発現を促すことが報告されている。牛胚でも体外培養時にP糖タンパク質量を増やす技術を開発することにより、凍結融解後の生存率向上が期待できる。

そこで、牛卵子・胚におけるP糖タンパク質量の推移を調査するとともに、P糖タンパク質量を強化する培養法について検討し、胚発生や凍結融解後の生存性へ及ぼす効果を明らかにする。

[ 成果の内容・特徴 ]

- 1．牛の卵子から胚盤胞期胚までの発生ステージにおいて、P糖タンパク質の存在を初めて明らかにした（図1）。
- 2．体外受精後の発生培地にリファンピンを10 $\mu$ Mの濃度で添加することにより、胚盤胞期胚のP糖タンパク質量は有意に増加する（図2）。
- 3．リファンピンを10 $\mu$ M含有する培地で発生培養した体外受精胚は、凍結融解後の生存率が向上する（表1）。

[ 成果の活用面・留意点 ]

- 1．体外受精胚を生産・移植する機関において、耐凍性の高い胚を作出する技術として利用できる。
- 2．リファンピンは研究用試薬として販売されており、10 $\mu$ Mの濃度で発生培地へ添加するリファンピンのコストは軽微（約0.01円/胚）である。

[ 具体的データ ]

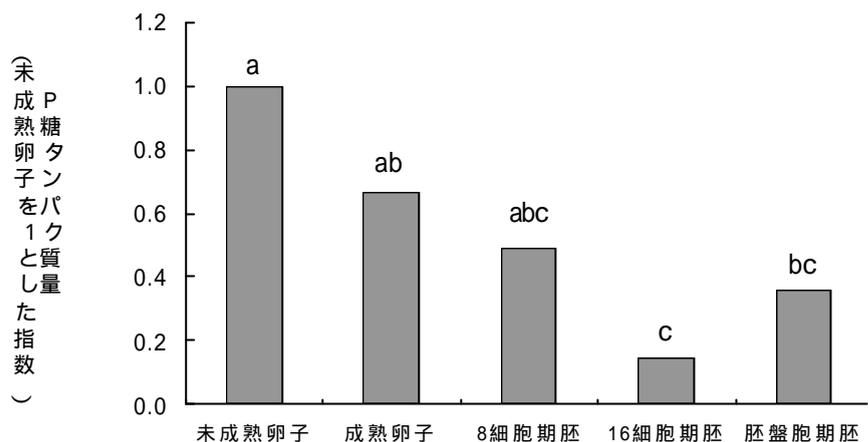


図1 牛卵子・胚におけるP糖タンパク質の推移 (平成19~20年)  
 注) 1. 未成熟卵子(回収直後)、成熟卵子(体外受精前)、8細胞期胚(受精2日目)、16細胞期胚(4日目)、胚盤胞期胚(7日目)  
 2. データは4反復の平均、a,b,c異符号間で有意差あり( $p < 0.05$ , Games Howell法)。

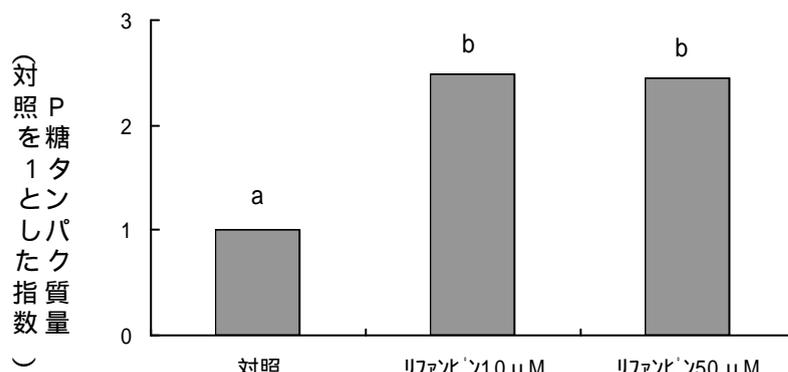


図2 発生培地へのリファンピン添加による胚盤胞期胚のP糖タンパク質量 (平成19~21年)  
 注) 1. 受精2日目より発生培地(10%新生子牛血清加199)へリファンピンを添加して体外培養。  
 2. データは3反復の平均、a,b異符号間で有意差あり( $p < 0.05$ , FisherのPLSD法)。

表1 リファンピンを添加して発生培養した胚の凍結融解後生存率 (平成19~21年)

区	融解後生存数 / 凍結胚数 (%)
リファンピン10μM	73 / 88 (83)*
対 照	65 / 95 (68)

注) 1. 胚の凍結方法：緩慢凍結法、融解48時間後に生存を確認。  
 2. \* : 同一列内で有意差あり ( $p < 0.05$ ,  $\chi^2$ 検定)。

[ その他 ]

研究課題名：卵子・胚におけるP糖タンパク質の発現量を増やす培養技術  
 予算区分：経常  
 研究期間：平成21年度(平成19~21年)  
 研究担当者：森 美幸、笠 正二郎、山口昇一郎、上田修二

