

演題番号：B1

穏やかな低温条件が体外受精由来牛胚盤胞の生存性に及ぼす影響

○石井利通

三重県畜研

1. はじめに：体外受精胚（牛体外胚）は、低温感受性が高く凍結に適さないため、非凍結（新鮮）条件下で輸送し移植されている。一方で、新鮮条件下での牛体外胚の輸送に適した保存温度については、十分な知見が得られていない。そこで、温度ストレスにより誘導され、細胞の生存性を調整する熱ショックタンパク質群に着目し、牛体温（38.5℃）および穏やかな低温（33℃）での培養が牛体外胚の生存性ならびに熱ショックタンパク質群の発現に及ぼす影響を調査した。

2. 材料および方法：体外受精7日目の牛胚盤胞を材料とした。【実験1】38.5℃および33℃で3日間培養した牛胚盤胞の胚直径の変化および透明帯からの孵化状況等を調査した。【実験2】38.5℃および33℃で1日間培養した牛胚盤胞を用い、アポトーシス関連遺伝子のmRNA転写発現量を定量RT-PCRで測定した。【実験3】実験2と同条件の牛胚盤胞を用い、熱ショックタンパク質遺伝子群のmRNA転写発現量を定量RT-PCRで測定した。【実験4】RNA干渉法によるHSP70タンパク質の発現抑制試験を実施した。具体的には、HSP70のsiRNAまたはscrambled siRNAを添加し、38.5℃で培養した牛胚盤胞の胚直径の変化ならびに透明帯からの孵化状況等を調査した。

3. 結果：【実験1】33℃では、38.5℃に比べて牛胚盤胞の拡張の程度は小さく、透明帯からの孵化率も低下した（ $P<0.05$ ）。【実験2】33℃で1日間培養した牛胚盤胞におけるアポトーシス誘導因子であるFOXO3遺伝子のmRNA転写発現量は38.5℃に比べて有意に増加した（ $P<0.05$ ）。【実験3】33℃で1日間培養した牛胚盤胞におけるHSP70遺伝子のmRNA転写発現量は38.5℃に比べて有意に低下した（ $P<0.05$ ）。【実験4】HSP70のsiRNAを添加した牛胚盤胞では、胚直径の拡張の程度が低下し、形態的な変化が抑制された（ $P<0.05$ ）。

4. 考察および結論：33℃で培養された牛胚盤胞は、胚の形態的な変化が抑制される。本現象は、牛体外胚への穏やかな低温の感作によりHSP70の合成が阻害され、アポトーシスが誘導された結果であることが示唆された。以上より、新鮮条件の牛体外胚の輸送温度は、38.5℃が望ましいと考えられた。