
[成果情報名] P糖タンパク質を増強した牛体外受精胚を用いた受胎率向上

[要約] P糖タンパク質量を増強した牛体外受精胚は、凍結融解後の生存性および細胞増殖能が高く、移植後の受胎率が向上する。

[キーワード] 牛、体外受精胚、P糖タンパク質、凍結

[担当部署] 家畜部・家畜繁殖チーム

[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]

市場価値の高い黒毛和種子牛生産のため、酪農家で体外受精胚移植が活用されている。しかし、体外受精胚は凍結後の生存性や受胎率が低いという問題がある。当场では、胚細胞の生体防御や代謝機能を維持するP糖タンパク質を増やすことで、凍結後の胚の生存率が向上することを報告した（平成22年度成果情報）。

そこで、P糖タンパク質を増強した牛体外受精胚の実用化を図るため、現地での移植実証試験を行い、受胎率向上効果について検証する。

[成果の内容・特徴]

1. P糖タンパク質を増強した牛体外受精胚は、凍結融解後の胚生存率および融解後発育の指標である透明帯脱出率が高い。また、凍結融解後の細胞増殖が活発になるため、生細胞数も多くなる（表1）。

2. P糖タンパク質を増強した凍結体外受精胚は、P糖タンパク質を増強していない胚より受胎率が高い。特に、人工授精を3回以上実施して受胎しなかった経産牛（リピートブリーダー牛）において、P糖タンパク質を増強した胚を移植すると高い受胎率が得られる（表2）。

[成果の活用面・留意点]

1. 体外受精胚生産機関において、凍結胚の受胎率を高める技術として活用できる。

[具体的データ]

表1 体外受精胚の凍結融解後の生存率および細胞数（平成22～23年）

区分	P糖タンパク質量	生存率および透明帯脱出率			胚生細胞数	
		供試数	生存率%	脱出率%	供試数	生細胞数
P糖区	1.8	73	88	64	8	155±6
対照	1	82	73	52	8	97±11
統計処理	**		*	*		*

- 注) 1. P糖区:リファンピン10μM+フォルスコリン10μMを発生培地へ添加して0～7日目まで培養。
 2. P糖タンパク質量:対照を1とした相対値。
 3. 凍結融解:プログラムフリーザーによる緩慢凍結、融解後48時間培養した胚の生存率、透明帯脱出率、生細胞数を比較。
 4. 生存:形態が回復した胚、脱出:透明帯を脱出し、脱出胚盤胞へ発育した胚。
 5. 生細胞数:Hoechst33342(全細胞核染色)、Propidium Iodide(死細胞核染色)にて計測、±は標準誤差。
 6. 統計処理:*p<0.05、**p<0.01(生存率、脱出率は χ^2 検定、P糖タンパク質量、生細胞数はt検定)。

表2 P糖タンパク質を増強した凍結体外受精胚の移植成績（平成22～24年）

区分	リポートブリーダー牛		正常牛		合計	
	供試数	受胎率%	供試数	受胎率%	供試数	受胎率%
P糖区	49	57.1	78	55.1	127	55.9
対照	36	30.6	64	50.0	100	43.0

- 注) 1. 当場にて作出した凍結体外受精胚を、筑後川流域農業共済組合が管内酪農家飼養の経産牛へ移植を実施。
 2. リポートブリーダー牛:分娩後人工授精を3回以上実施して受胎しなかった牛。
 3. 正常牛:分娩後の人工授精回数が2回以下の牛。
 4. 1頭当たり凍結体外受精胚をダブル法にて2胚移植。

[その他]

研究課題名:P糖タンパク質を増強した受胎性の高い牛体外受精胚の作出技術
 予算区分:国庫受託(実用技術開発)
 研究期間:平成24年度(平成22～24年度)
 研究担当者:森美幸、家守紹光、磯崎良寛、林武司、小野晴美
 発表論文等:Reproductive Toxicology(平成24年度)、第104、105回日本繁殖生物学会講演要旨(平成23、24年度)