

Studies on improvement of the bovine blastocysts derived in vitro production and enhancement of the ATP-binding cassette sub-family B member 1 expression

平嶋, 美幸

<https://hdl.handle.net/2324/1456012>

出版情報 : 九州大学, 2014, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : やむを得ない事由により本文ファイル非公開 (2)

論文審査の結果の要旨及びその担当者

<p>ふりがな 氏名</p>	<p>ひらしま みゆき 平嶋 美幸</p>
<p>論文審査の結果の要旨</p>	<p>「別紙のとおり」</p>
<p>論文調査委員</p>	<p>主査 九州大学 服部 眞彰 教授 副査 九州大学 田畑 正志 教授 副査 九州大学 山内 伸彦 准教授 副査 九州大学</p>
<p>試験又は学力確認の結果の要旨</p>	<p>本大学院生物資源環境科学府教授会の行った最終試験に合格した。</p>
<p>論文審査学府教授会等の名称と組織</p>	<p>名称 九州大学大学院生物資源環境科学府教授会 組織 委員 55 名</p>
<p>判定方法</p>	<p>大学院生物資源環境科学府教授会における無記名投票による。 出席者 40 名 可票 40 票, 否票 0 票</p>

氏名： 平嶋 美幸 (森 美幸)

論文題名： Studies on improvement of the bovine blastocysts derived in vitro production and enhancement of the ATP-binding cassette sub-family B member 1 expression (牛体外受精由来胚の作出における胚の品質向上と ABCB1 発現に関する研究)

論文審査の結果の要旨

ウシの胚移植は着床前の胚をレシピエントの子宮に移植して受胎させる技術であり、育種改良を加速するだけでなく、現場の酪農家においてもホルスタイン種に市場価値の高い黒毛和種の胚を移植して子ウシを生産する技術としても活用されている。しかし、胚移植を実施するには体外受精で作製した胚を一旦凍結保存するため、凍結による胚の生存率が低下し受胎率が依然として低レベルであることが課題となっている。

本論文では、受胎率向上に結びつく胚の品質改善のために、体外胚から作製された栄養膜小胞と共培養することによる胚盤胞の発生率、ならびにエネルギー依存性 ABC トランスポーターに分類される ABCB1 が過剰発現した胚盤胞の性状を解析し、新規の胚培養技術の開発を試みた。

まず、少数の受精卵を用いた体外胚の作出効率は一般的に低いとされているが、培地にビタミン B 複合体を添加して受精卵を栄養膜小胞と共培養し胚盤胞への発生率を検討した。この培養系では栄養膜小胞の発育が進むに伴って胚盤胞への発生が有意に増加することが認められ、栄養膜小胞との共培養が胚発生に有効に作用することが示唆された。

次いで、細胞の代謝機能や防御機能に関わる膜タンパク質の ABCB1 の発現状態を、相同性の高いヒト ABCB1 の C 末端側のペプチド鎖に対する抗体を用いて免疫組織化学およびウエスタンブロッティングにより解析した。未成熟卵子、成熟卵子および受精後 2 日から胚盤胞までの各発育ステージの胚における発現レベルは異なるものの ABCB1 が細胞膜に検出された。そこで、ABCB1 を過剰発現させるために、このタンパク質をコードする遺伝子の転写開始点から 3000 塩基上流域までの配列をもとに有効物質を推定し効果を検定した。検定した有効物質のうち、フォルスコリン (FSK)、リファンピン (RIF) およびインターフェロン α (IFN α) によって胚盤胞での ABCB1 発現が約 2 倍増加することが確認された。さらに、FSK、RIF および IFN α を培地に添加して作出した胚盤胞では、凍結保存後の生存率および透明帯脱出率が有意に向上することが認められた。また、48 時間までの凍結胚盤胞の培養によって細胞数が有意に増加したことなどを総合すると、ABCB1 が過剰発現するように処理することによって胚盤胞の耐凍性が向上するものと結論された。

最後に、ABCB1 が過剰発現した胚盤胞をホルスタイン種に移植すると、明らかな受胎率の改善が認められた。特に、分娩後 3 回以上授精を試みても受胎しないウシでは、ABCB1 が過剰発現した胚盤胞の移植によって受胎率が有意に向上することが認められた (二胚移植法：対照 30.5%、ABCB1 過剰発現 57.1%)。

以上要するに、本論文はウシ胚の発生率、凍結保存後の生存率および受胎率を改善するために、栄養膜小胞との共培養ならびに ABCB1 の過剰発現によって胚の品質改善がもたらされる新規の胚培養技術を開発したもので、家畜繁殖生理学、特に発生工学および生殖工学の発展に寄与する価値ある業績である。よって、本研究は博士 (農学) の学位に値すると認める。