

[成果情報名]乳用種未經産牛 OPU 由来胚の胚生産効率を高める成熟培養液および発生培養液

[要約]効率的に体外胚を作製するため新たな培養液を開発した。成熟培養液 b0TM-1 は、卵丘細胞の膨化面が増加し媒精後の卵割率が高まり、胚発生効率が向上する。発生培養液 N-1/N-2 は、炎症マーカータンパク質の発生が低く、胚へのダメージが少ない高品質な受精卵が作製できる。乳用種未經産牛 OPU 由来胚では、成熟培養液 b0TM-1 と発生培養液 N-1/N-2 及び KP-1/KP2 により胚生産効率が高まる。

[キーワード]成熟培養液 b0TM-1、発生培養液 N-1/N-2、効率的胚培養、乳用種未經産牛 OPU

[担当]山形県農業総合研究センター畜産研究所・飼養管理部

[代表連絡先]ychikusanken@pref.yamagata.jp

[区分]東北農業試験研究推進推部会（畜産分科会）

[分類]研究成果情報

[背景・ねらい]

乳用種未經産牛における OPU 由来卵子は、黒毛和種繁殖牛（経産牛）に比べて 1 頭当たりの吸引卵子数が少ないことから、1 頭からより多くの高品質な移植可能胚を効率的に作製するために新たな胚培養液を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 新たな成熟培養液 b0TM-1 は、既存成熟培養液 IVM101 と比べて卵子成熟培養（黒毛和種と体卵巣由来・採取後約 22 時間）における卵丘細胞卵複合体（COC）の膨化面積が有意に増加する（表 1）。また IVM101 と比べて乳用種未經産牛 OPU 由来卵子における卵割率が高く、その後の胚培養成績が向上する（表 2）。
2. 新たな発生培養液 N-1/N-2 は、既存発生培養液 IVD101 と比べて胚盤胞の栄養外胚葉細胞数が有意に高く、内部細胞塊（ICM）細胞比が 31.8%となり形態学的に牛体内胚と同等である（表 3）。
3. N-1/N-2 は、IVD101 と比べて小胞体ストレスによる炎症マーカータンパク質（GRP78）の発生が低く、胚へのダメージが少ない高品質な受精卵が作製できる（図 1）。
4. N-1/N-2 及び本研究で開発した発生培養液 KP-D1/KP-D2 は、乳用種未經産牛 OPU 由来胚において、IVD101 に比べて 5 細胞分割率が有意に高く、胚生産効率が高まる（表 4）。

[成果の活用面・留意点]

1. 本研究で開発した培養液（機能性ペプチド研究所：IFP）は、乳用種未經産牛及び黒毛和種由来の未成熟卵子に対し体外発生胚の品質および生産効率が高まる培養液として利用できる。
2. 本成果内容で用いた媒精液は、媒精液 G セット IVF110S (IFP) を利用した。また、各培養液の利用の際は、IFP が示した培養プロトコルを厳守する。
3. 本成果は、IFP 及び山形大学大学院理工学研究科バイオ化学専攻の協力により得られた成果である。

[具体的データ]

表 1 と体卵巣由来卵子（黒毛和種）におけるCOCの膨化面積

成熟培養液	供試卵数	成熟培養前COCの面積 (μm^2)	成熟培養後COCの面積 (μm^2)
bOTM-1	180	79,742 $\pm$ 4,041	324,557 $\pm$ 23,401 ^b
IVMD101	180	79,511 $\pm$ 3,103	249,153 $\pm$ 14,018 ^a

平均値 $\pm$ 標準誤差 異符号間で有意差あり ($p<0.05$)

表 2 OPU 由来卵子（乳用種未経産牛）の培養成績

成熟培養液	供試頭数 (延べ)	供試卵数	卵割率 (%)	5細胞 分割率 (%)	胚盤胞率 (%)
bOTM-1	16	129	80.6	58.1	30.2
IVMD101	16	127	69.3	48.8	21.1

※OPU反復試験を8頭各2回ずつ実施した培養成績

表 3 と体卵巣由来卵子（黒毛和種）における胚盤胞の細胞数計測

発生培養液	供試卵数	細胞数（個）			ICMの細胞数/ 総細胞数（%）
		総細胞数	栄養外胚葉（TE）	内部細胞塊（ICM）	
N-1/N-2	10	229 $\pm$ 6*	157 $\pm$ 8*	73 $\pm$ 6	31.8 $\pm$ 2.5
IVD101	20	185 $\pm$ 11	115 $\pm$ 6	71 $\pm$ 6	37.2 $\pm$ 1.8

※平均値 $\pm$ 標準誤差 * $p<0.05$

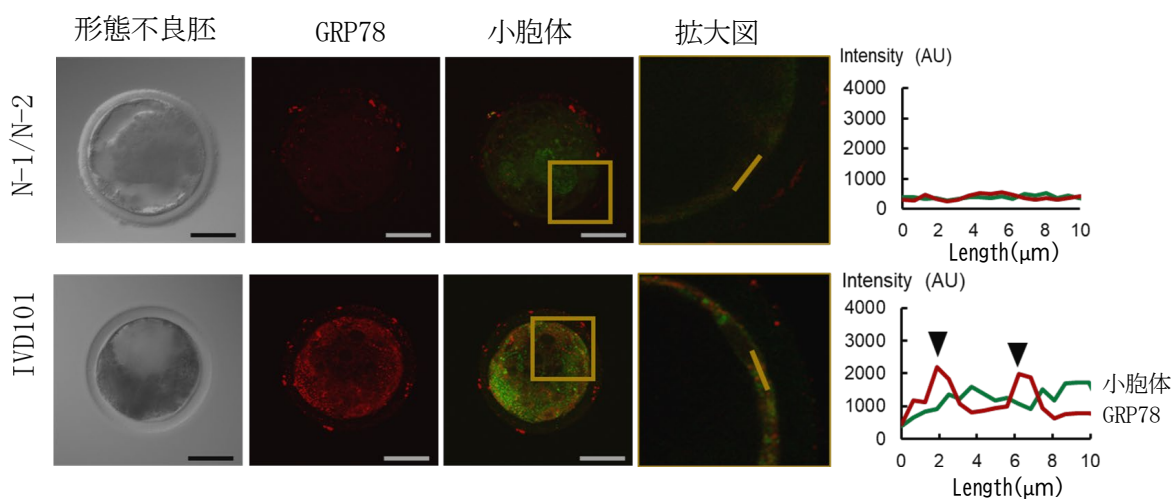


図 1 と体卵巣由来（黒毛和種）形態不良胚の炎症マーカータンパク質（GRP78）の検出

表 4 OPU 由来卵子（乳用種未經産牛）の培養成績

発生培養液	供試頭数 (延べ)	供試卵数	卵割数	卵割率 (%)	5細胞 分割率 (%)	胚盤胞数	胚盤胞数 /供試卵数 (%)	胚盤胞数 /卵割数 (%)
KP-D1/KP-D2	26	285	227	79.6	76.2 ^a	90	31.6 ^a	39.6
N-1/N-2	26	284	225	79.2	68.0 ^a	80	28.2	35.6
IVD101	30	265	193	72.8	50.8 ^b	56	21.1 ^b	29.0

符号間で有意差あり (p<0.05)

(渡部真理安)

[その他]

予算区分：県単

研究期間：2022～2024 年度

研究担当者：渡部真理安（山形県農研セ）、大類日央里（山形県農研セ）、星翼（㈱機能性ペプチド研究所）、阿部宏之（山形大）、星宏良（㈱機能性ペプチド研究所）

発表論文等：第 9 回日本胚移植技術研究会広島県大会講演要旨集シンポジウム「山形県における OPU を活用した遺伝的能力乳用牛の増産」