

[成果情報名]豚体外成熟培養における PMSG 製剤の差異が卵母細胞や胚の品質に与える影響

[要約] 豚体外成熟培養液へ 3 種類の PMSG 製剤を添加し、体外成熟後の卵丘細胞の直径、体外授精後の成熟率、単精子受精率、雄性前核形成率、体外培養後の胚盤胞発生率、胚盤胞の発育ステージ割合、胚盤胞の直径および細胞数を調査すると、ホルモン剤の差異により、受精率や胚盤胞発生率および細胞数が変化する。

[キーワード]豚、体外受精卵、体外成熟、ホルモン剤

[担当]埼玉農総研 養豚・養鶏担当

[代表連絡先]電話 048-536-0440 E-mail : nakamura.yoshiyuki@pref.saitama.lg.jp

[区分]関東東海北陸農業・畜産草地（中小家畜）

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

豚体内受精卵の作製において、供胚豚の過排卵誘起処理で投与するホルモン剤のうち PMSG 製剤の種類やロットにより採卵数が変化する。そこで、豚体外生産胚の体外成熟過程において、培養液に添加した PMSG 製剤の差異が体外成熟率や受精率、胚盤胞発生率や胚の品質に与える影響について調査する。

[成果の内容・特徴]

1. と畜場で採取した卵巣から卵子（1432 個）を採取し実験に用いた。3 種類の PMSG 製剤のうち 1 種類 1000IU と 1 種類の hCG 製剤 1000IU をそれぞれ 0.05% 添加した NCSU-37 を用いて体外成熟培養液（A,B,C）を作製し、同一卵母集団を 3 区に分け、ホルモン添加培養液で 20 時間、ホルモン無添加培養液で 24 時間、体外成熟培養（39℃、5%O₂、5%CO₂、90%N₂ 気相下）を行った。その後、体外授精（媒精 3 時間、カフェイン 3mM）、体外培養を 6 日間行い、体外生産胚を 6 回作製した。
2. 体外成熟 20 時間後に、マイクロメーターを用いて卵丘細胞卵子複合体の直径（縦×横の平均値）を調査すると、ホルモン剤の差異による有意な差は認められない（表 1）。
3. 体外授精後 7 時間後に受精卵を固定し、アセトオルセインで染色したのち、成熟率、雄性前核形成率、単精子受精率を調査すると、成熟率および単精子受精率に差は無いが、雄性前核形成率は C が最も高く、A が最も低い（図 1）。
4. 胚盤胞発生率においては、A が最も高く、B が最も低く有意な差が認められるが、胚の直径に差は無い。（表 2）。また、拡張胚盤胞の細胞数において、C が最も高く、B が最も低い（図 2）。
5. 豚体外生産胚の作製において、体外成熟時のホルモン剤の差異が、受精率や胚盤胞発生率、胚の品質に影響を与える。

[成果の活用面・留意点]

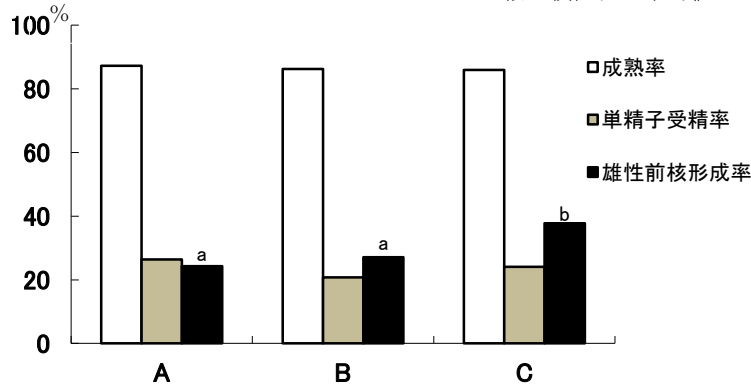
1. 豚体外生産胚の胚盤胞発生率を向上させる為には、体外成熟用培養液に用いるホルモン剤の種類や、ロットに留意する必要がある。
2. 極体放出による成熟率の判定や卵丘細胞卵子複合体の直径において、ホルモン剤による差異が認められなかったことから、成熟率および卵丘細胞卵子複合体の直径を用いてホルモン剤の良否を判定することは難しいものと思われる。
3. 体外成熟時に用いるホルモン剤を変えることで、体外生産胚の発生率や品質を向上させることが可能であるものと思われる。

[具体的データ]

表1 卵丘細胞卵子複合体の直径 (μm)

成熟培養液	A	B	C
卵丘細胞直径	357	321	349

縦・横直径の平均値



異符号間に有意差あり $p < 0.05$

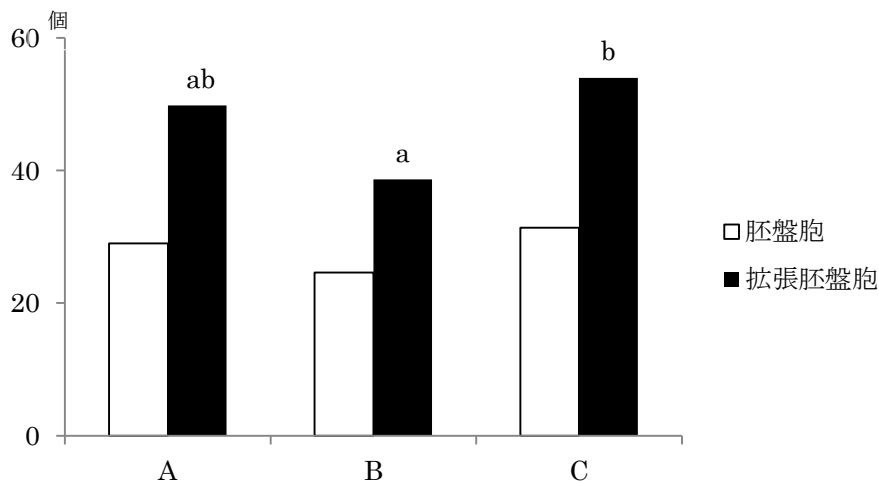
図1 成熟率と受精率

表2 胚盤胞発生率と胚盤胞のステージ割合および胚の直径

成熟培養液	胚盤胞発生率(%)	胚盤胞割合※ (%)	拡張胚盤胞割合※ (%)	胚盤胞直径 (μm)	拡張胚盤胞直径 (μm)
A	20.8 ^a	56.8	43.2 ^a	164.7	193.8
B	16.7 ^b	55.3	44.7 ^a	158.9	187.1
C	17.2 ^{ab}	50.0	50.0 ^b	159.8	194.3

縦列異符号間に有意差あり $p < 0.05$

※胚盤胞の直径が $180\mu\text{m}$ 以上で透明体が薄いものを拡張胚盤胞として分類した。



異符号間に有意差あり $p < 0.05$

図2 胚盤胞および拡張胚盤胞の細胞数

[その他]

研究課題名：先端繁殖技術を用いた英国産ブランド黒豚増殖方法の開発

予算区分： 県単

研究期間：2009～2012 年度

研究担当者：中村嘉之