

|      |         |
|------|---------|
| 通し番号 | 4 4 5 8 |
|------|---------|

|      |             |
|------|-------------|
| 分類番号 | 21-57-22-07 |
|------|-------------|

|  |
|--|
| (成果情報名) 血清、BSA不含発生培地にグルコースを媒精後6日目に添加することで胚盤胞発生率が高まる  |
| [要約] と畜場卵巣から採取した卵子を用い、血清、BSA不含発生培地にEGF (100ng/ml) 及びIGF-I (50ng/ml) を添加 (SOFaa-PEI) した培地にグルコースを、媒精後6日目から4.0mM添加すると胚盤胞発生率が高まる。また、SOFaa-PEIにトランスフェリン、セレン、グルコースを添加すると5%牛胎子血清添加区と同等の発生成績となる。 |
| (実施機関・部名) 神奈川県農業技術センター畜産技術所・畜産工学担当<br>連絡先 046-238-4056   |

#### [背景・ねらい]

より安定した胚生産を行うためには、血清を含まない化学的組成の明らかな培地での培養が望ましいが、化学的組成の明らかな培地は、血清添加培地に比べて胚盤胞発生率が低い。そこで、血清を用いない化学的組成の明らかな培地 (SOFaa-PVA) に成長因子 (EGF、IGF-I) を加えたものを基礎培地として、グルコース、トランスフェリン及びセレン (TS)、システアミンを添加し、牛体外生産胚の発生成績への効果を検討する。

#### [成果の内容・特徴]

- 1 と畜場卵巣から採取した卵子を用い、SOFaa-PVAにEGF (100ng/ml) 及びIGF-I (50ng/ml) を添加 (SOFaa-PEI) し、媒精後0日目からグルコースを1.5mM、3日目から1.5mM、3日目から4.0mM、6日目から4.0mM (Day6+Glu4mM) 添加すると、媒精後8日目の胚盤胞発生率はDay6+Glu4区で高まる (表1)。
- 2 SOFaa-PEIに、システアミンを濃度を変えて(0, 1, 10, 50, 100  $\mu$  M) 添加しても効果は認められない (表2)。
- 3 SOFaa-PEIにTSを添加した区、TS及びDay6+Glu4mMを添加した区、Day6+Glu4mM添加区と5%牛胎子血清添加 (FBS) 区を比較したところ、TS及びDay6+Glu4mM添加区、Day6+Glu4mM添加区でFBS区と同等の発生成績となる (表3)。
- 4 3の処理を経膣採卵由来卵子に対して行ったところ、5%FBS区が最も高い胚盤胞発生率である (表4)。

#### [成果の活用面・留意点]

- 1 成長因子を保存する場合は成長因子低吸着性の容器を使用する。

[具体的データ]

表1 SOFaa-PEIへのグルコース添加時期が発生成績に及ぼす効果

| 試験区              | 供試回数<br>(供試卵数) | 分割率<br>(%) | 桑実胚率(%) |       | 胚盤胞発生率(%) |       |  |
|------------------|----------------|------------|---------|-------|-----------|-------|--|
|                  |                |            | Day5    | Day6* | Day7*     | Day8* |  |
| SOFaa-PEI区       | 1(20)          | 38.1       | 23.8    | 0.0   | 9.5       | 14.3  |  |
| Day0+Glu1.5mM添加区 | 1(20)          | 40.0       | 20.0    | 0.0   | 0.0       | 15.0  |  |
| Day3+Glu1.5mM添加区 | 1(20)          | 40.0       | 30.0    | 0.0   | 20.0      | 30.0  |  |
| Day3+Glu4mM添加区   | 1(20)          | 55.0       | 25.0    | 0.0   | 0.0       | 20.0  |  |
| Day6+Glu4mM添加区   | 2(40)          | 72.5       | 35.0    | 2.5   | 20.0      | 35.0  |  |

表2 SOFaa-PEIへのシステアミン添加が発生成績に及ぼす効果

| 試験区                   | 供試回数<br>(供試卵数) | 分割率<br>(%) | 桑実胚率(%) |      | 胚盤胞発生率(%) |      |  |
|-----------------------|----------------|------------|---------|------|-----------|------|--|
|                       |                |            | Day5    | Day6 | Day7      | Day8 |  |
| SOFaa-PEI区            | 5 (93)         | 65.8       | 30.0    | 4.4  | 9.7       | 20.2 |  |
| システアミン 1 $\mu$ M添加区   | 5 (92)         | 73.0       | 34.5    | 4.7  | 14.3      | 23.2 |  |
| システアミン 10 $\mu$ M添加区  | 5 (92)         | 58.7       | 32.0    | 1.1  | 17.3      | 22.9 |  |
| システアミン 50 $\mu$ M添加区  | 5 (96)         | 72.2       | 33.9    | 2.1  | 16.5      | 19.6 |  |
| システアミン 100 $\mu$ M添加区 | 5 (99)         | 73.4       | 27.3    | 6.4  | 15.5      | 27.3 |  |

表3 SOFaa-PEIへのトランスフェリン、セレン、グルコース添加が発生成績に及ぼす効果

| 試験区                | 供試回数<br>(供試卵数) | 分割率<br>(%) | 桑実胚率(%) |      | 胚盤胞発生率(%) |      |  |
|--------------------|----------------|------------|---------|------|-----------|------|--|
|                    |                |            | Day5    | Day6 | Day7      | Day8 |  |
| SOFaa-PEI区         | 2(40)          | 72.5       | 30.0    | 2.5  | 12.5      | 25.0 |  |
| TS添加区              | 2(41)          | 72.5       | 25.0    | 0.0  | 12.5      | 25.0 |  |
| TS及びDay6+Glu4mM添加区 | 2(40)          | 83.1       | 34.3    | 0.0  | 24.4      | 44.1 |  |
| Day6+Glu4mM添加区     | 2(40)          | 72.5       | 35.0    | 2.5  | 20.0      | 35.0 |  |
| 5%FBS添加区           | 2(39)          | 65.0       | 22.5    | 22.5 | 40.0      | 40.0 |  |

表4 SOFaa-PEIへのトランスフェリン、セレン、グルコース添加がOPU卵子の発生成績に及ぼす効果

| 試験区            | 供試回数<br>(供試卵数) | 分割率<br>(%) | 桑実胚率(%) |      | 胚盤胞発生率(%) |      |  |
|----------------|----------------|------------|---------|------|-----------|------|--|
|                |                |            | Day5    | Day6 | Day7      | Day8 |  |
| SOFaa-PEI区     | 2 (15)         | 52.8       | 29.2    | 0.0  | 0.0       | 0.0  |  |
| Day6+Glu4mM添加区 | 6 (71)         | 44.7       | 20.2    | 0.0  | 5.6       | 5.6  |  |
| TS添加区          | 3 (20)         | 76.8       | 15.2    | 0.0  | 0.0       | 6.1  |  |
| 5%FBS添加区       | 7 (85)         | 39.1       | 19.3    | 0.0  | 15.8      | 21.6 |  |

[資料名] 平成21年度試験研究成績書

[研究課題名] 胚移植を活用した優良牛の造成

[研究期間] 平成19～22年度

[研究者担当名] 坂上信忠・秋山清