

通し番号	4398
------	------

分類番号	20-57-22-06
------	-------------

(成果情報名) 血清、BSA不含発生培地にIGF-I, EGFを同時に添加することで発生率が高まる
[要約] 血清、BSA不含発生培地 (SOFaa-PVA)を基礎培地として上皮成長因子(EGF)、インスリン様成長因子-I (IGF-I)及びフルクトースを添加し、牛体外生産胚の発生成績への効果を検討した。試験1では、SOFaa-PVAにEGF (100ng/ml) 及びIGF-I (50ng/ml) を単独または混合添加した区と無添加区、0.3%牛血清アルブミン添加区を比較した。試験2では、EGF (100ng/ml) 、IGF-I (50ng/ml) 混合添加培地へフルクトース濃度を変えて(1.5, 2.5, 3.5, 4.5mM) 発生培養を行った。試験1では、EGF, IGF-Iを混合添加した区は、無添加区と比較して有意に胚盤胞発生率が高まり、牛血清アルブミン添加区と同等の発生率であった。試験2では、フルクトース添加による胚盤胞発生率の差は認められず、細胞数、呼吸量も差は認められなかった。
(実施機関・部名) 神奈川県畜産技術センター 畜産工学部 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、血清を用い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)を基礎培地として、成長因子(EGF、IGF-I)を単独または混合添加し、牛体外生産胚の発生に及ぼす効果について検討した。さらに混合添加培地にフルクトースを添加し、発生成績に与える効果を検討した。

[成果の内容・特徴]

- 1 SOFaa-PVAにEGF (100ng/ml) 及びIGF-I (50ng/ml) を単独または混合添加した区と無添加区、0.3%牛血清アルブミン添加区を比較したところ、EGF及びIGF-Iを混合添加した区は、無添加区と比較して有意に胚盤胞発生率が高まり、牛血清アルブミン添加区と同等の発生率であった(表1)。
- 2 EGF (100ng/ml) 、IGF-I (50ng/ml) 混合添加培地へフルクトース(1.5, 2.5, 3.5, 4.5mM) を添加し、媒精後から8日目まで発生培養を行ったところ、フルクトース濃度による胚盤胞発生率の差は認められず、細胞数、呼吸量も濃度による差は認められなかった(表2, 3)。

[成果の活用面・留意点]

特になし

[具体的データ]

表1 発生培地へのEGF,IGF-Iの添加が発生成績に及ぼす効果

	供試回数 (供試卵数)	分割率 (%)	桑実胚率(%) Day5	胚盤胞発生率(%)			
				Day6	Day7	Day8	
0添加区(無添加区)	2(40)	85.0	22.5	0.0	0.0	a	10.0
EGF100ng/ml添加区	2(40)	87.5	15.0	0.0	10.0	abc	20.0
IGF-I 50ng/ml添加区	2(40)	88.0	22.0	0.0	14.5	abc	35.5
IGF-I 50ng/ml, EGF100ng/ml添加	2(40)	85.0	22.5	0.0	20.0	bc	32.5
0.3%BSA添加区(SOFaa)	2(40)	80.0	22.5	5.0	27.5	c	37.5

異符号間に有意差有り(P<0.05)

検定は、コンピューターソフトSPSSを用い、分散分析後にFisherのPLSDにより多重検定を行い分析した。
なお、各率については角変換した後に検定に供した。

表2 EGF,IGF-I添加発生培地へのフルクトース添加が発生成績に及ぼす効果

	供試回数 (供試卵数)	分割率 (%)	胚盤胞発生率(%)		
			Day6	Day7	Day8
フルクトース無添加区	5(101)	74.2	7.0	8.9	12.8
フルクトース1.5mM区	5(101)	73.1	8.2	8.0	21.0
フルクトース2.5mM区	5(100)	79.0	10.0	11.0	16.0
フルクトース3.5mM区	5(100)	73.3	6.1	8.2	19.3
フルクトース4.5mM区	5(100)	72.7	9.1	14.0	20.1

検定は、コンピューターソフトSPSSを用い、分散分析後にFisherのPLSDにより多重検定を行い分析した。
なお、各率については角変換した後に検定に供した。

表3 EGF,IGF-I添加発生培地へのフルクトース添加が胚の直径、呼吸量や細胞数に及ぼす効果

	供試胚数	胚直径 (μm)	呼吸量 ($\times 10^{14}/\text{mol s}^{-1}$)	細胞数		
				総細胞数	内細胞塊	栄養外胚葉
フルクトース無添加区	5	160.6 ^a	1.09	90.0	28.4	61.6
フルクトース1.5mM区	7	183.6 ^{ab}	1.04	110.4	21.3	89.1
フルクトース2.5mM区	4	188.8 ^{ab}	0.92	113.8	27.0	86.8
フルクトース3.5mM区	7	194.3 ^{ab}	1.23	114.1	32.7	81.4
フルクトース4.5mM区	10	197.0 ^b	1.26	105.1	28.6	76.5

検定は、コンピューターソフトSPSSを用い、分散分析後にFisherのPLSDにより多重検定を行い分析した。

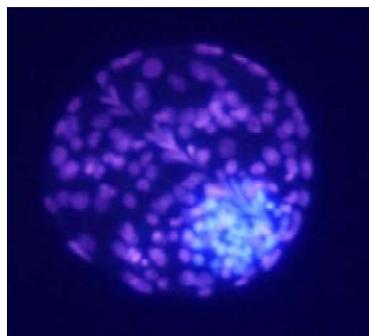


図1 胚盤胞の二重染色

- [資料名] 平成20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19～21年度
 [研究者担当名] 坂上信忠、秋山清