

通し番号	記入不要
------	------

分類番号	28-5C-21-29
------	-------------

体外成熟培養の初期にMAPK阻害剤を添加すると胚盤胞発生率が向上する

[要約] 分裂促進因子活性化蛋白質リン酸化酵素 (MAPK) 阻害剤 (U0126) を成熟培養の最初の2時間に市販成熟培養液 (IVMD101) に添加して発生成績に与える影響を検討する。市販の成熟培養液には、卵子成熟を促す成長因子TGF- α が含まれているため、これを除いたTGF- α 無添加IVMD101にU0126 (DMSOを溶媒をとって最終濃度を5 μ M) を添加した添加1区、通常のIVMD101にU0126を添加した添加2区、溶媒だけを添加した対照区で発生成績を比較すると、添加2区の桑実胚率、胚盤胞発生率が対照区と比較して有意に高い。

畜産技術センター・企画指導部・企画研究課

連絡先 046-238-4056

[背景・ねらい]

卵子の減数分裂再開は、LH サージ後に分裂促進因子活性化タンパク質リン酸化酵素 (MAPK) を介してギャップ結合が崩壊し、卵子内の cAMP 濃度が低下しておこる。しかし、体外成熟では、培養液に添加される EGF 等の成長因子が MAPK を活性化し、ギャップ結合が早く崩壊してしまい、細胞質成熟が不十分のまま、減数分裂が再開される。そのため、体外成熟卵子は、体内成熟卵子と比較して胚盤胞発生率が低いと考えられる。そこで、経膈採卵技術による体外生産胚の実用的な生産技術を開発するために、体外成熟卵子に MAPK 阻害剤を培養初期の2時間に添加し、胚盤胞発生率や産子に対する効果を検討する。

[成果の内容・特徴]

- 1 黒毛和種経産牛2頭を繰り返し供試し、任意の発情時期に OPU で卵子を回収し、分裂促進因子活性化蛋白質リン酸化酵素 (MAPK) 阻害剤 (U0126) を成熟培養の最初の2時間に市販成熟培養液 (IVMD101、機能性ペプチド研究所) に添加して培養し、体外受精 (IVF100、福安照使用)、体外培養 (~day5 SOFaa-PVA+EGF+IGF-I, day6~Glucose4 mM 添加) して胚盤胞を作出する。
- 2 市販の成熟培養液には、卵子成熟を促す成長因子 TGF- α が含まれているため、これを除いた TGF- α 無添加 IVMD101 に U0126 (DMSO を溶媒をとって最終濃度を 5 μ M) を添加した添加1区、通常の IVMD101 に U0126 を添加した添加2区、溶媒だけを添加した対照区で分割率、発生率を比較する。
- 4 対照区と比較して、添加2区の桑実胚率、胚盤胞発生率が有意に高い (表1)。
- 5 移植試験では、いずれの区の胚も受胎し、添加1区の受胎率は 33.3% (1/3頭)、添加2区は 50.0% (1/2頭) で対照区は 50.0% (1/2頭) で、添加1区、2区ともに正常産子が得られる (図2)。

[成果の活用面・留意点]

1 特になし。

[具体的データ]

表1 U0126を添加した成熟培地でOPU由来卵子を培養した場合の発生成績(個)

区	TGF- α	U0126	試験回数	卵子数	分割卵子数	分割率 (%)	桑実胚数	桑実胚率 (%)	胚盤胞数	発生率 (%)
対照区	+	-	6	12.2	7.0	54.7	3.0	22.5 ^a	2.2	19.6 ^a
添加1区	-	+	5	13.8	8.2	61.5	3.6	25.0 ^{ab}	3.0	21.9 ^{ab}
添加2区	+	+	5	17.2	7.4	61.0	5.6	49.7 ^b	4.2	41.4 ^b

^{a,b}: 異符号間に有意差あり

表2 前培養時における U0126 の添加によりできた胚の移植成績

区	胚処理別	移植頭数	受胎頭数	不受胎頭数	受胎率 (%)
対照区	新鮮胚	2	1 [†]	1	50.0
添加1区	新鮮胚	3	1	2	33.3
添加2区	凍結胚	2	1	1	50.0

[†]: 妊娠 97 日後に流産

[資料名] 平成28年度試験研究成績書

[研究課題名] 経膈採卵を利用した効率的な肉用繁殖牛生産技術の開発

[研究内容名] 未成熟卵子の体外成熟培養方法の検討

[研究期間] 平成 27~28 年度

[研究者担当名] 坂上信忠、山本和明、橋村慎二、折原健太郎