

通し番号	4887
------	------

分類番号	29-5C-21-14
------	-------------

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	
<p>[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) を市販成熟培養液 (IVMD101) に添加した培地で最初の2時間培養後、IVMD101に移して22時間成熟培養し、体外受精、体外培養を行い発生成績に与える影響を検討する。IVMD101にU0126 (DMSOを溶媒として最終濃度5<math>\mu</math>M) を添加した試験区と、通常のIVMD101に溶媒だけを添加した対照区で培養し、その後の発生成績を比較したところ、試験区の桑実胚率 (46.7%)、胚盤胞発生率 (41.6%) が、対照区 (それぞれ24.0%、21.8%) と比較して有意に高かった。また、移植試験における受胎率では、試験区は60.0% (6/10頭) で対照区は50.0% (1/2頭) であった。対照区と試験区で1頭ずつ流産が確認されたが、試験区で正常産子が得られた。</p>	
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、MAPK 阻害剤を添加した培地で2時間培養後、通常の成熟培地に移して発生成績に与える影響を検討する。

[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 CIDR を挿入後、FSH20AU を 50ml の生理食塩水に溶解して皮下に1回投与し、72時間後に OPU を行い卵子を採取し、試験区は、分裂促進因子活性化蛋白質リン酸化酵素 (MAPK) 阻害剤 (U0126) を添加した市販成熟培養液 (IVMD101、機能性ペプチド研究所) で最初の2時間培養を行い、通常の成熟培地 (IVMD101) に移して22時間成熟培養を行う。対照区は、通常の IVMD101 に溶媒だけを添加して、最初の2時間培養を行い、通常の IVMD101 に移して22時間成熟培養を行う。
- 2 その後、体外受精 (IVF100、福安照使用)、体外培養 (~day5 SOFaa-PVA+EGF+IGF-I, day6~Glucose4mM 添加) を行い胚盤胞を作出すると、試験区の桑実胚率 (46.7%)、胚盤胞発生率 (41.6%) が、対照区 (それぞれ 24.0%、21.8%) と比較して有意に高い (表1)。
- 3 培養試験で発生した胚盤胞の一部を移植すると、いずれの区の胚も受胎し、試験区は 60.0% (6/10頭) で対照区は 50.0% (1/2頭) である。対照区と試験区で1頭ずつ流産したが、試験区で産子が得られる (図2)。

[成果の活用面・留意点]

1 特になし。

[具体的データ]

表1 培養成績

区	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 (%)
試験区	8	10.9	7.5	65.8	5.1	46.7*	4.3	41.6*
対照区	8	10.8	6.9	56.2	3.0	24.0	2.4	21.8

\* : 対照区と比較して有意差有り (P<0.05)

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	胚種別	移植頭数	受胎頭数	不受胎頭数	流産頭数	受胎率 (%)
対照区	新鮮胚	2	1	1	1	50.0
試験区	新鮮胚	8	5	3	1	62.5
〃	凍結胚	2	1	1	0	50.0



図2 試験区で生まれた産子

[資料名]

平成29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 28～30 年度

[研究者担当名]

坂上信忠、山本和明、折原健太郎、  
(大阪府立大学)