

## 平成25年度 成績概要書

課題コード（研究区分）： 3101-214611 （経常研究）

### 1. 研究課題名と成果の要点

- 1) 研究成果名：低ランク胚移植における単為発生胚の共移植による妊娠認識増強効果  
（研究課題名：低ランク牛新鮮胚受胎率向上技術の開発）
- 2) キーワード：受精卵移植、低ランク胚、単為発生胚、インターフェロン・タウ
- 3) 成果の要約：単為発生胚の共移植によるインターフェロン・タウ（IFNT）補給は、受胎牛の妊娠認識を増強し、低ランク体内受精胚の胎齢40日の受胎率が向上したが、胎齢40日以降の流産が増加した。このことから、新たな IFNT 補給方法の検討により、低ランク胚の移植による子牛生産効率の向上が可能であることが示唆された。

### 2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：畜試・基盤研究部・畜産工学 G・平山博樹、家畜研究部・肉牛 G
- 2) 共同研究機関（協力機関）：

### 3. 研究期間：平成21～24年度 （2009～2012年度）

### 4. 研究概要

#### 1) 研究の背景

過剰排卵処理牛から回収される胚の30%前後は細胞数が少ないCランク胚（低ランク胚）であり、細胞数の多いAおよびBランク胚に比較して受胎率が低い。低ランク胚の受胎率を向上させることができれば、優良な遺伝資源を無駄にすることなく、乳牛や肉牛を効率的に改良増殖することができる。低ランク胚の受胎率が低い原因のひとつとして、胚齢14～20日頃の伸長期胚が分泌する妊娠認識誘導物質［インターフェロン・タウ（IFNT）］の不足が考えられている。したがって、不足しているIFNTを補給すれば、低ランク胚の受胎率が向上する可能性がある。

#### 2) 研究の目的

単為発生胚のIFNT生産能と妊娠認識誘導効果を解析し、単為発生胚の共移植によるIFNTの補給が低ランク体内受精胚の受胎率に及ぼす効果を明らかにする。

### 5. 研究内容

#### 1) 単為発生胚のIFNT生産能

- ・ねらい：IFNTの補給源としての単為発生胚の有用性を明らかにする。
- ・試験項目等：新鮮単為発生胚10個あるいはAランク新鮮体内受精胚1～5個を子宮に移植した後に子宮灌流によって伸長期胚を回収し、灌流液中のIFNT量を測定した。

#### 2) 単為発生胚の移植による妊娠認識誘導効果

- ・ねらい：単為発生胚の移植による妊娠認識誘導効果を明らかにする。
- ・試験項目等：新鮮単為発生胚1あるいは3個を移植し、血漿プロゲステロン濃度および末梢血顆粒球におけるInterferon stimulated gene 15（ISG15）mRNA発現量を単為発生胚を移植しない対照と比較した。

#### 3) 低ランク体内受精胚と単為発生胚の共移植試験

- ・ねらい：単為発生胚の共移植が低ランク体内受精胚の受胎率に及ぼす効果を検討する。
- ・試験項目等：新鮮体内受精胚1個の移植時に新鮮単為発生胚3個を黄体側あるいは非黄体側子宮角に共移植し受胎率を調査した。

### 6. 成果概要

- 1) 移植後の単為発生胚は子宮内で成長し、子宮灌流により胚齢16～20日の伸長期胚が回収された。単為発生胚10個を移植した場合、胚齢16～20日の受胎牛の子宮内IFNT蛋白量は、Aランク体内受精胚1個あたりと同程度あるいはそれ以上の量であった（図1）。これらから、単為発生胚の移植により、妊娠認識の誘導が必要な時期に子宮内にIFNTを供給できることが明らかとなった。
- 2) 単為発生胚を移植した受胎牛では、胚齢20日における血漿プロゲステロン濃度の低下が抑制された（図2）。単為発生胚3個を移植した受胎牛では、移植をしない対照に比較して血漿プロゲステロン濃度の低下が有意に抑制され、末梢血顆粒球のISG15 mRNA発現量が有意に増加した（図3）。これらから、単為発生胚3個の移植により受胎牛の妊娠認識が誘導され、体内受精胚が存在しなくても黄体退行が抑制されることが明らかとなった。
- 3) Bランク体内受精胚の移植による胎齢40日の受胎率は50～56%であり、単為発生胚の共移植は受胎率に影響しなかった（表1）。Cランク体内受精胚の移植による胎齢40日の受胎率は35%であった。これに対し、単為発生胚の黄体側子宮角への共移植による胎齢40日の受胎率は65%であり、有意に向上した。しかし、単為発生胚の共移植では、胎齢40日の受胎確認後における流産の発生割合が高く、胎齢90日では共移植による受胎率の向上は認められなかった。単為発生胚を非黄体側の子宮角に移植した場合も、受胎率は胎齢40日の45%から胎齢90日の18%に低下し、同様に流産の発生割合が高かった（データ省略）。これらから、IFNTの補給により受胎牛の妊娠認識が増強され、低ランク胚の胎齢40日の受胎率が向上することが明らかとなった。しかし、IFNTの補給のために単為発生胚を利用した場合は胎齢40～90日の間の流産が増加し、子牛の生産効率は向上しなかった。

## <具体的データ>

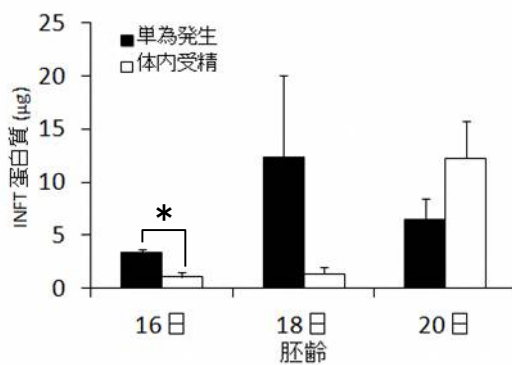


図1 単為発生胚の IFNT 生産能

\* 単為発生と体内受精の間に有意差あり ( $p < 0.05$ )

単為発生胚は 10 個あたり、体内受精胚は 1 個あたりの子宮内蛋白量を示す。

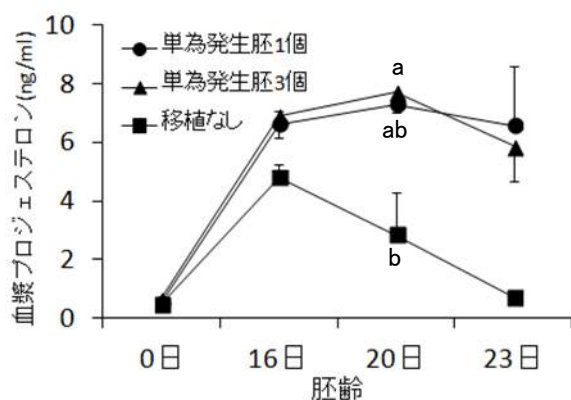


図2 単為発生胚を移植した受胎牛の血漿プロゲステロン濃度

ab 異文字間に有意差あり ( $p < 0.05$ )

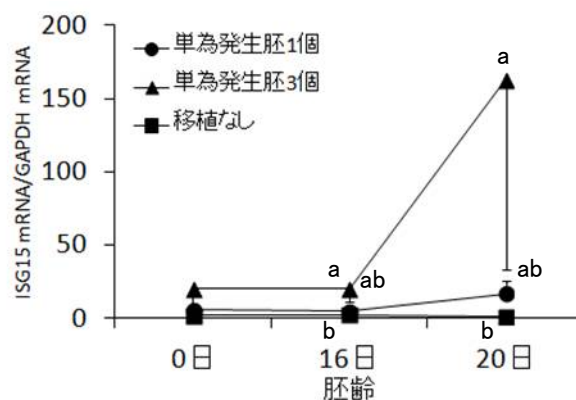


図3 単為発生胚を移植した受胎牛の末梢血顆粒球における ISG15<sup>\*</sup> mRNA 発現量

ab 異文字間に有意差あり ( $p < 0.05$ )

\* IFNT の刺激により発現が増加する遺伝子

表1 体内受精胚と単為発生胚の共移植による受胎率

| 移植体内受精胚<br>ランク | 単為発生胚<br>共移植 <sup>1)</sup> | 移植頭数 | 受胎頭数 (%)             |         |
|----------------|----------------------------|------|----------------------|---------|
|                |                            |      | 胎齢 40 日              | 胎齢 90 日 |
| B              | なし                         | 25   | 14 (56)              | 13 (52) |
|                | あり                         | 20   | 10 (50)              | 7 (35)  |
| C              | なし                         | 26   | 9 (35) <sup>a</sup>  | 8 (31)  |
|                | あり                         | 23   | 15 (65) <sup>b</sup> | 8 (35)  |

1) 単為発生胚 3 個を黄体側子宮角に移植

ab 異文字間に有意差あり ( $p < 0.05$ )

## 7. 成果の活用策

### 1) 成果の活用面と留意点

低ランク胚移植の受胎率向上技術を開発するために妊娠認識誘導物質の投与方法を検討する際の参考とする。

### 2) 残された問題とその対応

なし

## 8. 研究成果の発表等

日本畜産学会 112 回大会 (平成 22 年)、第 105 回日本繁殖生物学会大会 (平成 24 年)