

## 先端技術動向

### 第116回日本繁殖生物学会に参加して

開催日：令和5年9月25～27日

参加方法：現地会場開催に参加

参加報告者：家畜バイオテクセンター

済木 京

#### 1. はじめに

本学会は主に家畜動物の繁殖生物学から繁殖の基礎、メカニズムとその臨床的応用とヒトの生殖・臨床医療への応用までを取り扱う発表が行われた。各セッションテーマは精巣・精子、受精・発生、内分泌、生殖工学、臨床・応用技術と広範囲に及んでいた。

#### 2. 概要

・ウシ黄体における抗ミュラー管ホルモン量と発情周期の関係（東農大院生物産業学 水野 琉瑠）

ヒト AMH 前駆体 (proAMH) はプロテアーゼによって AMHN、AMHM および AMHC に切断された後、非共有結合によりアイソフォーム (AMHN、C および AMHM、C) を形成して安定化される。本発表はウシ黄体における AMH の機能解明を目的に、発情周期の黄体における AMH 量の変化を解析した結果が報告された。AMHN 量は発情周期による差がなく、AMHM 量は初期に比較して中期で有意に増加した。AMHC 量は、形成期に比較して中期、後期および退行期において有意に増加した。また AMHC 量は、AMHN 量に比較して AMHM 量と強く相関した。加えて、AMHC は発情周期

を通して黄体細胞に局在した。これらから中期から退行期黄体における AMHC の増加より、AMH シグナルが黄体細胞の機能制御に関与することが示唆された。また、AMH ペプチド量間の相関より、ウシ黄体における AMHM、C アイソフォームの形成が示唆された。

・高品質受精卵選別法の確立に向けたバイオマーカー候補の探索（近大生物理工 井上 明裕）

胚の質に関与する要因として、受精卵に蓄積される母性因子が考えられている。受精卵は初期発生の一定期間、成熟卵にあらかじめ蓄積された母性転写産物などの母性因子によって進行するが、母性転写産物の発現量と胚発生との関係を明らかにした研究はほとんどない。またマウス第二極体と受精卵の全 mRNA の相同性は高く、母性転写産物の検出に第二極体を使用できることが判明したことから、本発表では正常発生胚由来極体 (GoodPB) と発生停止胚由来極体 (BadPB) を用いて RNA-seq を行い、GoodPB と BadPB において差次的発現を示す遺伝子 200 個を検出された。これらの遺伝子の内、発現量が胚の発生能と最も相関の高いバイオマーカー候補を同定し、当該バイオマー

カーを使用した胚発生予測手法の開発を目指す」と報告された。加えて、極体サンプルを用いた qPCR では cDNA 増幅をすることによって極体内母性転写物の検出率を上げるこ

とに成功し、胚発生予測に用いることができる候補因子をいくつか同定した。

報告日：令和 5 年 10 月 3 日

参加報告者：家畜改良技術研究所  
開発技術部 佐々木 拓也

## 2. 概要

・多糖ゲル基質は TGFβ1 を介して卵子体外成熟を促進し、胚の脱メチル化と発生を改善する（東農大院動物科学 原 駿介）

体外生産胚は体内胚と比べて受胎率が低く高メチル化など胚の品質が劣ると考えられている。演者らは成熟培養の基質の違いが胚品質の低下を招いていると仮説を立て、ゲル基質上で成熟培養した時の胚発生能を解析した。増粘多糖類を混合したゲル基質を作成し、ウシ卵子を従来のシャーレおよびゲル基質上で成熟培養し、体外受精以降はシャーレ上で培養を行った。ゲル基質で培養を行うと胚盤胞発生率が有意に向上し、脂質の増加および 8 細胞期における脱メチル化の促進が認められた。ゲル基質で成熟培養した 8 細胞期胚において RNA-seq を実施し、発現変動遺伝子解析を行ったところ、メチル化を制御する遺伝子の低下が認められた。また、パスウェイ解析では TGFβ1 が検出され、実際にゲル基質で成熟培養を行った培地中に高濃度で検出された。以上のことからゲル基質での成熟培養は TGFβ1 の分泌促進により胚発生の改善や脱メチル化を促進することが示された。

・着床前ゲノム選抜および経膈採卵- 体外

受精技術を融合した効率的黒毛和種改良法の検討（道総研畜試 藤井 貴志）

演者らは体内生産胚から一部の細胞を採取してゲノミック評価を行う着床前ゲノム選抜技術を開発したが、経膈採卵- 体外受精 (OPU-IVF) 技術と融合することできわめて効率的な育種改良が可能になると期待される。そこで演者らは黒毛和種 OPU-IVF 胚を用いた着床前ゲノム選抜の実用性を検証した。黒毛和種 4 頭において OPU を実施し、成熟培養、IVF、発生培養をおこなった。IVF 後 7 日目あるいは 8 日目の胚盤胞- 拡張胚盤胞計 20 個からバイオプシーにより栄養膜細胞を採取し、DNA 抽出および全ゲノム増幅した後にコールレートおよび枝肉形質のゲノミック育種価を算出した。バイオプシー後の胚はダイレクト法により凍結保存した。バイオプシー細胞におけるコールレートは、0.66-0.97 であった。また、20 個中 16 個の胚においてゲノミック評価および性別推定が可能で、全きょうだい胚においてもゲノミック育種価にバラツキが認められ、移植前に個々の胚の遺伝的能力が識別できた。ゲノミック育種価および推定した性別をもとに 5 個の雌胚を選抜し移植したところ 4 頭の産子が得られ性的中率は 100%であった。胚と子牛の SNP 一致率は 98%以上で

あり、枝肉形質のゲノミック育種価においても非常に強い相関が認められた。以上のことから黒毛和種 OPU-IVF 胚を用いた着床

前ゲノム選抜の実用可能性が示された。

報告日：令和 5 年 10 月 11 日