

## 先端技術動向

### 日本畜産学会第131回大会に参加して

開催日：令和5年9月18～21日

参加方法：現地会場開催に参加

参加報告者：家畜バイテクセンター

草間 美穂

#### 1. はじめに

本学会の発表トピックは家畜の栄養・飼養をはじめ遺伝・育種や畜産物利用など多岐にわたる。今回は繁殖をテーマにする発表に着目し、当センターで応用可能な技術について情報収集を行った。

#### 2. 概要

・卵胞液中の mi RNA は卵子の胚発生能力の優劣を決定する（東農大院動物科学 青木 漱吾）

卵胞液 (FF) は卵子の成熟を支持する唯一の環境であり、卵子の発生能を左右することが報告されている。本研究では卵子の発生能力の個体差は、FF 中の重要因子を運ぶ EV における特定の mi RNA に起因するのではないかと考え、内包する卵子の個体差と関係する mi RNA を同定し検討するといった内容だった。

卵巣より吸引採取した卵子を胚盤胞まで発生させ、発生率が高い上位個体の卵胞液を Good-FF、下位個体の卵胞液を Poor-FF とした。これらの FF を添加して体外受精を試みたところ、8 細胞期胚までの分割率と胚盤胞期胚までの発生率が有意に向上した。また Good-FF の miRNA には、miR-151-3p と-

425-5p が高頻度で含まれていることが報告された。当該 mi RNA の mimic は IVM 培地にリポフェクタミンと共に添加すると、Control mimic と比べ分割率、発生率を有意に向上させる結果となった。これらの結果からそれぞれの mi RNA は Good-FF のマーカーとなり得ると結論づけられた。

・卵子回収液へのアスコルビン酸の添加はウシ卵巣吸引卵子の生存率を改善する（農研機構畜産部門 伊丹 暢彦）

食肉処理場由来のウシ卵巣を利用する場合、実験室への移動及び採卵までの時間に卵巣は虚血状態に陥る。この卵巣からの採卵時に虚血再灌流の状況ができ、卵胞内に存在するヒポキサンチンの反応により活性酸素種 (ROS) が産生される。本研究では抗酸化剤の中でも比較的安価で作用の広いアスコルビン酸ナトリウム (Asc) を添加し、その後の卵子生存率や活性酸素量に及ぼす影響の報告であった。

試験の結果として Asc 添加区では ROS の低下が認められ、卵子生存率は 10% 向上したと報告された。また Asc の安定性はとても低く壊れやすいため、実験の 1 時間前に調整をしているようで、今後は安定性の高いア

スコルビン酸スルホキシド等を用いて長期保存ストックが可能かどうか検討していく必要がある。

**・ウシ精子への TLR7/8 リガンド処理が体外受精胚の性比および発生能に及ぼす影響 (広島総技研畜技セ 山本 哲史)**

To11 様受容体 (TLR) 7/8 のリガンド処理による XY 精子を分離する技術は簡易な雌雄産み分けの技術として期待されている。本研究では精子の TLR7/8 リガンド処理がウシ受精卵生産に与える影響が報告された。TLR7/8 リガンド処理を行った 4 頭のウシ精液の内、1 頭の精液で 83% の雄胚率を得る

ことができた。この種雄牛の精液を体外受精に用い受精卵を作出したところ、その後の発生率、胚の品質は未処理区と比較して差は認められなかった。これらの結果から TLR7/8 リガンド処理は胚生産効率と品質を損なうことなく、雄胚比率を上げる可能性がある」と結論付けた。しかし試験に用いた 4 頭の TLR7/8 リガンド処理で得られた雄胚率は 40~80% と非常にばらつきが大きかったことから、種雄牛間で TLR 発現量の差がある可能性がある。今後、種雄牛ごとの TLR7/8 リガンドの調整について検討していく。

報告日：令和 5 年 11 月 13 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

**・Relationship between miRNA expression in intrauterine exosomes and fertility in cows (名古屋大学大学院生命農学 市川 怜)**

子宮由来エクソソームに含まれる miRNA は着床前の胚-母体間のコミュニケーションに使用される。演者らは低受胎牛では miRNA が胚の発生能と生存性を損なうと仮説を立てた。3 回の人工授精で受胎しないウシを低受胎とし、正常牛および低受胎牛から子宮由来エクソソームを回収した。small RNA seq により子宮由来エクソソームに含まれる miRNA を網羅解析したところ、8 つの miRNA が低受胎牛で有意に発現量が高いことを見出した。また、蛍光標識した miRNA を各ステージの胚盤胞にリポフェクションにより導入したところ、脱出胚盤胞のみが

蛍光を示した。以上のことから低受胎牛の子宮由来エクソソームに含まれる miRNA が着床前の脱出胚盤胞に作用し、胚の生存性を損なう可能性が示された。

**・卵巣顆粒層細胞による細胞外小胞の取り込み機構の研究 (東京大学大学院農学生命科学 杉浦幸二)**

エクソソームなどの細胞外小胞 (EVs) は卵巣機能に重要な役割を果たすが卵巣の細胞への取り込み機構は不明である。演者らはクラスリン介在性およびカベオラ介在性エンドサイトーシスに着目してマウス顆粒層細胞における EVs の取り込みを解析した。単層培養した顆粒層細胞において蛍光標識した EVs の取り込みは添加濃度依存的に増加し、クラスリン介在性およびカベオラ介

在性エンドサイトーシスの阻害剤によって抑制された。また、BMP15 などの卵由来因子はカベオラ介在性エンドサイトーシスを促進したが、クラスリン介在性エンドサイトーシスには影響しなかった。以上より、顆粒

層細胞はクラスリンおよびカベオリンを介して EVs を取り込むこと、卵由来因子がエンドサイトーシスによる EVs の取り込みを調節することが明らかとなった。

報告日：令和 5 年 10 月 3 日