

卵胞液プロテオーム解析によるウシ卵子の発生能制御因子の同定

東京農工大学大学院農学研究院生物生産科学部門・准教授 杉村 智史

■ 目 的

ウシにおいて一般的に食肉処理場由来卵巣あるいは生体内卵子吸引法(OPU)により小胞状卵胞から採取した卵丘細胞-卵子複合体(COCs)を体外で成熟培養させることで体外受精胚用の卵子が生産されている。しかしながら、依然として体内で成熟した卵子に比べ胚盤胞への発生能が低いこと、さらに、移植後の受胎率が低いことが問題となっている。卵子の発生能を制御するキープレイヤーとして卵胞細胞の他に卵胞液が挙げられる。本研究では、さらなる体外成熟卵子の品質改善を目的として、高発生能卵子を取り囲む微小環境、すなわち、卵胞液組成のオミックス解析により明らかにし、その知見をIVMシステムに応用することで、体外成熟卵子の更なる品質改善を目指す。

■ 方 法

異なる2種類の方法(漸減投与区、単回投与区)により卵胞発育処理(FGT)を施した個体もしくはFGT無処理個体からOPUにより、卵胞液を採取した。各実験区、3個体より採取した卵胞液はCE-TOFMSを用いた代謝物の網羅的解析に供した。また、卵胞液中のエストロジェン(E2)、プロジェステロン(P4)およびFSH濃度をTR-FIAにより解析した。FGT処理を施した卵胞液がウシ卵子の発生能に与える影響を解析するため、各処理区の卵胞液を成熟培地に50%の濃度で添加し、体外成熟培養を行った。その後、体外受精、体外発生培養に供した。培養後2日に卵割率、7日に胚盤胞発生率を算出した。

■ 結果および考察

CE-TOFMS解析の結果、131の代謝産物が検出された。その得られた代謝産物の主成分分析の結果、FGT1およびFGT2間で違いは認められないものの、卵胞発育処理と無処理間で違いが認められた。卵胞発育処理の方法に関わらず卵胞発育処理を施すことで、卵胞液中のグルコースの代謝産物であるG6P、乳酸、酸化ストレスマーカーである酸化型グルタチオン(GSSG)濃度の低下が認められ、特にFGT1でこれらの濃度が低かった。このことは、FGT処理を施すことで、卵胞細胞のグルコース代謝が抑制されること、酸化ストレスが抑制されることを示唆している。各処理区間でP4、E2、FSH濃度に違いは認められなかった。また、それぞれの実験区に由来する卵胞液を成熟培地に添加した実験では、FGT1の卵胞液を用いた場合で、卵子の発生能が最も高かったことから、卵胞発育処理を施した卵胞液中には卵子の発生能を制御する因子が含まれていることが示された。

■ 結 語

卵成熟に先駆けた卵胞発育処理により卵胞細胞の代謝様式が変化すると共に、その卵胞液を含む卵胞微小環境がウシ卵子の発生能獲得に関与することが示唆された。