



Title	育種効率化を目指したウシ体外受精卵生産技術に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	加川, 真二郎
Citation	北海道大学. 博士(農学) 甲第15226号
Issue Date	2022-12-26
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/87778
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Kagawa_Shinjiro_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（農学） 氏名 加川 真二郎

審査担当者 主査 准教授 川原 学
副査 教授 上田 宏一郎
副査 教授 小池 聡
副査 教授 高橋 昌志（本学大学院国際食資源学院）
副査 助教 唄 花子

学位論文題名

育種効率化を目指したウシ体外受精卵生産技術に関する研究

本論文は5章からなり、図15、表10、文献96を含む頁数105の和文論文であり、別に参考文献1編が添えられている。

ウシの受精卵移植技術は、遺伝的能力の高い雌ウシの卵子の利用性を高めることができることから、育種改良を推進する上で有効な手段となる。繁殖技術の改良は効率的な育種改良法の構想に繋がることから、本研究は、現在ウシ受精卵移植技術において主流となりつつある経腔採卵（OPU）と体外受精（IVF）による受精卵生産技術を基盤として、育種改良効率化の可能性を広げべく新たな体外受精卵作出関連技術を考案し、動物生産への実現の可能性を探ったものである。

(1) ガラス化した未受精卵子を利用した子ウシ生産系の開発

氷晶形成を最小限にするガラス化处理した卵子は、新鮮卵子に比べて透明帯が変性して受精効率が低下するという問題がある。そこで、透明帯を貫通させて精子を直接卵子内に注入する顕微授精（ICSI）を適用することで作出効率が改善される可能性がある。しかし、これまでの研究ではガラス化卵子にICSIした受精卵の個体までの発生は確かめられていなかった。本研究では、ガラス化OPU卵子にICSIによって受精させることで、個体発生可能な受精卵の作製を目指した。その結果、胚盤胞期までの発生率は新鮮卵子に比べて低下したものの、ガラス化OPU卵子由来ICSI受精卵を用いて2頭の子ウシを誕生させることに初めて成功した。

(2) 妊娠認識を補助する栄養膜小胞の凍結融解後の生存性の改善および子宮への移植後の動態

ウシ受精卵の受胎には、受精卵の栄養膜細胞から産生されるインターフェロントウ（IFNT）を始めとした妊娠認識シグナルを、母体が認識することが必要不可欠となる。そこで、移植胚の受胎を補助するために、栄養膜細胞を含む栄養膜小胞（TVs）の共移植が効果的であると考えられ

てきた。TVsの作製は、着床期の伸長胚から栄養膜を切り出すことで行われる。実際の胚移植の際には、TVsを凍結保存し用時調製することができれば利便性が飛躍的に高まるが、これまでに凍結TVsの作製条件は十分に検討されていない。本研究において、凍結TVsが多く得られる生産手段を検討したところ、過剰排卵処理後の人工授精から14日後に回収し、栄養膜細切直後の小胞形成前に凍結処理を行うことで、効率的に凍結TVsを作製できることを示している。さらに、子宮内へ移植することで、TVsは7日間で40倍程度に伸長することを確認したことに加えて、妊娠認識に最も重要な因子であるIFNTタンパク質が胚と同等レベルで発現していることを明らかにした。以上より、妊娠認識を補助することが期待されるTVsの効率的な作製条件が決定された。

(3) 遺伝的能力の判定精度を高める一卵性双子生産技術の開発

近年、ゲノム育種による遺伝的改良の効率が飛躍的に向上しているが、信頼度は形質によって高低があり、複数形質の効率的改良という観点からは万能とはいえない。そこで、肉用牛の種雄牛造成において、一卵性双子による候補牛自身としての計測値に基づいた評価と、ゲノム育種価に基づいた評価とを組み合わせる方法が模索されてきた。ここで種雄牛造成のためには雄の一卵性双子を作出することが求められる。本研究では、性判別を実施した上での一卵性双子胚の生産を試みた。受精から5日目の32細胞期の受精卵について、割球を一旦分散させた後に、性判別用に2割球を採取し、残りの割球を2つの受精卵に再構成するという手法を試みたところ、58.8%の割合で双子となる胚盤胞を得た。さらに、再構成胚を移植したところ、2組の一卵性双子を含む7頭の雄子ウシを生産することができた。

本研究では、OPU-IVF技術を基盤として、より効率的な育種改良法開発の可能性を広げるべく、繁殖技術の改良について多角的に取り組んだ。まず、OPUにより採取し凍結保存した未受精卵子を利用してICSIを行うことで個体生産が可能であることを初めて示した。次に、妊娠認識の補助が期待されるTVsの凍結保存条件を決定し、移植後には子宮内で一定期間発育することも確認した。さらに、体外受精技術を用いて、性判別した後に一卵性双子を効率的に生産できる受精卵作出技術の開発にも初めて成功した。これらの研究成果は、ウシの改良増殖効率の向上に大きく貢献するものと期待される。

以上より、本研究で新たに提案されたウシ体外受精卵からの個体作出系に関連した知見は、ウシの改良増殖を推進する上で極めて重要な繁殖技術に発展するものと評価される。よって、審査員一同は、加川真二郎が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。