

腹腔鏡システムを用いた体外受精卵の胚移植によるゲノム編集ブタの作出



長原恵¹⁾、中山雄一朗¹⁾、Suong Thi Nguen^{1, 2)}、平田真樹¹⁾、中井綾¹⁾、柏倉裕志³⁾、大森司³⁾、谷原史倫¹⁾
1) 徳島大学バイオイノベーション研究所、2) 山口大学大学院共同獣医学研究科、3) 自治医科大学医学部生化学講座



要旨

本研究では、低侵襲な腹腔鏡システムを用いた体外受精卵の胚移植によるゲノム編集ブタの作出のための技術や効果について検討した。未経産家畜豚とマイクロミニブタ（MMP）計7頭の移植を行った結果、7頭中6頭で受胎が確認された。さらに、産出された産子においてもゲノム改変が認められた。これらの結果から、遺伝子改変ブタ作出において、腹腔鏡システムを用いた低侵襲な胚移植の活用が期待される。

序論

ブタの腹腔鏡下胚移植は、疼痛や癒着、感染などの術後合併症リスクを軽減する低侵襲手法として注目されている。近年、異種移植への関心の高まりとともに、ブタのゲノム編集技術も進展しているが、腹腔鏡下での胚移植による産子作出は国内外で報告が少ない。本研究では、エレクトロポレーションによりゲノム編集した体外受精卵を用い、卵巣や卵管を露出させることなく腹腔鏡下で移植することによる効率的かつ低侵襲な遺伝子改変ブタの作出法を検討した。

実験材料および方法

実施場所：徳島大学創薬・医療機器開発施設

供試豚：7頭

- 未経産家畜豚（LWD、L、雑種、阿波とん豚…etc）6頭
- マイクロミニブタ（MMP）1頭

同期化処置：未経産豚同期化法（図1）

遺伝子編集方法：CRISPR/Cas9 RNPを用いたエレクトロポレーション法

標的遺伝子：Factor8（供試豚No. 1,2）、その他

移植胚数：400個（片側200個）

胚移植方法：腹腔鏡を用いたDay1胚の両側卵管内移植

妊娠鑑定：移植後、21日前後で超音波画像診断装置にて診断

図3 腹腔鏡システムと必要機器



図4 腹腔鏡システムを用いた体外受精卵の胚移植方法の検討

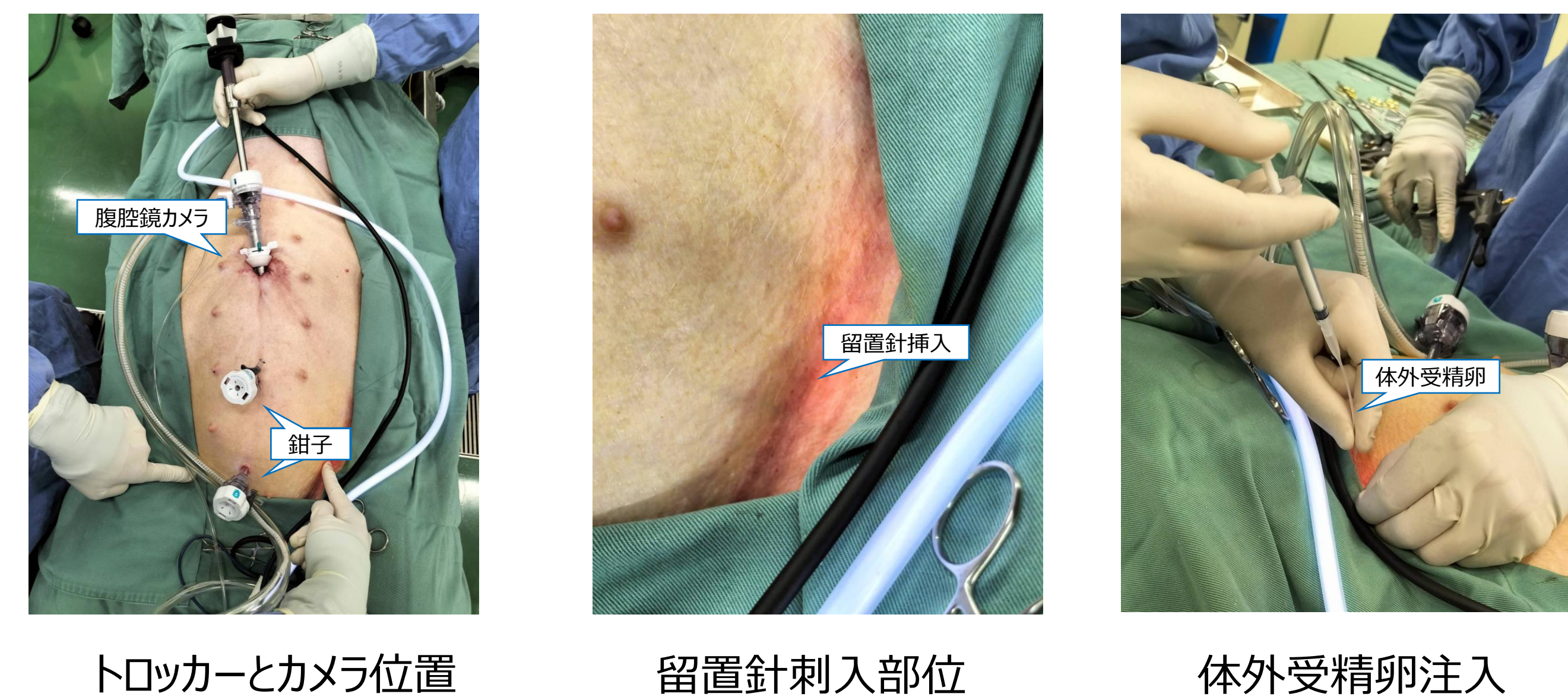
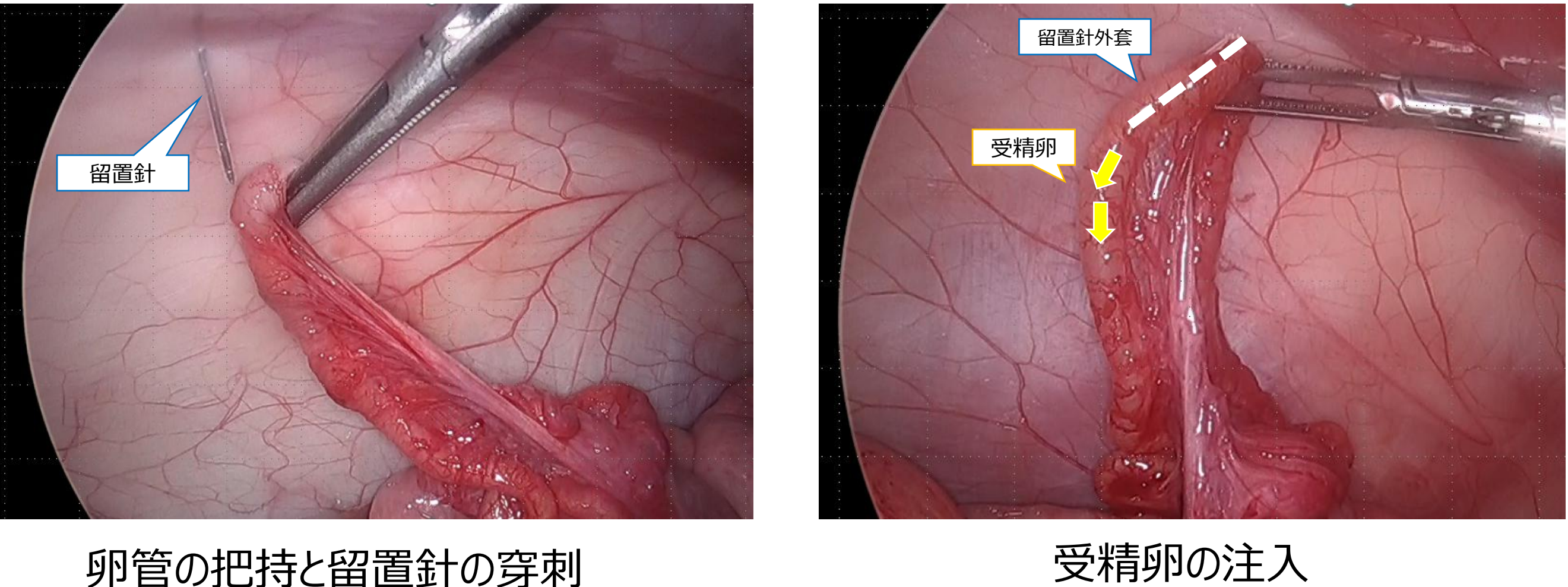


図5 腹腔鏡カメラ画像



本研究により、腹腔鏡システムを用いた体外受精卵の胚移植方法では高い受胎率が得られ、術後感染も認められなかった。また、癒着も認められなかったことから、従来は卵巣癒着のため1頭1回の胚移植が主流であったが、母豚を**複数回の胚移植に利用できる可能性**が示唆された。

結論

以上の結果から、腹腔鏡システムを用いた体外受精卵の胚移植方法は、現行の開腹手術と遜色ない高い受胎率を示し、術後感染のリスクも低減できる有用な手法であることが確認された。**腹腔鏡システムを用いた胚移植は、低侵襲なため、胚移植の複数回利用の可能性による移植個体の削減や動物福祉の向上に貢献する手法であり、今後のゲノム編集ブタの作出方法のひとつとして十分に活用可能である**と考える。

図1 ブタ同期化処置

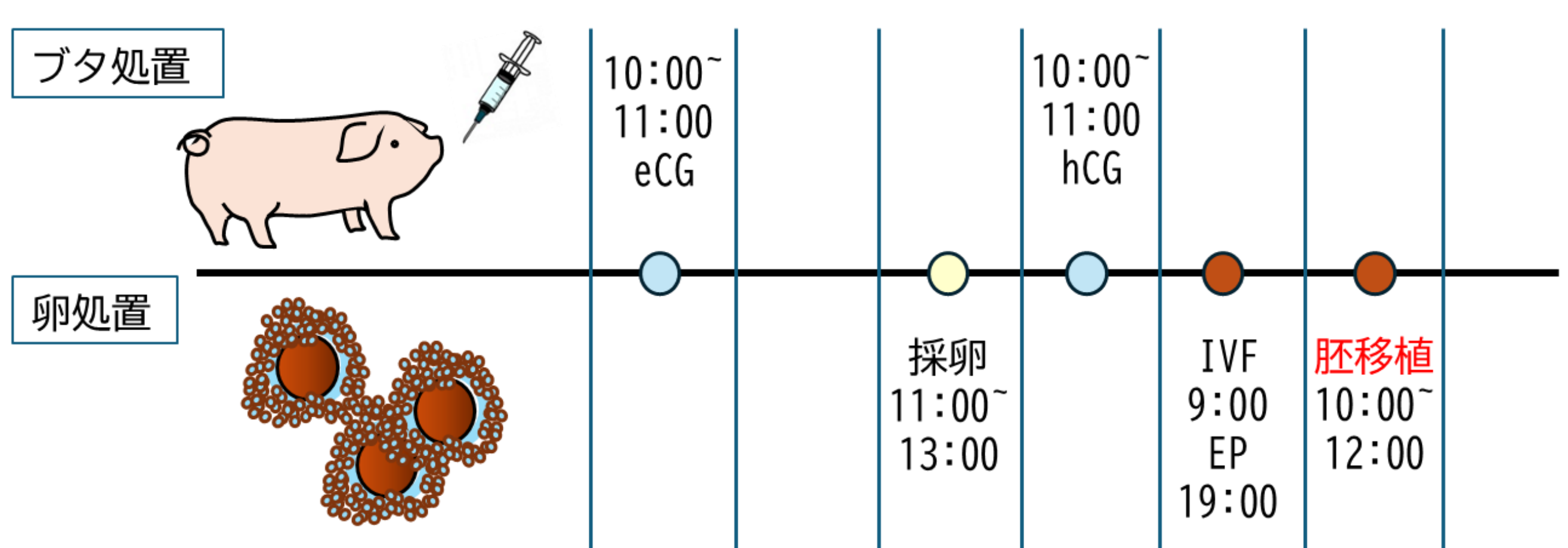
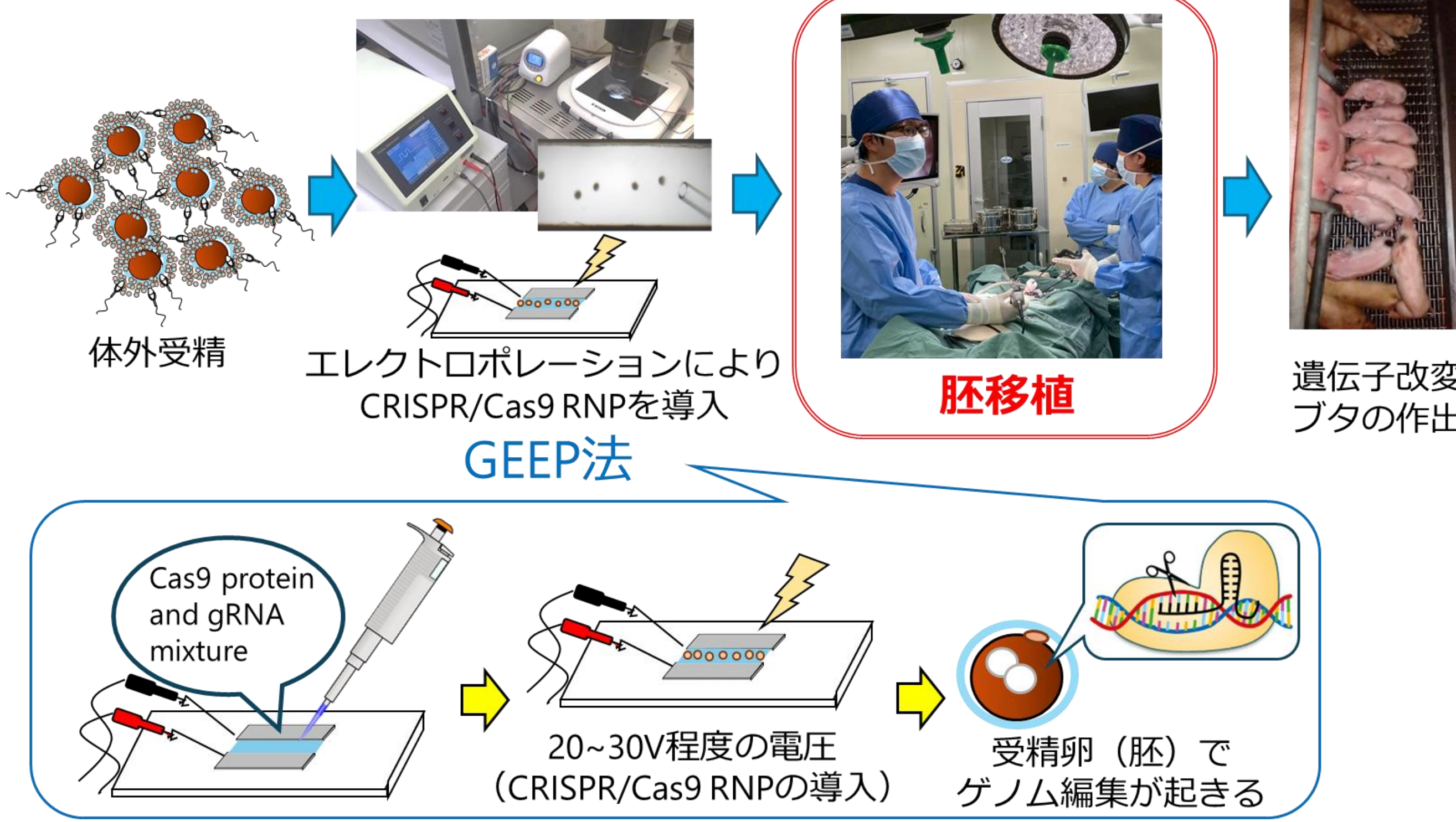


図2 エレクトロポレーション法(EP)による遺伝子改変ブタの作出



結果

受胎率は**85%**（家畜豚**5/6頭**、MMP**1/1頭**）であった（図6）。ただし、MMPは自然流産した。現在までに1頭が分娩し（No. 1）、その産子数は**3頭**であり、全頭で生存を確認した。全産子の遺伝子改変状況は、**3頭のうち、2頭で遺伝子改変**を確認した（図7）。また、妊娠母豚（No. 1,2）2頭の解剖では、**子宮や卵巣の癒着は認められなかった**。

図6 腹腔鏡システムによる胚移植結果

No.	ET実施日	生年月日	月齢	系統	標的遺伝子	受胎	分娩予定日	分娩日	産子数
1	2024/11/9	2023/5/8	18	LWD	Factor8	+	2025/3/3	2025/3/3	3
2	2024/12/20	2024/7/31	4	MMP	Factor8	+	2025/4/13	流産	
3	2025/5/10	2024/11/27	5	W		—		Not yet	
4	2025/5/16	2024/11/27	5	W		+	2025/9/7	Not yet	
5	2025/7/4	2025/2/1	5	L		+	2025/10/26	Not yet	
6	2025/8/8	2025/3/4	5	雑種		+	2025/11/30	Not yet	
7	2025/8/8	2025/3/4	5	雑種		+	2025/11/30	Not yet	

図7 産子のゲノム情報

