

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08137

研究課題名(和文) 卵丘細胞の機能制御による家畜卵母細胞体外発育培養系の構築

研究課題名(英文) Development of culture systems controlling cumulus cell function for the growth of oocytes from domestic animals

研究代表者

宮野 隆 (MIYANO, Takashi)

神戸大学・農学研究科・教授

研究者番号：80200195

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類の卵母細胞は、周囲の顆粒膜細胞/卵丘細胞から種々の物質を受け取ることで発育する。本研究では、ウシおよびブタ卵巣内の初期胞状卵胞(直径約0.5 mmと1.0～1.5 mm)から採取した卵母細胞-卵丘複合体(OCC)を用い、発育途上の卵母細胞を体外で発育させた。発育途上の卵母細胞は、卵丘細胞のみでも体外で最終の大きさへと発育し、成熟能力を獲得した。培養の過程でOCCは発達し、胞状卵胞様の構造を形成した。また、ウシ裸化卵母細胞を壁顆粒膜細胞と培養するとTZPが形成され、卵母細胞は発育した。卵丘細胞の増殖や形態の変化にはFSHに加え、卵母細胞由来の成長因子がかかわっていることも示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

家畜の卵巣内に多数存在する初期胞状卵胞内には、成熟する能力のない発育途上の卵母細胞が含まれている。これらの卵母細胞を、卵母細胞-卵丘複合体の状態で5～14日間、体外培養すれば、卵母細胞を最終の大きさへと発育させ、成熟させることが可能となった。この卵母細胞-卵丘複合体を用いた体外発育培養系は汎用性が高く、この培養系を用いることによって、家畜卵母細胞の体内における発育機構や、卵母細胞と卵丘細胞間の相互作用・結合にかかわる機構を解析することができる。

研究成果の概要(英文)：Mammalian oocyte growth is supported by surrounding granulosa/cumulus cells which provide various small molecules to the oocytes. In the present study, bovine and porcine growing oocytes collected from early antral follicles (about 0.5 mm and 1.0-1.5 mm in diameters) were cultured with surrounding cumulus cells (oocyte-cumulus complexes: OCCs) for 5-14 days. OCCs developed and formed antral-like structures in which oocytes grew to the final size and acquired maturational competence. When bovine oocytes collected from early antral follicles were denuded from cumulus cells and then cultured with parietal granulosa cells, the cells formed transzonal projections to the oocytes, and the oocytes grew to the final size. Proliferation and morphology of cumulus cells were regulated by oocyte-derived growth factors (GDF9 and BMP15) in addition to FSH during the OCC culture.

研究分野：農学

キーワード：卵母細胞 卵丘細胞 顆粒膜細胞 体外培養 transzonal projection

1. 研究開始当初の背景

Eppig と O'Brien が、マウス新生仔卵巣内の原始卵胞中の卵母細胞を完全に体外で発育させ、この卵母細胞に由来する産仔を得て以来 (1)、哺乳類の卵巣内の卵母細胞を体外で発育させ、利用しようとする試みが数多くなされてきている。近年、マウス卵母細胞の体外発育培養に関する研究は急速な進展を見せ、2016年に Hikabe ら (2) は、マウス線維芽細胞から作成した iPS 細胞を始原生殖細胞様細胞へと誘導し、これを卵巣細胞と体外で培養することによって、受精し発生する能力を備えた卵子を作出する、すなわち、線維芽細胞から完全に体外で卵子を作出することに成功している。一方、マウス以外の大型哺乳類動物の卵母細胞の体外発育に関する研究は、その数は増えてはいるものの、発生能力を備えた卵子の作出までに至る研究は少なく、実際に発育培養後の卵母細胞から産仔を作出した報告は、ウシにおける我々の報告 (3) も含め、3 例を見るに過ぎない。いずれの研究においても、直径約 0.5 mm の初期胞状卵胞から採取した、成熟能力のない直径 90~100 μm の発育途上のウシ卵母細胞を含む卵母細胞-卵丘-壁顆粒膜細胞から成る複合体を、約 2 週間体外培養して発育させた卵母細胞を用いたものである。

2004年 Hirao らは、卵母細胞-卵丘-壁顆粒膜細胞複合体をゲルなどに包埋せず、直接培養液中で長期間培養する培養系を提案した (4)。その後、培養系が改良され、現在、直径 90~100 μm の発育途上のウシ卵母細胞であれば、体外培養によって最終の直径へと高率に発育させ、成熟・受精・発生させることができるまでに至っている。ウシおよびブタの初期胞状卵胞から採取した卵母細胞-卵丘-壁顆粒膜細胞複合体を培養し、卵母細胞の体外での発育に必要な因子を解析したこれまでの研究では、ウシの卵母細胞-卵丘-壁顆粒膜細胞複合体の培養には、4% (v/v) ポリビニルピロリドン (PVP) 添加が適しているのに対して、ブタの複合体には 2% PVP が適していること、ブタ卵母細胞の生存性の維持には FSH が必須であるのに対し、ウシでは FSH は必ずしも必要ではなく、エストラジオール 17 β の添加が必要なが明らかとなっている。また、ウシ卵母細胞では、培養液にアンドロステンジオンを添加すると、発育培養後の卵母細胞の成熟能力が高まること (5)、一方ブタでは、直径約 110 μm の卵母細胞を含む複合体に対しては、エストラジオール 17 β を添加しないと、発育培養後の成熟過程において、卵丘の膨潤化が起こらないことがわかっている (6)。これらの改良された培養条件を用いると、初期胞状卵胞から採取したウシ卵母細胞の 7~8 割は最終の大きさへと発育し、その後の成熟培養によって成熟するばかりでなく、体外受精後、体内で発育した卵母細胞と同様に発生する (7)。

これら一連の実験には、ウシおよびブタ卵巣内の直径約 0.5 mm の初期胞状卵胞から採取した卵母細胞 (直径 90~100 μm) -卵丘-壁顆粒膜細胞複合体が用いられているが、複合体を卵胞から採取するには熟練を要する。体外受精に用いるような、採取が容易な卵母細胞-卵丘複合体を材料として用いることができれば、簡便でより汎用性の高い卵母細胞の体外発育培養系を構築することが可能となる。しかし、卵母細胞-卵丘複合体を材料とした卵母細胞の体外発育では、培養中に卵母細胞が裸化し、発育が中断する可能性が高い。卵巣内で、卵丘細胞は透明帯を貫通する突起 (transzonal projection : TZP) を卵母細胞に向かって伸ばしており、その先端では、卵母細胞との間にギャップ結合を形成している。この結合を通して、卵丘細胞から卵母細胞に種々の物質が運ばれ、それによって卵母細胞が発育することから、この結合が絶たれば、卵母細胞は退行する。しかし、TZP の形成や退行、あるいは再結合に関してはほとんど知られていない。また、より直径の大きな初期胞状卵胞内の卵母細胞 (直径 100~115 μm) を発育培養すると、卵母細胞が発育培養の途中で減数分裂を再開し、その後、退行することも知られている。発育培養の間に起こる、卵丘細胞との結合の解離、卵母細胞の自発的な減数分裂の再開という 2 つの問題を克服できれば、初期胞状卵胞内の家畜卵母細胞の卵母細胞-卵丘複合体を材料とした体外発育培養法を完成させることができると考えられる。

2. 研究の目的

哺乳類の卵巣内で、卵母細胞は周囲の顆粒膜細胞 (胞状卵胞以降では卵丘細胞) と結合した状態を維持し続け、顆粒膜細胞から種々の物質を受け取ることによって、最終の大きさへと発育する。本研究では、家畜の初期胞状卵胞から採取した発育途上の卵母細胞を含む“卵母細胞-卵丘-壁顆粒膜細胞複合体”を用いた従来の卵母細胞発育培養系に代わる、“卵母細胞-卵丘複合体”を用いた卵母細胞の体外発育培養系を構築する。また、裸化した卵母細胞でも発育可能な培養系を考案する。

3. 研究の方法

と畜場で入手したウシおよびブタ 2 種の家畜の卵巣から初期胞状卵胞を採取し、材料として用いた。これらの動物の卵胞の発達と卵母細胞の発育、卵母細胞の発育に伴う成熟能力の獲得過程はほぼ同様に進行する。すなわち、直径が 1 mm 未満の初期胞状卵胞から採取した直径 100 μm 未満の卵母細胞には減数分裂を再開する能力がなく、直径 1.0~1.5 mm の初期胞状卵胞から採取した直径 100~115 μm の卵母細胞は、減数分裂を再開することはできるが、第二減数分裂中期へと成熟する能力はない。また、直径 4 mm 以上の胞状卵胞から採取した卵母細胞は、発

育を完了しており（直径 120～125 μm ）、第二減数分裂中期へと成熟する能力を持っている。

ウシおよびブタの卵巣から、直径約 0.5 mm および 1.0～1.5 mm の初期胞状卵胞を顕微鏡下で切り出し、それぞれの卵胞から直径 90～100 μm および 110～115 μm の 2 種の発育途上の卵母細胞を含む卵母細胞-卵丘複合体 (oocyte-cumulus complex : OCC) を採取し、培養実験に用いた。一部の実験では、対照として卵母細胞-卵丘-壁顆粒膜細胞複合体 (oocyte-cumulus-granulosa cell complex : OCGC) を採取し、実験に用いた。

OCC の発育培養には、Hirao らのウシ OCGC 用の発育培養液 (4) を修正し、ウシでは 5% ウシ胎仔血清 (FCS)、4 mM ヒポキサンチン、4% PVP、エストラジオール 17 β およびアンドロステンジオン等を含む Makita らの培養液 (7) を用い、ブタ OCC の発育培養には、5% FCS、4 mM ヒポキサンチン、2% PVP、エストラジオール 17 β および 0.01 IU/ml FSH を含む培養液を、それぞれ基礎培養液として用いた。

ブタおよびウシの直径約 0.5 mm の初期胞状卵胞から採取した OCC は 14 日間、1.0～1.5 mm の初期胞状卵胞から採取した OCC は 5 日間発育培養した。発育培養後、一部の OCC については、hMG で刺激することによって成熟を誘起し（体外成熟培養）、卵母細胞の成熟能力の獲得状況を調べた。

4. 研究成果

(1) 減数分裂再開能のないウシ卵母細胞の卵母細胞-卵丘複合体を用いた体外発育

・ウシの初期胞状卵胞（直径 0.5～0.7 mm）から採取した OCC（卵母細胞の直径約 100 μm ）をセルカルチャーインサートメンブレン上で、38.5 $^{\circ}\text{C}$ 、5% O_2 -5% CO_2 -90% N_2 の気相下で 7 日間、次いで 5% CO_2 -95% 空気の気相下で 7 日間、合計 14 日間培養した。対照として用いた OCGC は、培養 4 日後以降、胞状卵胞様の構造を形成し、この構造の内部で卵母細胞は発育した。一方 OCC では、培養 7 日後以降、胞状卵胞様の構造が形成され始めた。培養 14 日後、どちらの複合体においても、卵母細胞は最終の直径（約 125 μm ）へと発育した。また、発育培養前の卵母細胞は、体外成熟培養によって減数分裂を再開しなかったが、体外で発育した卵母細胞は、OCGC と OCC のどちらの複合体を用いた場合でも、約 8 割の卵母細胞は第二減数分裂中期へと成熟した。

・OCC の発達に及ぼす FSH の作用を検討した。発育培養液に種々の濃度で FSH (1～50 mIU/ml rhFSH) を添加して 14 日間培養したところ、いずれの濃度においても OCC は胞状卵胞様の構造を形成し、構造内部で卵母細胞は最終の直径（約 125 μm ）へと発育した。FSH 添加によって、OCC による胞状卵胞様構造の形成は早まったが、10 mIU/ml 以上の濃度では、一旦形成された胞状卵胞様構造の崩壊が認められた。1 mIU/ml FSH 添加培養液中で発育培養した OCC では、正常な卵母細胞の割合が高く、その後の成熟培養によって、卵母細胞は高率に第二減数分裂中期へと成熟した。

(2) 減数分裂再開能のないウシ裸化卵母細胞の体外発育

・ウシの初期胞状卵胞（直径 0.5～0.7 mm）から採取した OCC 内の卵母細胞を、一旦完全に裸化した後、壁顆粒膜細胞と共培養した。共培養 24 時間後、裸化卵母細胞は壁顆粒膜細胞と複合体を形成した。この複合体を 14 日間、継続して培養したところ、約 6 割の複合体は胞状卵胞様の構造を形成し、構造内で卵母細胞は生存し、最終の直径へと発育した。また、その後の成熟培養によって、卵母細胞の約 7 割は第二減数分裂中期へと成熟した。

・卵母細胞と卵丘細胞をつなぐ TZP 中のアクチンを、蛍光色素で標識したファロイジンで染色した。裸化 24 時間後、卵母細胞と卵丘細胞間の TZP は、ほぼ完全に消失したが、その後、壁顆粒膜細胞と共培養すると、卵母細胞との間に TZP が再形成された。

(3) 部分的に成熟能力を持つウシ卵母細胞の卵母細胞-卵丘複合体を用いた体外発育

・ウシの初期胞状卵胞（直径約 1.5 mm）から採取した OCC（卵母細胞の直径約 110 μm ）を発育培養液中で 5 日間培養した。発育培養中に、一部の卵母細胞は減数分裂を再開してしまうことから、種々のホスホジエステラーゼ (PDE) 阻害薬を発育培養液に添加し、それらの影響を検討した。広く PDE を阻害する 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX)、PDE3 阻害薬の cilostamide および milrinone を発育培養液に添加すると、卵母細胞は減数分裂を再開することなく、最終の大きさへと発育し、高率に成熟能力を獲得した。一方、PDE4 阻害薬の rolipram には、その作用はなかった。

・ウシの初期胞状卵胞（直径約 1.5 mm）から採取した OCC を、IBMX あるいは PDE3 阻害薬を添加した発育培養液中で培養すると、卵胞腔様構造の形成率が高まった。また、発育培養後の卵母細胞に蛍光色素を顕微注入し、卵丘細胞への移行を観察することによって、TZP と卵母細胞をつなぐギャップジャンクションの機能を調べたところ、PDE3 阻害によって、その機能が維持されることが示された。さらに、PDE3 阻害によって、卵母細胞特有の成長因子である growth differentiation factor 9 (GDF9) と bone morphogenetic protein 15 (BMP15) の mRNA レベルが上昇した。

(4) 減数分裂再開能のないブタ卵母細胞の卵母細胞-卵丘複合体を用いた体外発育

・ブタの初期胞状卵胞（直径 0.5～0.7 mm）から採取した OCC（卵母細胞の直径約 100 μm ）をセルカルチャーインサートメンブレン上で、38.5°C、5% O₂–5% CO₂–90% N₂、または 5% CO₂–95% 空気（O₂：20%）の気相下で 14 日間発育培養した。培養 3 日後に OCC の生存性は低下したが、酸素濃度 5% では、この低下は軽減された。培養の過程で OCC は胞状卵胞様の構造を形成し、内部で卵母細胞は最終の直径（約 125 μm ）へと発育した。OCC の直径は、酸素濃度 5% に比べて、20% で大きくなった。発育培養前の卵母細胞は、体外成熟培養によって減数分裂を再開しなかったが、体外で発育した卵母細胞の約半数は第二減数分裂中期へと成熟した。

(5) 部分的に成熟能力を持つブタ卵母細胞の卵母細胞–卵丘複合体を用いた体外発育

・ブタの初期胞状卵胞（直径 1.2～1.5 mm）から採取した OCC（卵母細胞の直径約 110 μm ）を種々の濃度の GDF9 あるいは BMP15 を添加した培養液中で 5 日間発育培養した。いずれの培養液でも、卵母細胞は最終の直径（約 125 μm ）へと発育した。GDF9 は OCC の直径を増加させ、一方、BMP15 は卵母細胞の成熟能力の獲得を促進した。

・ブタの初期胞状卵胞（直径 1.2～1.5 mm）から採取した OCC を 3 種の異なる培養基質（コラーゲン、ラミニン、無処理）上で、FSH 添加および無添加の培養液中で 5 日間培養した。FSH は卵丘細胞の増殖を促進することによって OCC を発達させ、培養基質のラミニンは複合体からの卵丘細胞の遊走を抑制することによって OCC の発達を促進することが示唆された。

(6) 卵丘細胞の形態に及ぼす卵母細胞由来成長因子の影響

・ウシの初期胞状卵胞（直径約 1.5 mm）から採取した OCC は、5 日間の培養中に卵胞腔様の構造を形成したが、GDF9 と BMP15 は卵胞腔様構造の形成を促進した。OCC から卵母細胞を除去した複合体では卵胞腔様の構造は形成されなかったが、この複合体を GDF9 と BMP15 で刺激すると、卵胞腔様の構造が形成された。また、GDF9 と BMP15 添加によって、卵丘細胞の形態が変化した。

・ブタの初期胞状卵胞（直径約 1.5 mm）から採取した OCC から卵母細胞を除去すると、OCC の発達は抑制された。また、OCC から遊走する卵丘細胞は線維芽細胞様細胞へと変化した。

以上の結果から、ウシおよびブタの初期胞状卵胞から採取した発育途上の卵母細胞は、卵丘細胞のみでも体外で発育し、成熟能力を獲得することが示された。培養の過程で、卵母細胞–卵丘複合体は胞状卵胞様の構造を形成することから、卵丘細胞は壁顆粒膜細胞と同様の細胞へと変化する。また、ウシの裸化卵母細胞–壁顆粒膜細胞複合体の発育培養においては、壁顆粒膜細胞が TZP を伸長し、卵丘細胞と同様の細胞へと変化する。卵丘細胞の増殖や形態・機能の変化には FSH に加えて、卵母細胞由来の成長因子である GDF9 や BMP15 が関わっており、卵母細胞と卵丘細胞の相互作用によって、卵母細胞自体の発育や成熟能力の獲得が制御されると考えられる。

<引用文献>

- 1) Eppig JJ, O'Brien MJ. Development in vitro of mouse oocytes from primordial follicles. *Biol Reprod.* 54: 197-207 (1996)
- 2) Hikabe O, Hamazaki N, Nagamatsu G, Obata Y, Hirao Y, Hamada N, Shimamoto S, Imamura T, Nakashima K, Saitou M, Hayashi K. Reconstitution in vitro of the entire cycle of the mouse female germ line. 539: 299-303 (2016)
- 3) Yamamoto K, Otoi T, Koyama N, Horikita N, Tachikawa S, Miyano T. Development to live young from bovine small oocytes after growth, maturation and fertilization in vitro. *Theriogenology* 52: 81-89 (1999)
- 4) Hirao Y, Itoh T, Shimizu M, Iga K, Aoyagi K, Kobayashi M, Kacchi M, Hoshi H, Takenouchi N. In vitro growth and development of bovine oocyte-granulosa cell complexes on the flat substratum: effects of high polyvinylpyrrolidone concentration in culture medium. *Biol Reprod.* 70: 83-91 (2004)
- 5) Makita M, Miyano T. Steroid hormones promote bovine oocyte growth and connection with granulosa cells. *Theriogenology.* 82: 605-612 (2014)
- 6) Kubo N, Cayo-Colca IS, Miyano T. Effect of estradiol-17 β during in vitro growth culture on the growth, maturation, cumulus expansion and development of porcine oocytes from early antral follicles. *Anim Sci J* 86: 251-259 (2015)
- 7) Makita M, Ueda M, Miyano T. The fertilization ability and developmental competence of bovine oocytes grown in vitro. *J Reprod Dev.* 62: 379-384 (2016)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Alam MH, Miyano T.	4. 巻 19(1)
2. 論文標題 Interaction between growing oocytes and granulosa cells in vitro.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reprod Med Biol.	6. 最初と最後の頁 13-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi10.1002/rmb2.12292	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Alam MH, Lee J, Miyano T	4. 巻 118
2. 論文標題 Inhibition of PDE3A sustains meiotic arrest and gap junction of bovine growing oocytes in vitro growth culture	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Theriogenology	6. 最初と最後の頁 110-118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Alam MH, Lee J, Miyano T	4. 巻 64
2. 論文標題 GDF9 and BMP15 induce development of antrum-like structures by bovine granulosa cells without oocytes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Reprod Dev	6. 最初と最後の頁 423-431
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1262/jrd.2018-078	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Miyano T	4. 巻 11 (Supplement)
2. 論文標題 In vitro growth of bovine oocytes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Applied Animal Science	6. 最初と最後の頁 13-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 森川莉帆, 李 智博, 宮野 隆
2. 発表標題 卵母細胞由来成長因子がブタ卵母細胞の体外発育と卵母細胞-卵丘細胞複合体の発達に及ぼす影響
3. 学会等名 第112回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伏井実穂子, 宮野 隆
2. 発表標題 ウシ裸化卵母細胞と壁顆粒膜細胞の共培養によるTranszonal Projectionの形成
3. 学会等名 第112回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森川莉帆, 李 智博, 宮野 隆
2. 発表標題 ブタ卵母細胞の体外発育と卵母細胞-卵丘細胞複合体の発達に及ぼす卵母細胞由来成長因子の影響
3. 学会等名 第8回関西生殖医学集談会・第52回関西アンドロロジーカンファレンス合同研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮野 隆
2. 発表標題 哺乳類卵母細胞の発育に関する研究とその応用
3. 学会等名 第8回関西生殖医学集談会・第52回関西アンドロロジーカンファレンス合同研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Miyano T
2. 発表標題 Advances in in vitro growth culture of mammalian oocytes
3. 学会等名 International Conference 2018 BME (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miyano T
2. 発表標題 In vitro growth of bovine oocytes
3. 学会等名 The 4th Joint Symposium of the Thai Society for Animal Reproduction and Society for Reproduction and Development (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Alam MH, Lee J, Miyano T
2. 発表標題 Antrum formation in bovine oocyte-cumulus cell complexes requires participation of oocytes via GDF9 and BMP15
3. 学会等名 第111回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伏井実穂子, 山田理愛, 宮野 隆
2. 発表標題 卵母細胞-卵丘細胞複合体を用いたウシ卵母細胞の体外発育と複合体の発達に及ぼすFSHの影響
3. 学会等名 第111回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森川莉帆, Alam MH, 宮野 隆
2. 発表標題 ブタ卵母細胞の体外発育および卵母細胞 - 卵丘細胞複合体の発達に及ぼすGDF9の影響
3. 学会等名 第111回日本繁殖生物学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miyano T, Hirao Y
2. 発表標題 In vitro growth of oocytes: from mice to domestic animals
3. 学会等名 The 4th World Congress of Reproductive Biology 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Alam Md Hasanur, Miyano T
2. 発表標題 Effect of PDE inhibitors on growth and maturational competence of partially meiotic-competent bovine oocytes in vitro
3. 学会等名 The 4th World Congress of Reproductive Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kawamoto R, Miyano T
2. 発表標題 N-acetyl-L-cysteine promotes maturational competence of pig oocytes during in vitro growth culture
3. 学会等名 The 4th World Congress of Reproductive Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamada R, Miyano T
2. 発表標題 Bovine oocytes grow in vitro in oocyte-cumulus cell complexes collected from early antral follicles
3. 学会等名 The 4th World Congress of Reproductive Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Alam Md Hasanur, Lee J, Miyano T
2. 発表標題 GDF9 and BMP15 promote antrum formation by bovine cumulus cells in vitro
3. 学会等名 日本畜産学会第124回大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本繁殖生物学会 (編)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 インターズー	5. 総ページ数 368
3. 書名 「繁殖生物学 改訂版」第2章 生殖細胞と生殖器 1. 生殖細胞, 2. 卵巣と卵母細胞, 生殖道	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----