
[成果情報名] F V法による牛卵子ガラス化保存を活用した省力的体外受精胚生産技術

[要約] F V法を用いて牛成熟卵子を2ステップで前平衡処理後にガラス化保存することにより、保存後の卵子を一括して体外受精が実施可能となり、省力的に体外受精胚が生産できる。

[キーワード] 牛、卵子、ガラス化、F V法、体外受精、胚

[担当部署] 家畜部・家畜繁殖チーム

[連絡先] 092-925-5232

[対象作目] 肉用牛・乳牛

[専門項目] バイテク

[成果分類] 技術改良

[背景・ねらい]

経膣採卵は牛生体から卵子を採取する方法で、能力の高い雌牛の体外受精胚生産に利用されているが、一度に採取できる卵子数が少ないため、受精胚を生産するためには卵子採取の都度体外受精・発生培養を実施しており、手間がかかる作業となっている。

そこで、当场で開発した細胞等のガラス化手法であるF V法（平成16年度成果情報）を活用した牛卵子のガラス化保存技術を確立し、ストック保存した卵子を一括して体外受精し、省力的に体外受精胚を生産する技術を確立する。

[成果の内容・特徴]

1. 少数卵子をF V法によりガラス化保存し、融解後一括して体外受精・発生培養することにより、省力的に体外受精胚が生産できる（図1）。
2. 卵子をガラス化により保存する場合、ガラス化前の平衡操作を1ステップから2ステップにすることにより、融解後の生存率および胚発生率が向上する（表1）。
3. 当场で開発したF V法により牛卵子をガラス化保存することにより、市販のクライオグループと同等以上に体外受精胚が発生する（表2）。F V法はクライオグループ（10個程度）より一度に多く（30個程度）の卵子を保存できるため、多数卵子の保存にも有効である。

[成果の活用面・留意点]

1. 経膣採取卵子から体外受精胚を省力的に生産する技術として活用する。

[具体的データ]

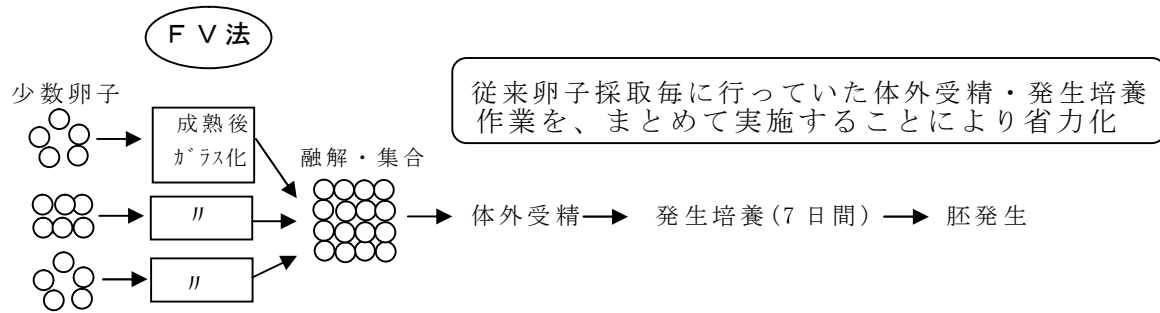


図1 ガラス化保存した少数卵子の集合による体外受精胚生産フロー

表1 卵子のガラス化前平衡ステップ数が胚発生に及ぼす影響（平成21～22年）

前平衡	卵子のガラス化保存			体外受精成績				
	供試数 A	生存数 B	生存率 B/A	分割数 C	分割率 C/B	胚発生 D	発生率 D/B	胚/卵子 D/A
2ステップ	242	92	38.0%	43	46.7%	14	15.2%	5.8%
1ステップ	214	58	27.1%	32	55.2%	7	12.1%	3.3%
χ^2 検定			*		ns		ns	ns
新鮮卵子（参考）					53.7%		39.0%	

- 注) 1. 採取後20時間成熟培養した卵子のガラス化液浸漬前平衡の段階数および平衡液。
 1ステップ：3%エチレングリコール（EG）12分間
 2ステップ：3%EG 10分間+15%EG 2分間
 2. 生存数：融解→媒精後、形態的に正常な卵子数
 3. ガラス化保存に用いた支持体：マウンティッドクライオグループ（ループ）
 ガラス化液：30%EG、1Mスクロース（Su）、10%牛胎子血清（FBS）添加TCM199
 4. χ^2 検定 ns：有意差なし、*： $p < 0.05$

表2 支持体がガラス化卵子の胚発生に及ぼす影響（平成21～22年）

支持体	卵子のガラス化保存			体外受精成績				
	供試数 A	生存数 B	生存率 B/A	分割数 C	分割率 C/B	胚発生 D	発生率 D/B	胚/卵子 D/A
ナイロン糸	174	69	39.7%	34	49.3%	16	23.2%	9.2%
ループ	242	92	38.0%	43	46.7%	14	15.2%	5.8%
χ^2 検定			ns		ns		ns	ns

- 注) 1. ナイロン糸はFV法（平成16年度成果）。
 2. 両区とも前平衡は2ステップ。
 3. ガラス化液：30%EG、1M Su、10%FBS添加TCM199

[その他]

研究課題名：牛卵子の保存および体外受精胚の低コスト生産

予算区分：県単事業（受精卵移植普及定着化）

研究期間：平成22年度（平成20～22年）

研究担当者：笠正二郎、森美幸、磯崎良寛、山口昇一郎、上田修二