

研究成果情報

令和3年度

胚を生産することが可能なウシ卵子凍結技術		
[要約] <u>凍結卵子</u> の体外受精後の <u>胚発生率</u> を改善し、凍結卵子から胚を生産することが可能となる <u>ウシ卵子凍結技術</u> を確立した。本技術によるウシ卵子の凍結保存は牛の <u>育種改良</u> に有用である。		
新潟県農業総合研究所畜産研究センター 酪農肉牛科	連絡先	TEL 0256-46-3103 FAX 0256-46-4865

[背景・ねらい]

ウシ卵子の凍結保存は、経済的価値の高い雌遺伝資源の長期的な利用に有効である。しかし、これまでのウシ卵子凍結法では、凍結した卵子を融解し、体外受精した後の体外受精胚(胚)への発生率が極めて低いため、この技術を普及させるには、胚発生率の改善が必要である。

そこで、凍結卵子の胚発生率向上を図るため、これまで当センターが実施してきたウシ卵子の培養方法と凍結方法を改良し、胚発生が可能となる新たなウシ卵子凍結技術を確立する。

[内容]

- 1 図1に示す改良法に従ってウシ卵子の培養と凍結を行う。採取した卵子は、耐凍性を向上させるため、L-カルニチンを添加した培養液で成熟培養した後に凍結を行う。卵子の凍結は、耐凍剤およびショ糖の組成を変更した凍結液を用いて行う。凍結保存の後、融解した卵子は、生存率を向上させるため、修復培養を実施する。その後、体外受精した卵子は、胚発生率を向上させるため、L-カルニチンを添加した培養液で胚への発生培養を行う。
- 2 経膈採卵により採取した生体由来卵子を改良法で培養並びに凍結した場合、体外受精後の分割率および胚発生率が従来法より改善される(図2)。
- 3 改良法による卵子凍結技術の確立により、凍結卵子から胚を生産することが可能となる(図3)。

[導入効果]

- 1 凍結したウシ卵子から胚を生産することが可能となる。
- 2 希少系統および高能力雌ウシの遺伝資源を長期的に保存でき、育種改良に有用である。

[導入対象]

経膈採卵により体外胚を生産する開業獣医師

[留意点]

- 1 本データは、黒毛和種経産牛から経膈採卵により卵子を採取し、凍結した場合の結果である。
- 2 凍結する卵子は成熟培養後、卵子周囲の卵丘細胞が1～2層程度残るように剝離している。
- 3 改良法では、卵子凍結用に自作した凍結器具を使用しており、凍結器具あたり7～11個の卵子をまとめて凍結している。

[具体的データ]

図1 改良法と従来法の比較

手順	改良法	従来法
①成熟培養 (22時間)	5% NCS+0.02AU/ml FSH+ 0.6mg/ml L-Car	5% NCS+0.02AU/ml FSH
②卵子凍結	(平衡液:3分) 7.5% EG+7.5% DMSO+20% FBS (凍結液:1分) 15% EG+15% DMSO+0.5M ショ糖+20% FBS (凍結器具) 自作器具	(平衡液:12分) 3% EG+10% NCS (凍結液:1分) 30% EG+1.0M ショ糖+10% NCS (凍結器具) A社市販器具
③卵子融解	(融解液:1分) 0.5M ショ糖+20% FBS (希釈液1:3分) 0.25M ショ糖+20% FBS (希釈液2:5分) 0.125M ショ糖+20% FBS (洗浄液3:5分) 20% FBS	(融解液:5分) 0.5M ショ糖+10% NCS (希釈液1:5分) 0.25M ショ糖+10% NCS (希釈液2:5分) 0.125M ショ糖+10% NCS
④修復培養 (2時間)	5% FBS+0.3M α-Toc+0.2mM Pyr	
⑤体外受精 (6時間)	B社市販培地	B社市販培地
⑥発生培養 (8日間)	5% NCS加CR1aa +0.6mg/ml L-Car	5% NCS加CR1aa

注1 FSH: 卵胞刺激ホルモン L-Car: L-カルニチン EG: エチレングリコール DMSO: ジメチルスルホキシド FBS: 牛胎仔血清 NCS: 新生子牛血清
α-Toc: α-トコフェロール Pyr: ビルビン酸ナトリウム
注2 ①～④はM199溶媒として各種溶質を溶解
注3 下線部は改良した点

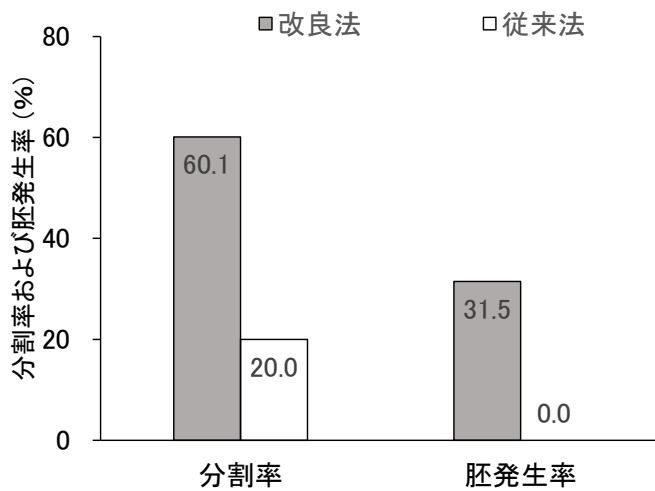


図2 体外受精後の分割率および胚発生率

注 生体内由来卵子を供試

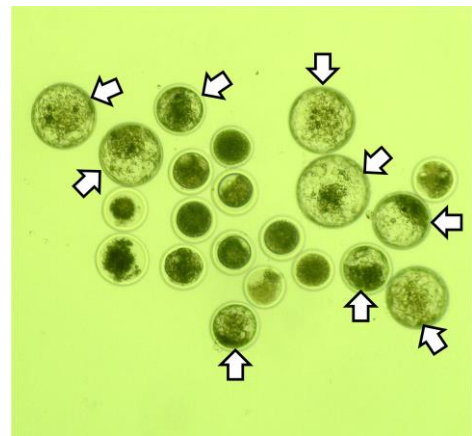


図3 凍結卵子から生産された胚(矢印)

[その他]

研究課題名: 1 ウシ生体由来卵子の最小容量ガラス化法による保存方法の検討

2 エリート子牛をまとめて産出 ～凍結卵子は世代を超えて～

予算区分: 1 県単経常

2 県単政策(創造的研究推進費)

研究期間: 1 平成30年度

2 令和元～2年度

発表論文等: 新潟県農業総合研究所研究報告 No.18 (2021)