

通し番号	4746
------	------

分類番号	26-57-21-17
------	-------------

ヒアルロニダーゼ処理による体内成熟卵子の採取の簡易化	
[要約] 過剰排卵処理後の卵胞から成熟卵子を採取する方法について、従来法は注射針で卵胞液中の膨化した卵丘細胞から卵子を切り出し、酵素法は卵胞液をヒアルロニダーゼ溶液で5分間処理した後に卵子を検索する。卵胞数に対する採取卵率は従来法より酵素法が高く、作業時間は短い、体外受精後の胚盤胞率は従来法が酵素法より高い。	
畜産技術センター・企画指導部・企画研究課	連絡先 046-238-4056

[背景・ねらい]

これまでに、過剰排卵処理後の排卵直前の卵胞から採取した成熟卵子と性選別精液を体外受精することにより多数の性判別胚が生産できることを明らかにした。しかし、成熟卵子を採取する方法は卵子の検索に長時間を要することが課題である。そこで、卵胞液からの卵子採取の簡易化を図るための処理方法を検討する。

[成果の内容・特徴]

- 1 ホルスタイン種経産牛に過剰排卵処理を行い、GnRH投与後25時間に超音波画像診断装置を用いて直径5mm以上の卵胞から卵胞液を採取する(図1)。
- 2 従来法は、採取した卵胞液をシャーレに移して検索し、膨化した卵丘細胞から卵子を注射針(21G)で切り出し、酵素法は、採取した卵胞液にヒアルロニダーゼ溶液(最終濃度0.1mg/ml)を混合し、5分間静置した後にエムコンフィルターでろ過して卵子を検索する。
- 3 採取した成熟卵子は採取後3時間、未成熟卵子は採取後20時間まで培養した後に、45%・60%パーコール液および媒精液で洗浄した性選別精液を用いて媒精する。
- 4 卵胞数に対する採取卵率は従来法より酵素法が高く、作業時間は短い、体外受精後の胚盤胞率は従来法が酵素法より高い。

[成果の活用面・留意点]

- 1 ヒアルロニダーゼ処理の最適な条件については検討していない。

[具体的データ]

0日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	11日	13日	18日
CIDR挿入	主席卵胞除去	9:00	FSH	FSH	FSH	FSH	10:00		
					CIDR除去	GnRH	卵胞吸引	分割検査	発生検査
		17:00	FSH	FSH	FSH	FSH	15:00		
				PG			体外受精		

FSH:8回、計30AU、PG:3ml、GnRH:2ml

図1 過剰排卵処理スケジュール

表1 卵子採取成績

試験区	供卵牛	卵胞数	卵子数	採取卵率(%)	作業時間(分)	成熟卵子	未成熟卵子
従来法	1	6	6	100.0	15	6	0
	2	10	6	60.0	35	6	0
	3	14	10	71.4	83	6	4
	4	17	14	82.4	35	1	13
	5	13	11	84.6	70	7	4
	6	13	10	76.9	61	9	1
	平均		12.2	9.5	79.2	49.8	5.8
酵素法	1	8	7	87.5	10	7	0
	2	19	19	100.0	10	18	1
	3	14	13	92.9	32	10	3
	4	19	18	94.7	15	0	18
	5	23	18	78.3	28	11	7
	6	14	12	85.7	13	12	0
	平均		16.2	14.5	89.8	18.0	9.7

表2 発生成績

試験区	供卵牛	卵子数	卵割率(%)	胚盤胞率(%)	胚盤胞数
従来法	1	6	83.3	50.0	3
	2	6	100.0	100.0	6
	3	8	62.5	62.5	5
	4	13	75.0	23.1	3
	5	11	72.7	45.5	5
	6	9	88.8	44.4	4
	平均		8.8	80.4	54.3
酵素法	1	7	57.1	57.1	4
	2	18	72.2	50.0	9
	3	10	50.0	40.0	4
	4	16	75.0	18.8	3
	5	18	66.7	22.2	4
	6	14	71.4	57.1	8
	平均		13.8	65.4	40.9

[資料名] 平成26年度試験研究成績書

[研究課題名] 経膈採卵牛に対する性選別精液の利用方法の検討

[研究期間] 平成25～26年度

[研究者担当名] 秋山清、坂上信忠、折原健太郎