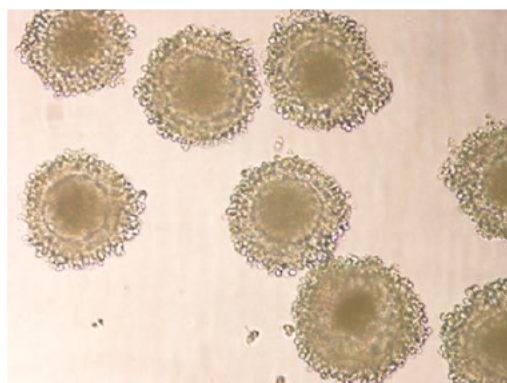


|       |                                  |
|-------|----------------------------------|
| 成果情報名 | ウシ成熟卵子の多層の卵丘細胞の付着は、ガラス化凍結時に有効である |
| 利用対象  | 試験研究機関 (技術・参考)                   |

### 【問題】

黒毛和種（和牛）の肉質は、母子間で強く遺伝する。このため、めす肥育和牛のと畜卵巣の卵子を個別にガラス化凍結し、肉質判明後に胚発生させれば、肉質に優れた胚を選択的に生産できる。しかし、ウシ卵子は低温感受性が高いため、そのガラス化凍結（ガラス化）方法は、ヒトやマウスのように確立されていない。

### 【解決法】



**多層（3層以上）の卵丘細胞（MCCs）が付着したウシ成熟卵子をガラス化させる。**

### 【成果】

|                 | 卵子数 | 分割率 (%)                       | 胚発生率 (%)                      |                               |
|-----------------|-----|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                 |     |                               | 7日目                           | 8日目                           |
| Fresh MCCs区     | 201 | 63.8 ± 4.2 <sup>a</sup>       | 27.4 ± 2.8 <sup>a</sup>       | 37.4 ± 2.3 <sup>a</sup>       |
| Fresh DN区       | 156 | 62.2 ± 5.7 <sup>a</sup>       | 31.9 ± 4.4 <sup>a</sup>       | 36.5 ± 5.1 <sup>a</sup>       |
| Vitrified MCCs区 | 132 | <b>56.7 ± 4.9<sup>a</sup></b> | <b>28.1 ± 3.2<sup>a</sup></b> | <b>35.8 ± 4.2<sup>a</sup></b> |
| Vitrified DN区   | 141 | 35.8 ± 5.7 <sup>b</sup>       | 11.8 ± 1.4 <sup>b</sup>       | 15.5 ± 1.9 <sup>b</sup>       |

MCCs 付着でガラス化した卵子は、新鮮（非ガラス化）卵子と分割率、胚発生率に差が認められない

MCCs を除去してガラス化すれば胚発生率は低下

|   | 卵子数 | 分割率 (%) | 胚発生率 (%) |      | 移植数 | 子牛 |
|---|-----|---------|----------|------|-----|----|
|   |     |         | 7日目      | 8日目  |     |    |
| 1 | 15  | 86.6    | 40.0     | 53.3 | 5   | 1  |
| 2 | 19  | 78.9    | 57.8     | 57.8 | 8   | 2  |
| 3 | 14  | 64.3    | 35.7     | 35.7 | 4   | 1  |
| 4 | 13  | 46.2    | 23.1     | 30.8 | 3   | 2  |

従来法であれば、子牛1頭の生産に約100個のガラス化卵子が必要

MCCs 付着卵子であれば、極めて少数のガラス化卵子からでも子牛ができる

実用性のあるウシ成熟卵子のガラス化手法が完成



枝肉情報を利用した肉質の改良が可能となり  
和牛の遺伝的な肉質の改良効果を高めることができる

### 1. 背景とこれまでの課題

肉質に優れためす肥育和牛の卵巣由来の体外受精卵（体外胚）から生産された産子は、肉質に優れる（2010年度三重畜研）。本成果を活用し、めす肥育和牛のと畜卵巣から卵子を回収、ガラス化凍結（ガラス化）し、肉質判明後に胚発生を行えば、肉質に優れた胚を選択的に生産できる。しかし、ウシの卵子は低温感受性が高いため、そのガラス化方法はヒトやマウスのように確立されていない。

### 2. 成果の概要

#### 【目的】

本試験では、ガラス化、融解時の卵丘細胞の機能に着目し、実用性の高いウシ成熟卵子のガラス化凍結ならびに融解手法を開発した。

#### 【方法】

##### 試験 1

ガラス化時の多層（3層以上）の卵丘細胞（MCCs）の付着が、成熟卵子の胚発生に及ぼす影響を調査した。本試験では、MCCs 付着の成熟卵子（Fresh MCCs 区）、卵丘細胞を除去した成熟卵子（Fresh DN 区）、MCCs 付着状態でガラス化した成熟卵子（Vitrified MCCs 区）および卵丘細胞を除去した状態でガラス化した成熟卵子（Vitrified DN 区）について、融解後の体外胚の分割率ならびに胚盤胞期胚発生率（胚発生率）を調査した。

##### 試験 2

と畜場で個別に採取した卵巣から卵子を回収、MCCs 付着状態でガラス化、融解後に胚発生を行った。生産された体外胚は、ガラス化保存し、融解後にホルスタイン種未経産牛および経産牛に移植、その受胎性を調査した。

#### 【結果】

##### 試験 1

調査の結果、Fresh MCCs 区、Fresh DN 区および Vitrified MCCs 区は、Vitrified DN 区に比べ、分割率および胚発生率で高い値を示した。また、Vitrified MCCs 区は、Fresh MCCs 区と比べ分割率および胚発生率に差が認められなかった。

##### 試験 2

試験 1 の結果に基づき、個別に回収した MCCs 付着の成熟卵子（13～19 個）をガラス化、融解し、生産した胚をガラス化・融解後移植した。以上の結果、供卵牛毎に 1～2 頭の子牛を生産できた。

#### 【まとめ】

MCCs 付着状態でウシ成熟卵子をガラス化、融解すれば、新鮮卵子と差がない胚発生が認められた。また、MCCs 付着状態で卵子をガラス化すれば、極めて少数の卵子からでも子牛の生産が可能である。さらに、本知見を用いれば肉質情報を利用した雌畜からの和牛の育種改良が行える。

### 3. 成果の慣行技術への適合性と経済効果

本知見を利用すれば、今まで失われてきた遺伝資源を回収し、旧来と異なる手法で和牛の肉質の改良が出来る。また、和牛の脂肪交雑は、20年以上の年月をかけて固定されたが、本手法を用いれば、和牛の肉質の新たな指標を固定するまでの期間を短縮できる可能性がある。

### 4. 普及上の留意点

特許膳本を査収済み

問い合わせ先 家畜改良繁殖研究課 主査研究員 石井利通

参考になる資料 J Reprod Dev. 2017 Oct 20. doi: 10.1262/jrd.2017-095.

研究実施予算 畜産関係県経常試験研究費（平成29年度）