

家畜改良センター 技術マニュアル 19

ウシ生体卵子吸引・体外受精マニュアル

独立行政法人 家畜改良センター

はじめに

体外受精技術は、家畜の卵巣から卵子（未成熟卵子）を採取し、これを人工的環境下で成熟、受精させ、移植可能なステージまで発育させる技術である。牛の体外受精技術は、低コストでの胚の大量生産技術として、また、枝肉成績の判明した優良肉用牛の選択的増殖技術として、さらには核移植等の先端技術を行うにあたっての基礎技術として大変重要である。また、乳用牛の育種改良においても、世代間隔を短縮する技術として注目を集めており、平成 16 年度における体外受精胚の移植頭数は 9,525 頭に達した（農林水産省畜産振興課調べ）。

牛の未成熟卵子の採取方法は大きく分けて二通りあり、一つは食肉センターの屠体由来の卵巣から採取する方法。もう一つは Callsen ら¹⁾や Pieterse ら²⁾によって開発された、超音波診断装置を用いることによる生体卵巣からの卵胞卵子の採取法(超音波ガイド・経膻生体卵子吸引法、以下 OPU と略す)である。Callsen ら¹⁾の方法は体表から卵巣を穿刺するものであり、Pieterse ら²⁾の方法は、ヒト卵子の吸引採取法をウシに応用したもので、現在は主に Pieterse らの方法が取り入れられている。本マニュアルにおいても Pieterse らの方法についての手技を説明する。具体的には、7.5MHz の超音波診断装置のプロープに加工を施したものを膻内に挿入し、プロープに装着した吸引針により膻壁を通して卵巣の卵胞を穿刺し、吸引ポンプを接続した吸引針を通して卵胞液ごと卵子を吸引採取するものである。これら OPU で採取した卵子を体外受精（IVF）し、胚を作出する方法（OPU-IVF）は、過剰排卵処理によって正常胚が採取できない供胚牛や 1 頭の供胚牛から多数の胚を効率よく生産する技術として期待されている。

目次

はじめに

体外受精	1
1. 卵巣採取	2
2. 卵子採取・検索	2
3. 成熟培養	7
4. 精子処理	11
5. 媒精	15
6. 発生培養	16
7. 発生培養開始後 48 時間目の操作	17
8. 継続培養	18
9. 体外受精由来胚盤胞の凍結	19
10. 凍結保存胚の融解	23
超音波ガイド・経膣生体卵子吸引技術 (OPU)	26
< 超音波診断装置を用いた卵巣観察 >	26
1. 直腸用のプローブ (リニアタイプ) を用いた卵巣観察	26
・ 卵巣観察におけるイメージ	26
2. 経膣プローブ (コンベックスタイプ) を用いた卵巣観察	29
・ 卵巣観察におけるイメージ・卵巣の映り方、映し方	30
・ 卵巣の保定方法	31
< 卵子吸引 >	34
1. 採卵針の形状および卵胞液の吸引方式	34
2. 膣壁への穿刺	35
3. 卵胞の移動	35
4. 吸引圧	35
5. 連続した卵子吸引	36
6. 複数の卵胞吸引	37
< 生体卵子吸引の実際 >	39
1. 器具機材	39
2. 卵子保存液	39
3. 生体卵子吸引の手順	39
4. 採取液の濾過	41
5. 卵子の検索	44

目次（続き）

各種溶液の調製	45
< 卵子吸引～成熟培養 >	45
< 精子処理～媒精 >	47
< 発生培養 >	55
< 体外受精卵の凍結・融解 >	58
< 培養液全般 >	63
家畜改良センターにおける培養液および試薬一覧	67
参考文献	70
あとがき	71