

成果情報名	体細胞挿入前のPVP処理は体細胞クローン胚作出時の融合率を向上させる
利用対象	試験研究機関(研究・参考)

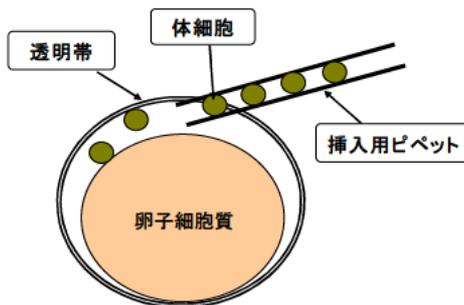
【問題】

体細胞クローン胚作出過程において、核となる体細胞を卵子細胞質と透明帯の間隙に挿入する操作時に体細胞が卵子細胞質に接着しないため電気刺激を加えても卵子と融合しないことが体細胞クローン胚の発生数減少の一原因になっていた。

【解決法】

ポリビニルピロリドン(PVP)は水に溶解すると粘性を示す性質をもち化粧品や錠剤の賦形剤、結合剤として使われている。卵子への体細胞挿入前にトリプシンで単離した体細胞を2%PVP加PBS(-) (以下2%PVP液)で希釈し、体細胞の表面をPVP処理することで卵子細胞質との接着性向上を図った。

卵子への体細胞挿入 (イメージ図)



【成果】

トリプシンで単離した体細胞を2%PVP液(試験区)およびPBS(-)(対照区)で希釈した後、体細胞クローン胚作出に供した。

2%PVP区では卵子と体細胞との接着割合および融合率が有意に向上した(図1、2)。

体細胞クローン胚発生率は2%PVP区で高くなる傾向が見られた(図3)。

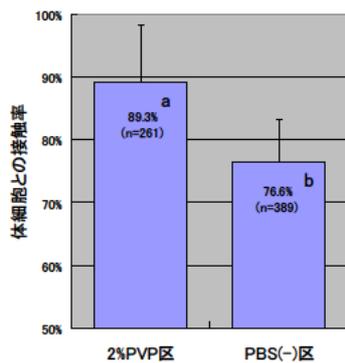


図1 卵子に接触していた体細胞の割合

a,b間に有意差あり (P<0.05)

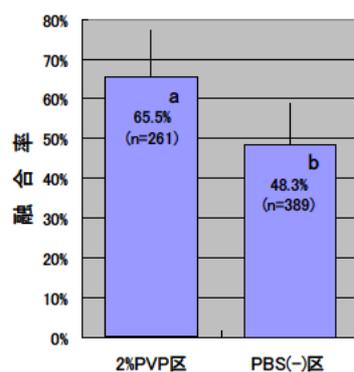


図2 電気刺激後の融合率

a,b間に有意差あり (P<0.05)

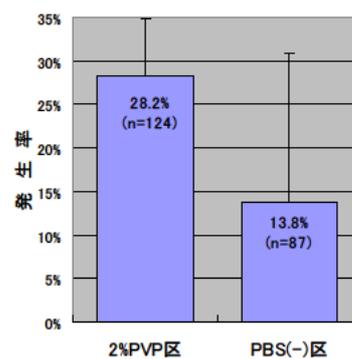


図3 体細胞クローン胚発生率

<p>1. 背景とこれまでの課題</p> <p>体細胞クローン胚作出過程において、核となる体細胞を卵子細胞質と透明帯の間隙に挿入する操作時に、体細胞が卵子細胞質に接着しないため電気刺激を加えても卵子と融合しないことが、体細胞クローン胚の発生数減少の一原因になっていた。</p> <p>また、体細胞を卵子へ挿入する操作時に、体細胞がガラス製挿入ピペットの管壁に付着しやすく、スムーズに挿入操作ができないなどの支障をきたしていた。</p>	
<p>2. 成果の概要</p> <p>トリプシンで単離した体細胞を 2%PVP 液で希釈し、体細胞表面を PVP 処理後、卵子への挿入操作に供した。なお、対照区には PBS(-)で希釈した体細胞を用いた。</p> <p>その結果、2%PVP 区では卵子と挿入した体細胞との接着割合および融合率が有意に向上し (図 1、2)、体細胞クローン胚発生率も 2%PVP 区で高くなる傾向が見られた (図 3)。</p> <p>また、体細胞の挿入時に 2%PVP 液で希釈した体細胞は、挿入用ピペット管壁への付着度合いが軽減し、ピペット管内に多数の体細胞をホールドできた結果 (PBS(-)区では約 10 個の体細胞のホールドが限度、2%PVP 区では約 20 個のホールドが可能)、卵子への体細胞注入操作をスムーズに行うことができ、挿入時間の有意な短縮につながった。</p>	
<p>3. 成果の慣行技術への適合性と経済効果</p> <p>(1) 融合率の向上に伴い発生培養に供する融合卵数が増加し、一操作あたりの体細胞クローン胚作出数が向上した。</p> <p>(2)クローン胚作出操作時間を短縮することで卵子へのダメージを軽減し、高品質な体細胞クローン胚発生率の向上が期待できる。</p>	
<p>4. 普及上の留意点</p> <p>本技術は体細胞クローン技術の研究者に有用な情報と考えるが、日本では体細胞クローン牛肉の販売を自粛している状況にあるため、今後、本技術が農家現場へ普及するには解決すべき課題が多く残されている。</p> <p>解決すべき課題として(1)流産・死産率の低減 (2)出生後の死亡率低減 (3)体細胞クローン家畜の生産物を食品として受け入れられるか?といった消費者の理解 (4)体細胞クローン家畜生産に関する世界的な統一の見解 (5)農家現場におけるクローン技術利用の明確な方向性 など。</p>	
問い合わせ先	家畜改良繁殖研究課 島田浩明 石井利通 梅木俊樹
参考になる資料	平成24年度三重県畜産研究所報告
研究実施予算	畜産業技術開発費 (2008～2012年度)