

動物分野におけるバイオテクノロジー

既に応用されている技術

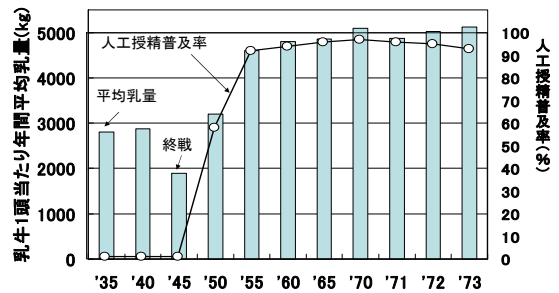
1. 人工授精 (Artificial Insemination)
2. 胚移植 (Embryo Transfer)
3. 胚の凍結保存 (Embryo Freezing)
4. 体外受精 (In Vitro Fertilization)
5. 顕微授精 (Microinsemination)
6. クローニング (Cloning)
割球の分離, 胚の分断
核移植
7. キメラ (Chimeras)

8. 性別別 (Sexing)
 - ①精子による性別別
 - ・フローサイトメトリー
 - ・蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション
 - ・密度勾配遠心法
 - ②卵子による性別別
 - ・細胞組織学的検査 (性染色体)
 - ・PCR法

研究段階または将来の可能性を有する新しい技術

9. 遺伝子移植 (Gene Transfer)
形質転換動物
10. ゲノム解析 (Genomics)
11. 遺伝子マーカー (Genetic Marker)
12. 再生医学 (Regenerative Medicine)
13. 遺伝子診断 (Gene Diagnosis)
14. 遺伝子治療 (Gene Therapy)

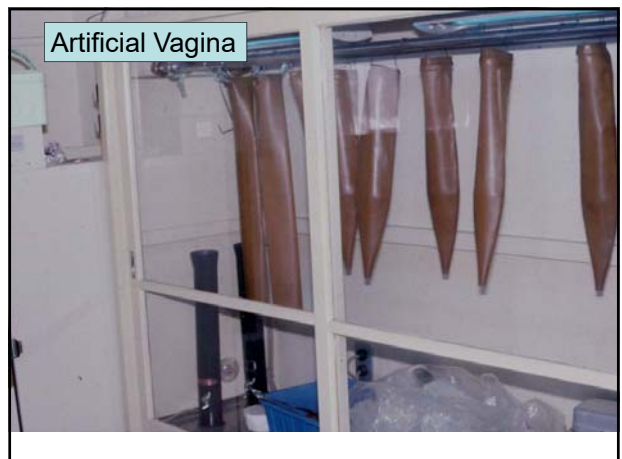
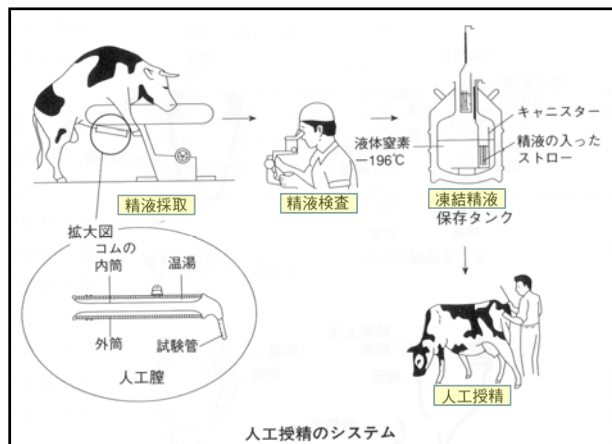
人工授精

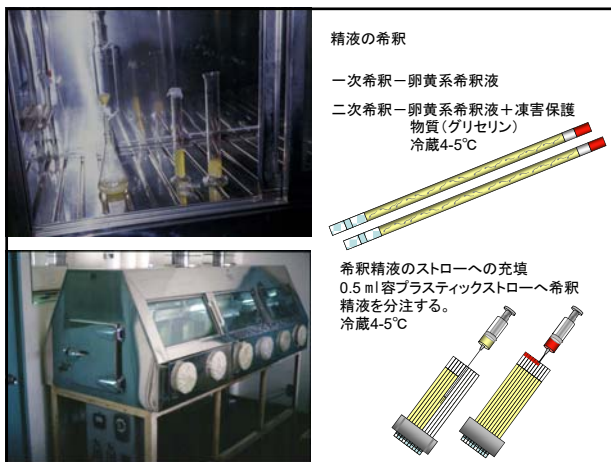
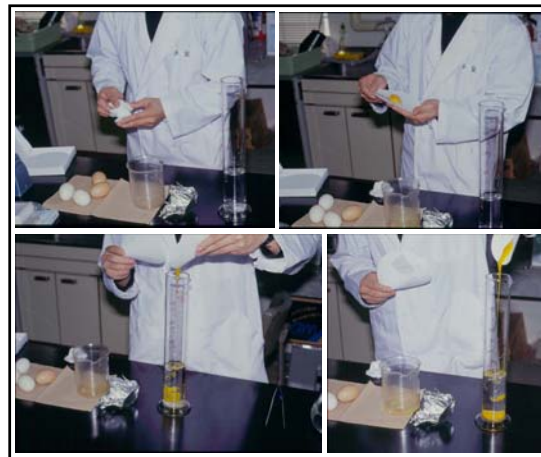


日本における人工授精の普及が乳牛の改良に及ぼした効果

人工授精の効果

1. 優秀な種雄畜の利用効率の増大
(遺伝的改良一致死遺伝子等の望ましくない遺伝子の排除など)
2. 遺伝能力の早期判定
3. 生殖器感染症の蔓延防止





精液希釈 の目的

1. 精液を増量し、多くの雌畜への授精を可能にする。
2. 精子にブドウ糖など代謝可能な基質を供給する。
3. 精子を低温ショックから護る。
4. 乳酸の産生に伴う有害な pHの変動を緩衝する。
5. 精子に適した浸透圧と電解質のバランスを維持する。
6. 精液中に混入する細菌の増殖を抑制する。
7. 精子に耐凍能を与えるためグリセリンなどを添加する。

希釈

- 精液の量を増やす

ウシの精液量	3-10 ml/回
精子数	30×10^8 - 140×10^8 精子
1回の注入精子数	2.5×10^7 精子
人工授精用ストロー数	120 - 560本

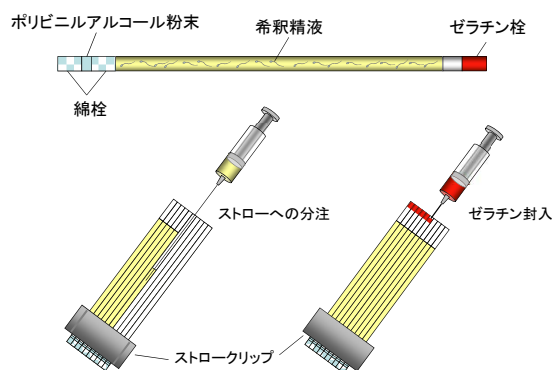
希釈

1. 精子の消耗を防ぎ受精能を良好に保つ
2. 精液の量を増やす

家畜における人工授精の効果

	1 射精の 精液量 (ml)	1 射精の 精子数 (億)	1 授精当たり 必要精子数 (億)	1 射精で 授精可能 頭数
ウ シ	5	65	0.2	325
ブ タ	200	400	10	40
ウ マ	120	180	10	18
ヒツジ ヤギ	1.2	50	0.5	100

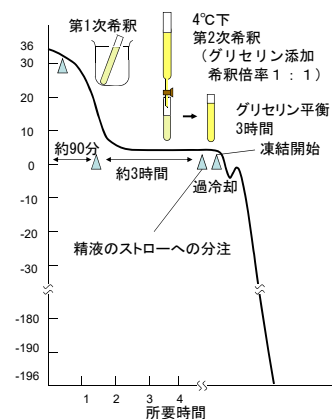
希釈精液のストロー充填

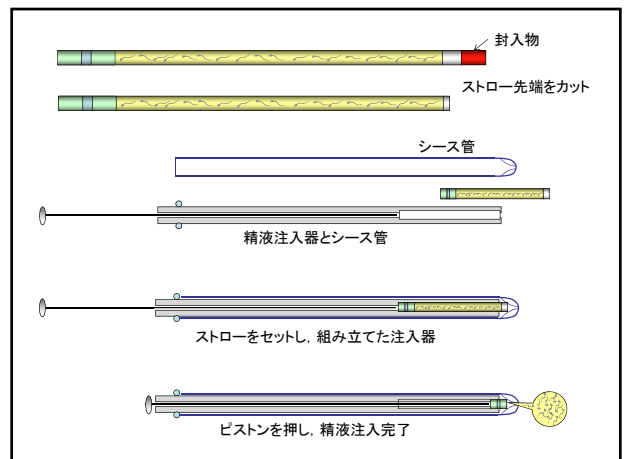
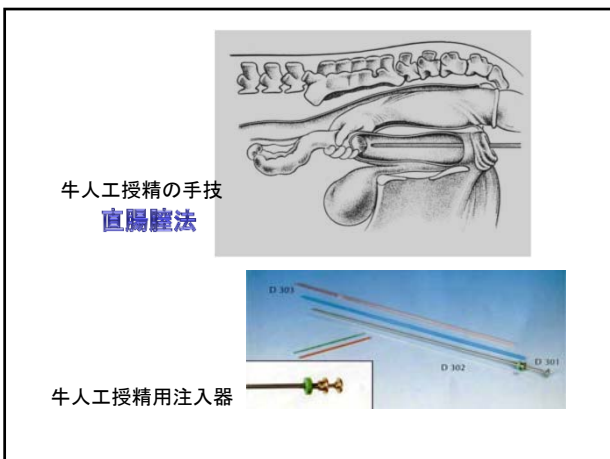
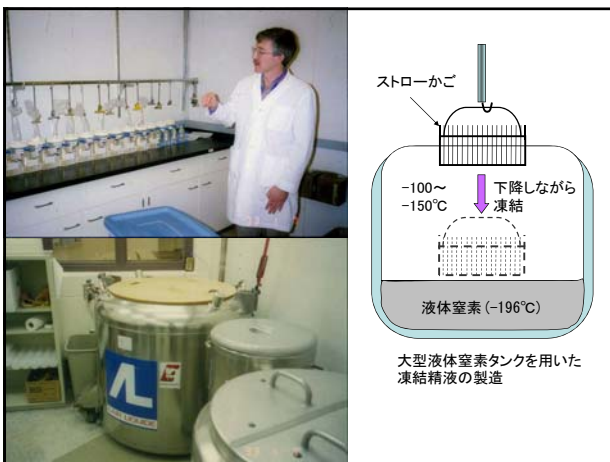


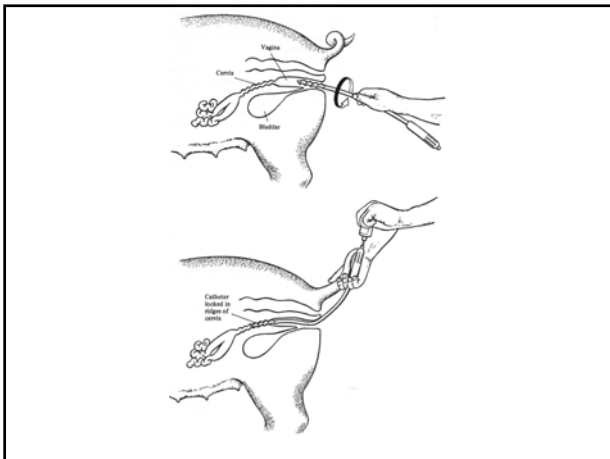
精子の凍結と温度下降曲線

過冷却:

液体がその凝固点以下に冷却されても液相を保っている状態。







希釈

- 精液の量を増やす

ウシの精液量	3-10 ml/回
精子数	30×10^8 - 140×10^8 精子
1回の注入精子数	2.5×10^7 精子
人工授精用ストロー数	120 - 560本

	1射精の精液量(ml)	1射精の精子数(億)	1授精当たり必要精子数(億)	1射精で受精可能頭数
ウシ	5	65	0.2	325
ブタ	200	400	10	40
ウマ	120	180	10	18
ヒツジヤギ	1.2	50	0.5	100

長期凍結保存ウシ精子による人工授精成績

保存期間	人工授精頭数	受胎頭数	受胎率(%)
新鮮精液	252	151	60
1ヵ月	69	41	50
5年	154	86	56
10年	58	29	50
15年	100	54	54
20年	94	64	68
35年	101	59	58

(入谷と西川)

ウシの人工授精, 凍結精液の普及率

	種付総頭数	人工授精頭数普及率(%)	凍結精液による人工授精頭数(%)
乳用牛	1,542,045	1,534,990 (99.5)	1,533,777 (99.9)
肉用牛	689,765	664,110 (96.3)	664,050 (100.0)
計	2,231,810	2,199,100 (98.5)	2,197,827 (99.9)

(農林水産省, 1997)

胚移植

受精卵移植の方法



胚移植技術の利点

1. 優良雌牛から多くの後代が得られる(雌側からの遺伝的改良)。
2. 容易に他品種の産子を得ることができる。
3. 若齢牛や過排卵反応が良くない牛の卵子の利用が可能となる。
4. 種々の体外胚操作や遺伝子工学的手法の導入が可能となる(新技術の導入)。

卵胞卵

哺乳動物における胚移植関連の研究成果

発表者	研究 成 果	動物の種類
Heape (1890)	哺乳動物の最初の胚移植に成功し、子ウサギを生産	ウサギ
Beidl et al. (1921)	ウサギの胚移植試験を追試して成功	ウサギ
Nicholas (1933)	実験小動物を用いて胚移植に成功	ラット
Warwick & Berry (1949)	家畜を用い胚移植に成功し、子畜を生産	ヒツジ、ヤギ
Kvansnickii (1951)	ブタの胚移植に成功	ブタ
Willett et al. (1951)	ウシの胚移植に成功し、子ウシ生産	ウシ
Sugie (1965)	ウシの非外科的な採卵と胚移植で子ウシ生産	ウシ
Alberta Livestock Trans (1971)	最初に家畜の胚移植会社を設立、事業を開始	ウシ
Wittingham (1971)	哺乳動物の胚凍結保存に成功し、正常な子を生産	マウス
Wilmut & Rowson (1973)	家畜の胚凍結保存に成功、子牛生産	ウシ
Oguri & Tsutsumi (1974)	ウマの胚移植に成功	ウマ
Uehara & Yanagimachi (1976)	哺乳動物で初めてのICSIに成功	ハムスター
Stephens & Edwards (1978)	ヒトの体外受精・胚移植に成功、初めての体外受精児	ヒト
Willadsen (1979)	人為的操作による1卵性双子の生産に成功	ヒツジ
Illmensee & Hoppe (1981)	マウスで受精卵の核移植成功、子生産	マウス
Palmiter et al. (1982)	遺伝子操作による動物（スーパーマウス）生産	マウス
Brackett et al. (1982)	ウシで体外受精成功、子牛生産	ウシ
Fahilly et al. (1984)	ヒツジとヤギのキメラ動物生産	ヒツジ、ヤギ
Willadsen (1986)	制球核移植由来のクローン家畜生産	ヒツジ
Smith & Wilmut (1989)	ICM由来のクローン家畜生産	ヒツジ
Ogura et al. (1994)	精子細胞のICSIで産子生産	マウス
Campbell et al. (1996)	ES(株?)細胞由来のクローン家畜生産	ヒツジ
Wilmut et al. (1997)	乳腺細胞由来のクローン家畜生産	ヒツジ

Walter Heape

胚移植 April 27, 1890

産子生産 May 29, 1890

"Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster mother", Proc. R. Soc., London 48, 457, 1891.



目的

- 移植された胚が仮親の子宮内でどのような影響を受けるのか
- 外来の胚が本来の胚の発生に影響を及ぼすのか

1897年

"Further note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster mother", Proc. R. Soc., London 62, 178, 1897-98.

Biedl

Heapeの実験の追試

May 29, 1912

Asdell and Hammond (1930)

ウサギでの胚移植を実施

Nicholas (1933)

ラット2-4細胞期胚を子宮へ移植

供胚雌と受胚雌の同期化について検討

Chang (1950)

発情(排卵)同期化の重要性を報告

Warwick et al. (1933)

ヒツジとヤギ間の種間移植を実施(成功例なし)

Warwick and Berry (1949)

家畜(ヒツジとヤギ)での初の成功例

Willett et al. (1951)

ウシで初の産子誕生

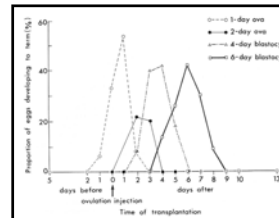


FIGURE 10. Development of transferred ova in blastocysts in relation to ovulation time of recipient. (Reproduced from Chang, M. C., J. Exp. Zool., 114, 197, 1950. With permission.)

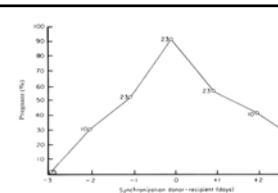


FIGURE 14. Conception rate after the transfer of cow eggs to synchronous or asynchronous recipients. (Reproduced from Rowson, L. E. A., Lanyon, R. A. S., Moore, B. M., and Baker, A. A., J. Reprod. Fert., 28, 427, 1972. With permission.)

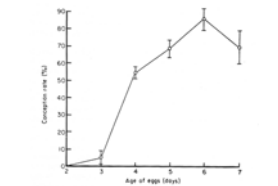
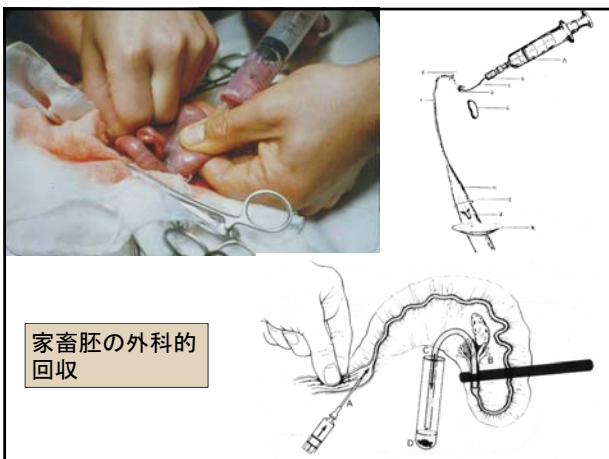
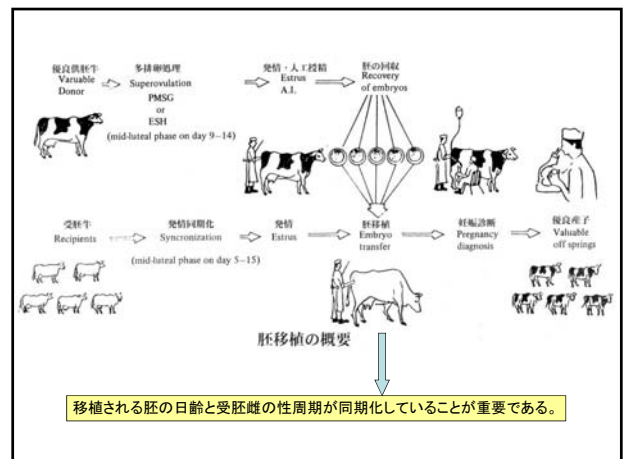
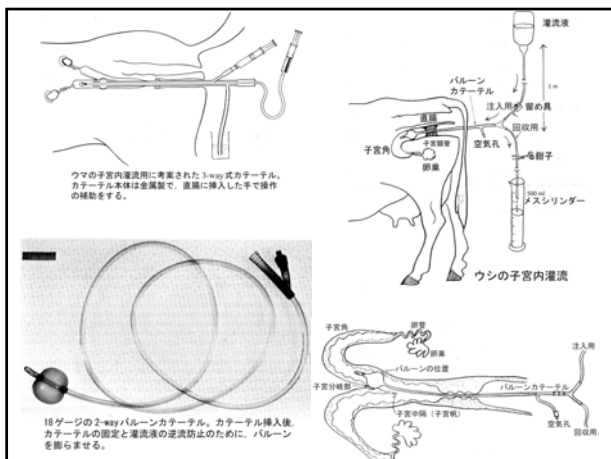
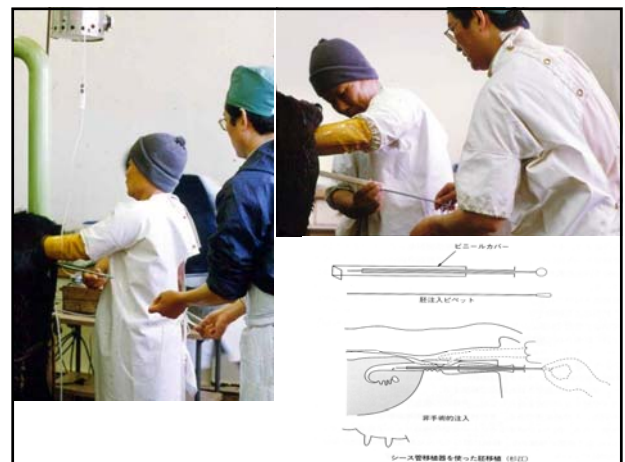
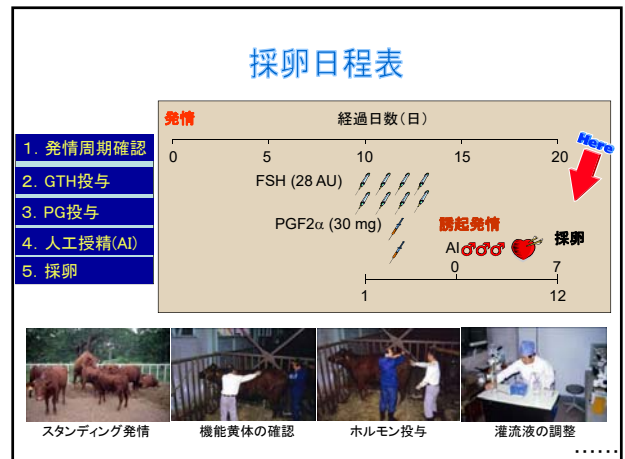
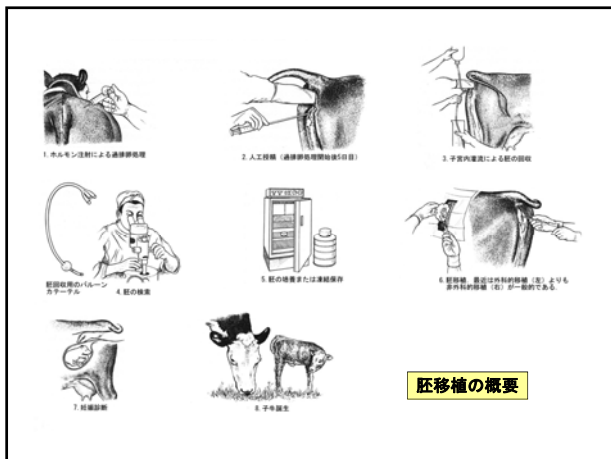


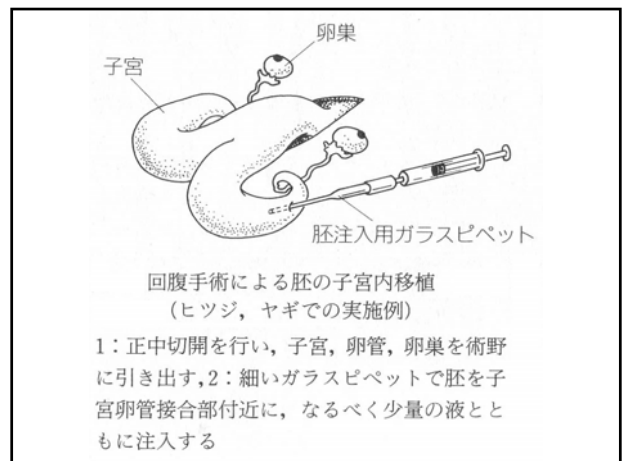
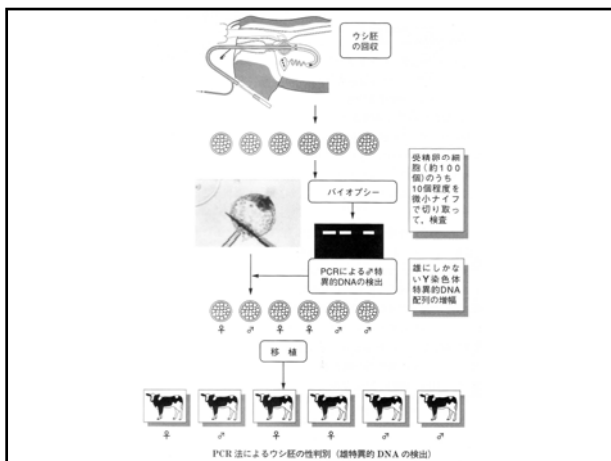
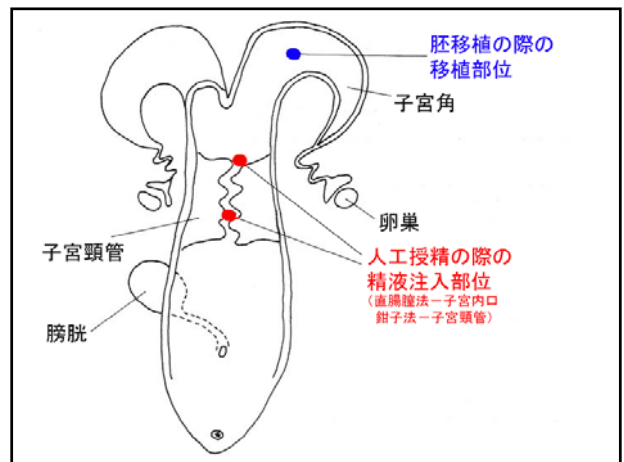
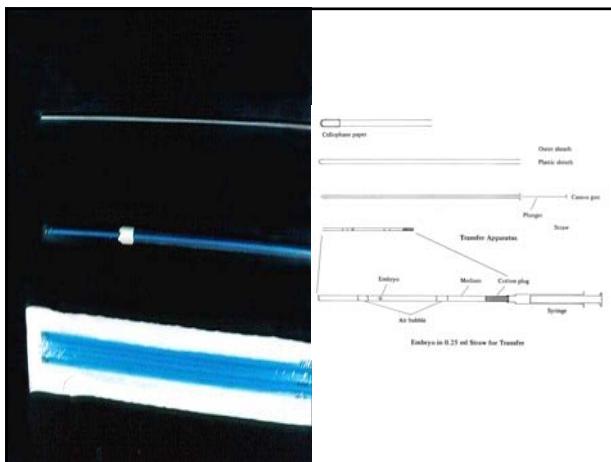
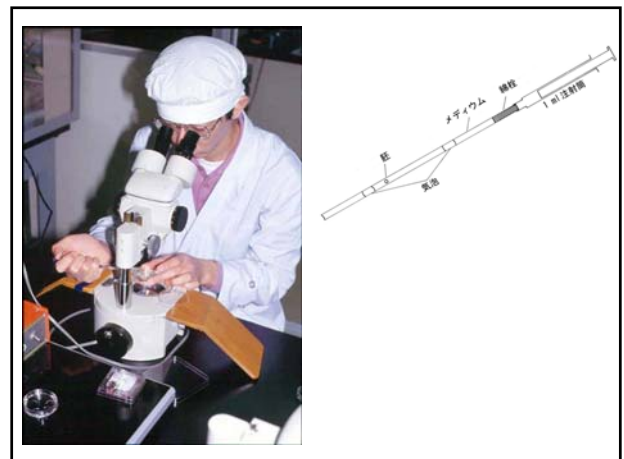
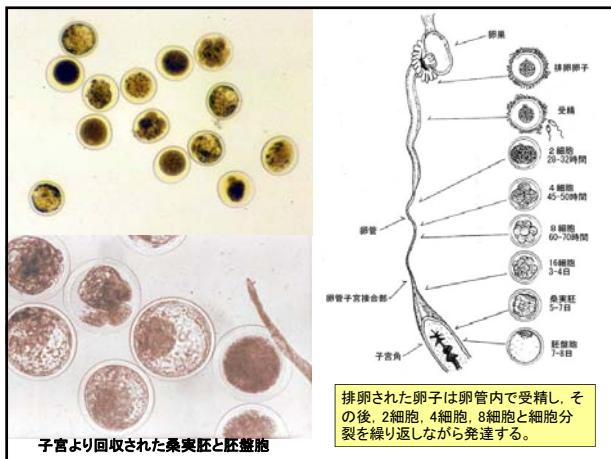
FIGURE 11. Conception rate after the transfer of cow eggs of different ages to see if they were synchronous or out of synchrony by +1 or -1 day. Vertical bars represent SEM. (Reproduced from Rowson, L. E. A., and Rowson, L. E. A., J. Reprod. Fert., 45, 109, 1975. With permission.)

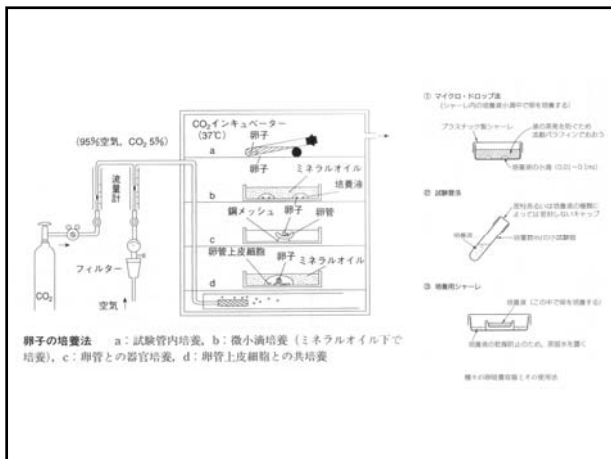


家畜胚の外科的
回収









ウシでの胚（受精卵）移植の効果

1 回の過剰排卵・授精……………10 個
 受精卵回収…………… 7 個
 移植可能胚…………… 5 個
 年間 4 回処置……………20 個
 20 個×60% 妊娠率×8 歳まで

100 頭の子孫（子ウシ）

全世界でのウシの胚移植の概況（単位千頭）*

地 域	新鮮胚	凍結胚	合 計
北アメリカ	100	99	199
ヨーロッパ	60	82	142
ア ジ ア	16	44	60
（うち日本）	(14)	(40)	(54)
南アメリカ	58	35	93
アフリカ	4	2	6
オセアニア	29	15	44
合 計	267	277	544

*体外受精胚を含む（Thibier, 1999）