

## 受精卵課通信 No.10

こんにちは、受精卵課の筒井です。この地に来て早半年。この時期でもう、朝吐く息が白いことに驚き、そうだったここは北海道だったと思い返したりしています。

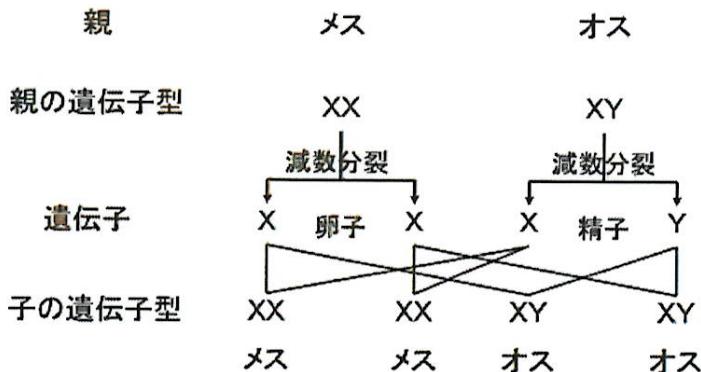
今回は、最近の培養で中々うまくいかなくて悩んでいる、性判別精液を使った体外受精について書かせてもらいます。

体外受精卵でも、性判別精液は使用します。ラボでは8月から、高ゲノムなホルスタインからOPUで卵子を採集し、その卵子にホルスタイン性判別精液を用いて体外受精を行っています。

体外受精で、初めて性判別精液の精子を見た時に、未判別精液に比べてとっても精子量が少ないと、精子一匹一匹の動きが鈍いことに驚きました。この子たち、卵子の中まで入っていけるのかな…と心配にもなりました。その心配は当たってしまい、その時の結果は分割するどころかモノセル（未受精卵）ばかりになってしまった、なんてことがありました。なぜ性判別精液は未判別精液と比べて精子量が少なく、尚且つ元気がないのか？

まず、性別の決定因子や性判別精液のしくみから説明したいと思います。

牛を含め、哺乳類の染色体はX染色体とY染色体の二種類があります。



母のX染色体と父のX染色体が授精してXXとなれば子はメスとなり、母のX染色体と父のY染色体が授精してXYとなれば子はオスとなります。メスはX染色体しか持たないのですが、オスはX染色体とY染色体を持っています。つまり、父側である受精した精子の持つ遺伝型によって決まるのです。オスの精液中に多数で、しかも同数含まれているX精子とY精子を選別すれば雌雄の産み分けが可能になるのです。

X精子とY精子を選別するために世界各国の研究者が研究を進めてきました。主な手法としては、X染色体とY染色体が帯びる電荷の違いや、比重の違いや、DNA量の違いによって選別する考え方です。この中で確立したのが、DNA量の違いに着目した手法です。

1980年代後半に米国農務省のジョンソン博士が開発したX染色体とY染色体のDNA含量の差(3.8%)に着目した唯一再現性の高い選別技術となりました。精液を希釈した後、

染色体を蛍光染料で染色し、それをフローサイトメーター（光学的分離装置）という装置で分離します。DNAが多いほど蛍光が強くなるので、DNA量が多いX精子のほうが強く光ります。強く光った精子に陽荷電を、弱く光った精子に陰荷電をつけます。その後、陽荷電と陰荷電を分離してX精子とY精子を分離するのです。

この方法で用いられるフローサイトメーターの特許使用権は、アメリカのXY社が有しています。この選別の確率は90~95%の確率といわれ、100%ではありません。そのため、性選別のX精子を用いてもオスが生まれることがあります。

では、この技術ではどうして精子数が少なく、活力が落ちてしまうのか？

性判別精液はホルスタインの場合通常精子数は200万で精子数が多いものでも4M(4 Million)といわれ400万です。未判別精液の精子数が約2000万匹に対し、性判別精液の精子数は1/10程です。性判別をするためのDNA量の測定は、精子1匹ずつ行っていくので、精子数が少なくなってしまいます。また、フローサイトメーターを使用して精子に高圧力や電荷をかけるため、精子がダメージを受けてしまい活力が低下してしまうのです。また、フローサイトメーターは高額な機械であること、1本の性判別精液を作るのに時間がかかることから、価格も高騰になってしまいます。

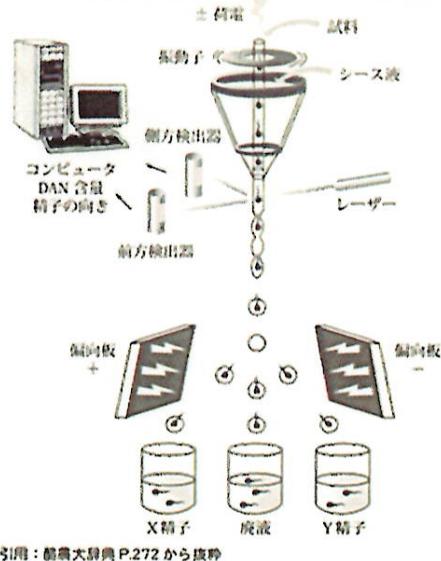
体外受精卵での性判別精液の利用が凡庸化されれば、現状よりもさらに遺伝改良の促進や計画的な個体生産に繋がると思うのですが、前述したような問題点もあるため、なかなか手軽に使用することが出来ない現状です。

先日、広島大学の島田昌之教授らにより、簡便かつ安価な雌雄の産み分け方法の開発が発表されました。発表された方法は、最初に説明したX精子とY精子のX精子にだけ刺激される物質を精液に入れることにより、X精子とY精子を分ける方法です。

この方法は、機械ではなく薬剤により雌雄判別させるため、フローサイトメーター法よりより簡便で安価な技術です。しかし、マウス由来のものであり、ウシへの活用はまだ十分なデータがありません。この方法を体外受精卵で活用し、雌雄の産み分けを思うままにできたのなら、生産現場はまた一步進むのではないかとも思います。そして、本当に今更ですがこんなことして良いのかなあと思う気持ちも少々あったりします。

最後まで見て頂き、ありがとうございました。

図1 フローサイトメーター法



引用：鶴鳴大辞典 P.272 から抜粋

受精卵課 筒井