

マウスへの性周期の同期化と抗インヒビン 血清投与による効果的な過排卵誘起法

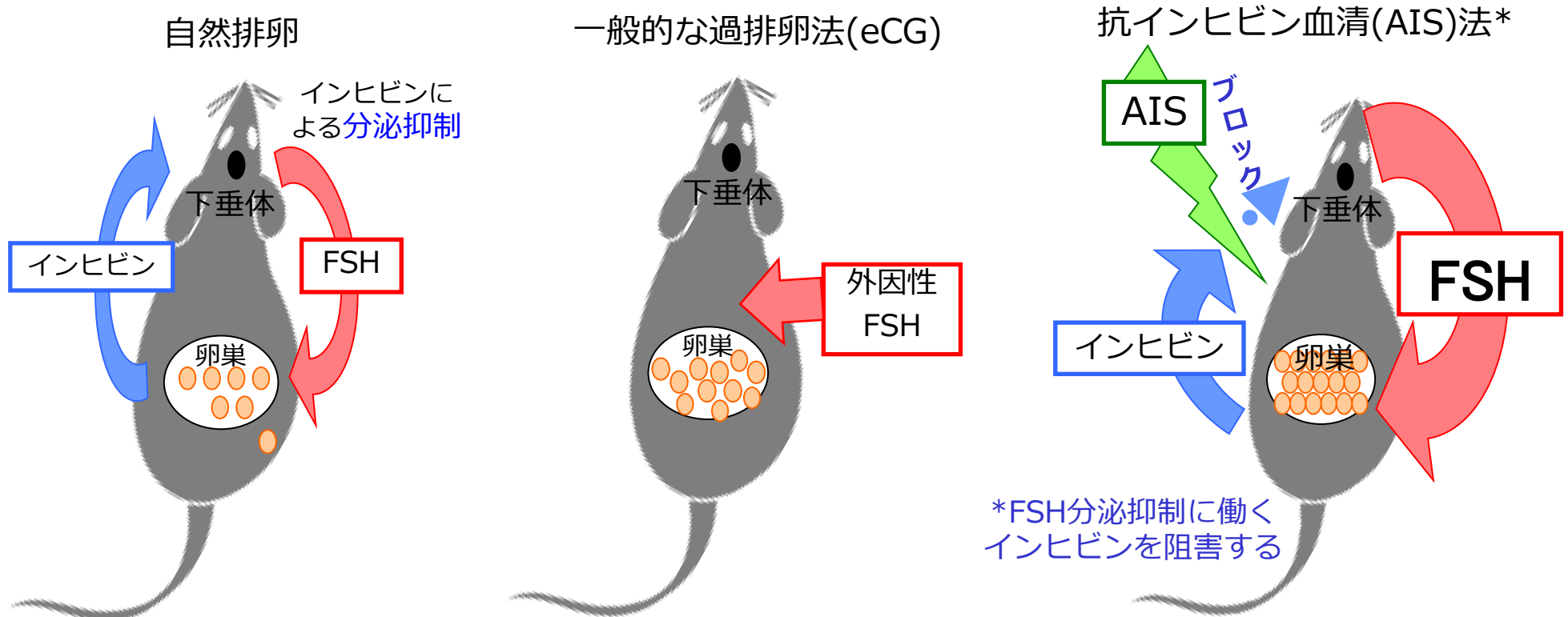
バイオリソース研究センター
統合発生工学研究開発室
繁殖関連技術の紹介 #4

目次

- 説明 1. (抗インヒビン血清)
- 説明 2. (過排卵効果)
- 試薬調製
- 方法
- 参考データ 1. 抗インヒビン血清-hCG投与による過排卵成績
- 参考データ 2. 発情周期の排卵数への影響と効果的な投与方法
- 参考データ 3. 各マウス系統および高週齢マウスでの過排卵効果
- 参考文献
- 作成者

説明 1. (抗インヒビン血清)

- 一般的な過排卵法は外因性のFSHであるが、抗インヒビン血清は内因性のFSHを増大させ、多くの正常な卵子獲得が期待できる。



説明 2 . (過排卵効果)

- プロゲステロン投与による性周期の同期化と、抗インヒビン血清-hCG投与の組み合わせで、過排卵がより効果的になった。
- 本法は、様々なマウス系統、性成熟後の幅広い週齢に効果的であり、希少マウスからも効率的に受精卵や産子の獲得が可能となった。
- 生殖・発生工学技術の効果が3-4倍にアップし、使用動物数の大幅削減が可能となった。

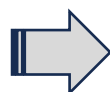
試薬調製

- プロゲステロン溶液
(25 mg/mL)

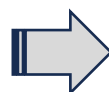
プロゲステロン：富士フィルム和光純薬(株) code#160-24511
ゴマ油(非焙煎) (25g)：富士フィルム和光純薬(株) code#192-15382



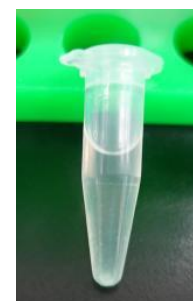
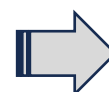
プロゲステロン秤量
25 mg



ゴマ油(1 mL)を添加
してピペッティング



加温溶解
(37°C)



加温15分後
沈殿(+)



加温30-40分後
沈殿(-)

ピペッティングして
完全に溶解させる

※溶解後は再析出を防止のため、インキュベーターなど**37°Cで保管**する

- 抗インヒビン血清 (AIS)：セントラルリサーチ(株)

冷凍品を一度融解して小分けし、再度冷凍しておく。再融解したものは使い切る。

- ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)：あすか製薬(株)、ゴナトロピン

生理食塩水で溶解(50IU/mL)して、1mLシリンジに詰めて、そのまま冷凍しておくと便利。

方法

◆ 投与スケジュール

日程	6日前	5日前	4日前	3日前	2日前	1日前	0日
投与	P4	P4	—	AIS	—	hCG	排卵

◆ 投与内訳

1. 性周期同期化

排卵予定日（体外受精を行う日）の**6日前と5日前の2日間**、
16-18時にプロゲステロン(P4: 2mg/0.08 mL/匹)を、背側皮下に投与する。

2. 抗インヒビン血清の投与

排卵予定日（体外受精を行う日）の**3日前**、

更に排卵数を期待する
場合は**4日前も**

17-18時に抗インヒビン血清(AIS: 0.1 mL/匹)を、腹腔内に投与する。

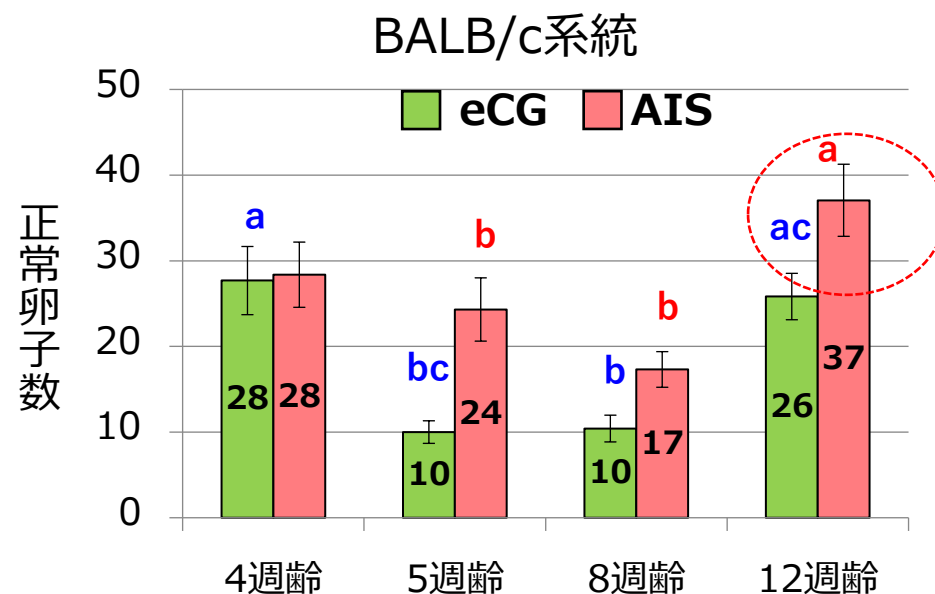
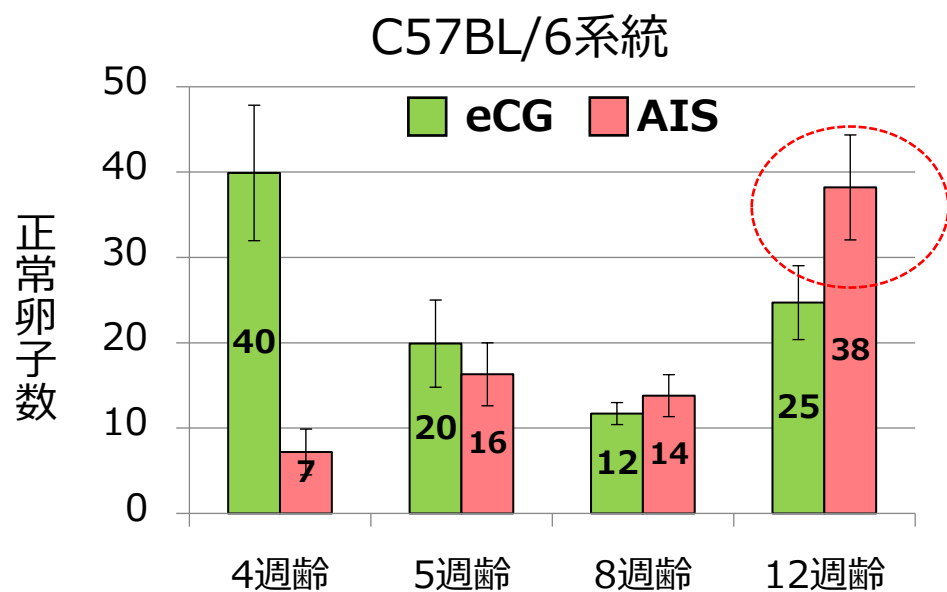
3. hCG（ヒト絨毛性ゴナドトロピン）の投与

排卵予定日（体外受精を行う日）の**1日前**、

17-18時にhCG(5~7.5IU/匹)を、腹腔内に投与する。

参考データ

1. 抗インヒビン血清（AIS）-hCG投与による過排卵成績



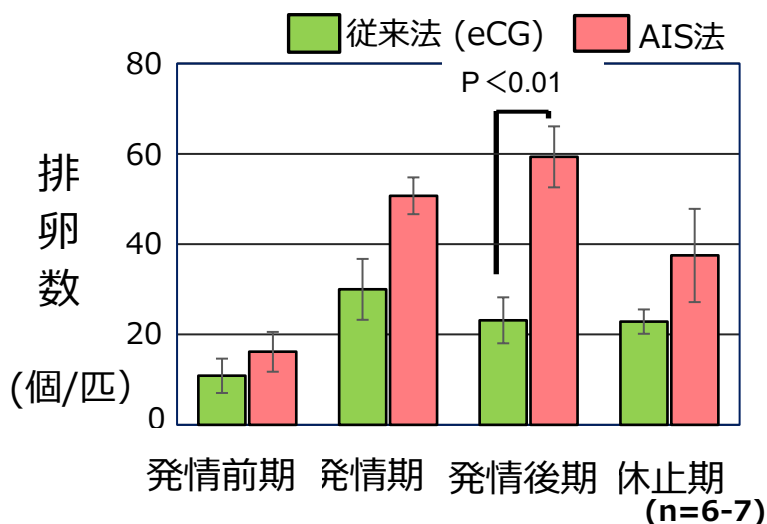
【結果】

- C57BL/6系統とBALB/c系統共に、性成熟後のAIS投与が効果的だった。

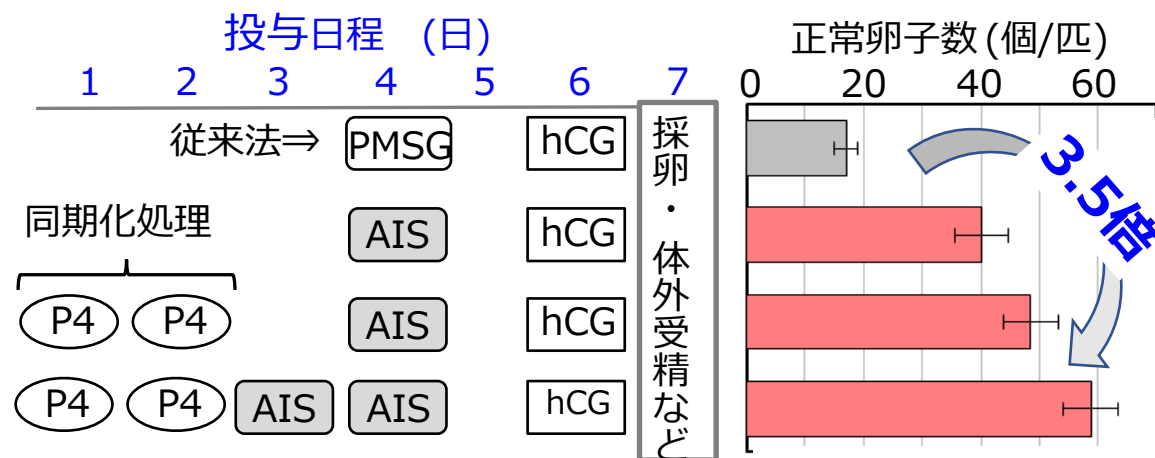
参考データ

2. 発情周期の排卵数への影響と効果的な投与方法 C57BL/6J (10~14週齢)使用

《発情周期と過排卵の効果》



《投与方法と過排卵の効果》

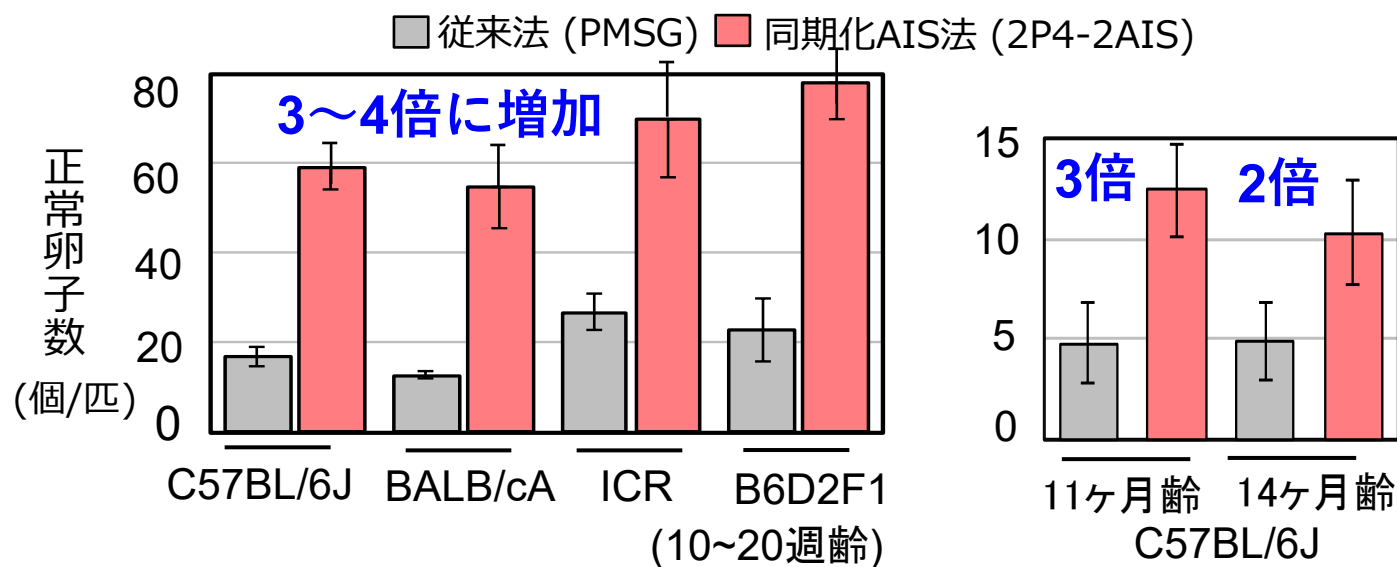


【結果】

- AISは発情後期に投与すると最も過排卵効果が大きかった。
- 性周期同期化とAIS投与を併用することで、排卵数が増加した。

参考データ

3. 各マウス系統および高週齢マウスでの過排卵効果



【結果】

- 様々なマウス系統で正常卵子数が3~4倍に増加した。
- 高週齢マウスからも正常卵子数が2~3倍に増加した。

参考文献

- Wang H, Herath C. B. Xia G. Watanabe G. and Taya.
[Superovulation, fertilization and in vitro embryo development in mice after administration of an inhibin-neutralizing antiserum](#)
Reprod. 122: 809-816, 2001. doi: 10.1530/rep.0.1220809
- Hasegawa A, Mochida K, Inoue H, Yoshihiro N, Tamao E, Watanabe G and Ogura A.
[High-yield superovulation in adult mice by anti-inhibin serum treatment combined with estrous cycle synchronization.](#)
Biol. Reprod. 94(1): 1–8, 2016. doi: 10.1095/biolreprod.115.134023

作成者

- 統合発生工学研究開発室
- 質問などの連絡先
 - 持田慶司：keiji.mochida@riken.jp
 - 守田昂太郎：kohtaro.morita@riken.jp