

ブタ初期胚の発生に伴うライソソーム様小体の分布変化

山崎祥子¹・新村末雄^{2*}

(平成20年6月20日受付)

要約

体外で受精させたブタの卵子および受精後培養して発生させたブタの初期胚について、ライソソーム様小体 (LB) の分布が受精および発生に伴ってどのように変化するかをアクリジンオレンジ染色によって調べた。また、人為的に活性化して発生させた単為発生ブタ胚についても、発生に伴う LB の分布変化を調べ、受精卵子から発生した胚のものと比較した。

媒精後あるいは活性化と2倍体化の処置後6ないし32時間の卵子において、LBは、表層を除く細胞質に分布しており、中心部の分布密度は低かった。また、媒精後あるいは活性化と2倍体化の処置後培養して発生させた受精胚と単為発生胚の両者において、LBは、2ないし8細胞期では、割球の核周囲の細胞質に多数分布していたが、桑実胚期と胚盤胞期では、外側の扁平割球あるいは栄養膜細胞では核の側部から上部の細胞質に多数、内側の球形割球あるいは内細胞塊細胞では細胞質全域に多数、それぞれ分布していた。

以上の結果から、ブタ卵子のLBは、受精あるいは活性化の処置を施しても卵割するまでは分布変化を起ささないことが確かめられた。また、ブタの受精胚と単為発生胚におけるLBの分布変化は、割球の変形あるいは分化と関係のあることが推察された。

新大農研報, 61(1):35-39, 2008

キーワード：ブタの卵子と初期胚、ライソソーム様小体の分布、アクリジンオレンジ染色、単為発生胚、受精と発生

一般に、体細胞の細胞質にはライソソーム様小体 (LB) と呼ばれる細胞内消化に役割を果たす小器官が存在することが知られている。发育過程の卵母細胞および発生過程の初期胚がLBを含有していることは、電子顕微鏡観察 (Hillman と Tasca, 1969; Calarco と McLaren, 1976; Grant ら, 1977; Hegele-Hartung ら, 1988; Kuryszko と Marcinkowski, 1989; Sathananthan ら, 2006) や酸ホスファターゼ活性の酵素組織化学的観察 (Mulnard, 1965; Smith と Wilson, 1971; 石田, 1972) によって多くの哺乳動物で確かめられている。しかし、これらの報告では、LBの存在やLBの形態と数が卵母細胞の发育および初期胚の発生過程でどのように変化するかを観察しており、分布の変化については詳細に調べられていない。

初期胚に存在するLBは、割球の変形に伴って分布変化を起すことがアクリジンオレンジ (AO) 染色によって確かめられている (Niimura と Jinguu, 1996; 1997)。すなわち、LBは、1細胞期から8細胞期までのハムスター胚では、割球の細胞質全域に多数分布しているが、コンパクションを起こした8細胞胚では、内側の球形割球では細胞質全域に多数、外側の扁平割球では主として核の周囲に少数、それぞれ分布していたといわれている。また、胚盤胞では、LBは、内細胞塊細胞の細胞質全域に多数、栄養膜細胞の核周囲に少数分布していたという (Niimura と Jinguu, 1996)。さらに、LBの分布は、マウス、ラット、ウサギおよびウシの胚盤胞形成過程の胚でもAO染色によって観察されている (Niimura と Jinguu, 1997)。それによると、LBは、マウス、ウサギおよびウシのコンパクションを起こした桑実胚では、内側の球形割球では細胞質全域に多数分布しているが、外側の扁平割球 (マウス) あるいは立方形の割球 (ウサギとウシ) では、核の側部から下部の細胞質に少数分布していたという。また、ラットの桑実胚では、LBは、内側

の球形割球では細胞質全域に多数、外側の扁平割球では核上部の細胞質表層に柱状に少数凝集して分布していたという。これらの動物の胚盤胞において、LBは、内細胞塊細胞では細胞質全域に多数、栄養膜細胞では核周囲に少数分布しており、動物種による相違はみられなかったといわれている。このように、初期胚に存在するLBの分布は、動物種によって異なっているものの、割球の変形あるいは分化に伴って変化することは間違いない事実のように思われる。

一方、哺乳動物において、単為発生は各種の物理的および化学的な刺激によって誘起できるが、単為発生胚の発生能は受精胚に比べて低いことが知られている (Whittingham, 1980)。単為発生胚の低発生能の原因として、細胞機能の低さ (Solter ら, 1974; Petzoldt と Hoppe, 1980; 新村と浅見, 1997a; Niimura と Asami, 1997) や父系ゲノムのインプリンティングの欠如 (Surani と Barton, 1983; Mann と Lovell-Badge, 1984; Surani ら, 1986) などが考えられている。また、単為発生胚盤胞の細胞数は受精卵子から発生した胚盤胞に比べて少ないことも調べられており (Whittingham, 1980; Kaufman, 1981; 新村と浅見, 1997b)、単為発生胚の割球分化が受精胚のものと同様に起こっているのか否かは不明である。

本研究は、体外で受精させたブタの卵子および受精後培養して発生させたブタの初期胚について、LBの分布が受精および発生に伴ってどのように変化するかをAO染色によって調べたものである。また、人為的に活性化して発生させたブタの単為発生胚についても、発生に伴うLBの分布変化を、AO染色によって調べ、受精卵子から発生した胚のものと比較したものである。

¹新潟大学大学院自然科学研究科

²新潟大学農学部

*代表著者：niimura@agr.niigata-u.ac.jp

材料および方法

卵母細胞の採取と体外成熟

屠場で採取したブタの卵巣を、39℃に保温した 0.9%生理食塩水に入れて速やかに研究室に持ち帰り、0.9%生理食塩水 500ml 中にペニシリン G カリウム (明治製菓) を 100,000 単位含む液で洗浄した。次いで、卵丘・卵母細胞複合体 (COC) を、直径 3 ないし 5 mm の小型胞状卵胞から 21G の注射針を取り付けた 10ml のシリンジで吸引採取した。採取した COC は、リン酸緩衝塩類溶液 (PBS, pH7.4) (Dulbecco と Vogt, 1954) で数回洗浄した。次いで COC を、10%ウシ胎血清 (FBS; Invitrogen, U.S.A.)、10%ブタ卵胞液 (PFF)、10,000 IU./l PMSG (セロトロピン, 帝国臓器)、10,000 IU./l hCG (ゴナトロピン, 帝国臓器)、0.01% (w/v) ビルビン酸ナトリウム、0.055% (w/v) グルコース、0.009% (w/v) 乳酸カルシウム、100,000 IU./l ペニシリン G カリウム (明治製菓)、0.01% ストレプトマイシン (明治製菓) および 0.001% (w/v) エストラジオール 17 β (Sigma Chemical Co., U.S.A.) を含む TCM-199 (GIBCO BRL, U.S.A.) (Yoshida ら, 1990) で数回洗浄し、表面をミネラルオイルで覆った同種培養液中で、39℃で CO₂ 5%、空気 95%の気相下で培養した。

培養には、4well dish (Nunc, Denmark) を使い、1well に 50 個の COC を入れるとともに、1well あたりの培養液の量は 500 μ l とした。

体外受精

受精に伴う LB の分布変化を調べるために、44 時間培養して成熟させた卵母細胞に媒精した。すなわち、新鮮射出精子を、0.1% BSA (Sigma Chemical Co.)、75 μ g/ml ペニシリン G カリウム (明治製菓)、50 μ g/ml ストレプトマイシン (明治製菓) を含む PBS で 3 回洗浄して受精能獲得処置を施した。この処置を施した精子は、 1×10^6 個/ml の濃度になるように体外受精用培養液 (Kikuchi ら, 2002) で希釈した。体外受精用培養液の組成は、90mM NaCl、12mM KCl、25mM NaHCO₃、0.5mM NaH₂PO₄、0.5mM MgSO₄、10mM 乳酸ナトリウム (ナカライテスク)、10mM HEPES (和光純薬)、8 mM CaCl₂、2 mM ビルビン酸ナトリウム (和光純薬)、2 mM カフェイン (和光純薬) および 0.2% BSA である。媒精は、この精子懸濁液のドロップに体外成熟させた卵母細胞を移し、CO₂ 5%、空気 95%の気相下で、39℃で 6 時間培養して行った。なお、媒精に用いた精子の最終濃度は 1×10^5 個/ml である。媒精後、卵母細胞を 0.1% のヒアルロニダーゼ (Sigma Chemical Co.) を含む発生用培養液に浸漬し、ピペット操作により卵母細胞周囲の卵丘細胞を除去した。

単為発生の誘起

単為発生を誘起するために、44 時間培養して成熟させた卵母細胞に活性化と 2 倍体化の処置を施した。すなわち、成熟培養した COC を 0.1% のヒアルロニダーゼ (Sigma Chemical Co.) を含む PBS に浸漬し、ピペット操作により卵母細胞周囲の卵丘細胞を除去した。卵丘を除去した卵母細胞を、7.0% エタノール (和光純薬)、5mM カフェイン (和光純薬) および 0.3% BSA (Sigma Chemical Co.) を含む BO 液 (Brackett と Oliphant, 1975) に、室温で 7 分間浸漬して活性化処置を行った。次いで、BO 液 1 ml 中に 5 μ g のサイトカラシン B (Sigma Chemical Co.) を含む液に、39℃で 6 時間浸漬して 2 倍体化の処置を施した。

受精卵母細胞および活性化卵母細胞の培養

発生に伴う LB の分布変化を調べるために、受精後あるいは活性化と 2 倍体化の処置後の卵母細胞を、ミネラルオイルで覆った発生用培養液中で CO₂ 5%、空気 95%の気相下で、39℃で 8 日間培養した。使用した発生用培養液は、媒精後および活性化と 2 倍体化の処置後 6 時間から 2 細胞期までは、2.73mM 乳酸ナトリウム、0.17mM ビルビン酸ナトリウムおよび 0.4% BSA を含む NCSU37、2 細胞期から 8 細胞期までは、5.55mM グルコース (和光純薬) および 0.4% BSA を含む NCSU37、8 細胞期から胚盤胞期までは、5.55mM グルコースおよび 10% FBS を含む NCSU37 である (Kim ら, 2004; Medvedev ら, 2004)。

観察に用いた卵母細胞は、媒精後および活性化と 2 倍体化の処置後 6、12、24 および 32 時間のもので、胚は、媒精後および活性化と 2 倍体化の処置後 48 時間の 2 細胞期、72 時間の 4 細胞期、96 時間の 8 細胞期、120 時間の桑実胚期、144 および 168 時間の胚盤胞期のものである。

LB の分布観察

LB の分布を観察するために、卵母細胞と初期胚を、25mM HEPES および 0.3% BSA を含む EBSS (mEBSS) (Earle, 1943) で洗浄した後、0.2% プロテアーゼ (Sigma Chemical Co.) を含む mEBSS に浸漬し、透明帯を溶解した。透明帯を溶解した卵母細胞と胚を、mEBSS で 3 回洗浄し、mEBSS 100ml に 500 μ g の AO (MERCK, Germany) を含む液に、室温で 5 分間浸漬して染色した。染色後、卵母細胞と胚を、mEBSS で 3 回洗浄し、mEBSS の小滴とともにあらかじめワセリン・パラフィンのスポットをカバーガラスの四隅に位置するように置いたスライドガラスの中央に移し、カバーガラスをかぶせて静かに押した。観察と写真撮影は落射蛍光顕微鏡装置で行った。なお、退行した卵母細胞と胚は観察から除外した。

結果

卵母細胞の受精あるいは活性化に伴う LB の分布変化

媒精後あるいは活性化と 2 倍体化の処置後 6 ないし 32 時間の卵母細胞に AO 染色を施すと、卵母細胞の細胞質に LB の存在を示す橙色の蛍光顆粒が出現した。媒精後のいずれの時間の受精卵母細胞および活性化と 2 倍体化の処置後のいずれの時間の卵母細胞においても、LB は表層を除く細胞質に分布していたが、中心部の分布密度は低かった (図 1a)。

初期胚の発生に伴う LB の分布変化

媒精後あるいは活性化と 2 倍体化の処置後発生させた 2 細胞期ないし胚盤胞期の受精胚と単為発生胚に AO 染色を施すと、いずれの発生時期の胚においても、LB は、割球あるいは細胞の細胞質に橙色の蛍光顆粒として観察された。2 ないし 8 細胞期の受精胚および単為発生胚において、LB は、各割球の核周囲の細胞質に多数分布していた (図 1b-d)。桑実胚期の受精胚および単為発生胚において、外側の割球は扁平に変形していたが、内側の割球は球形のままであった。一方 LB は、外側の扁平割球では核の側部から上部の細胞質に多数、内側の球形割球では細胞質全域に多数、それぞれ分布していた (図 1e)。受精胚胚盤胞と単為発生胚盤胞において、LB は、栄養膜細胞では核の側部から上部の細胞質に多数、内細胞塊細胞では細胞質全域に多数、それぞれ分布していた (図 1f)。このような受精胚盤

胞と単為発生胚盤胞における LB の分布は、初期と拡張期の間で相違なかった。

考察

既述のように、LB の分布がハムスター、マウス、ラット、ウサギおよびウシの初期胚で調べられており、すべての動物種で、LB は割球が変形する時期に分布が変化することから、LB の分布と割球の変形あるいは分化とは関係のあることが示唆されている (Niimura と Jinguu, 1996; 1997)。しかしこれまでに、ブタの卵子と発生初期胚に存在する LB の分布が、受精あるいは発生に伴ってどのように変化するのかは調べられていない。

本研究において、体外で成熟させたブタ卵子の受精に伴う LB の分布変化を AO 染色によって調べた。その結果、LB は、媒精後 6 ないし 32 時間までの卵子において、表層を除く細胞質に分布しており、中心部の分布密度は低いことが確かめられた。一方、体外で受精させて発生させた初期胚において、LB は、割球が変形を起こす前の 8 細胞期までは、各割球の核の周囲の細胞質に多数分布していたが、割球が変形した桑実胚期では、変形割球と球形割球の間で分布に相違がみられた。すなわち、LB は、外側の扁平割球では核の側部から上部の細胞質に少数、内側の球形割球では細胞質全域に多数、それぞれ分布するようになった。また、LB は、胚盤胞の栄養膜細胞では核の側部から上部の細胞質に少数、内細胞塊細胞では細胞質全域に多数、それぞれ分布することも確かめられた。これらのことから、ブタの初期胚においても、他の哺乳動物の初期胚と同様に、LB の分布は割球が変形する時期に変化することが確かめられ、LB の分布変化と割球の変形あるいは分化との間には関係のあることが示唆された。

一方、単為発生胚の発生に伴う LB の分布変化がマウスで調べられている (新村ら, 1998)。それによると、LB の分布は、桑実胚期までは単為発生胚と受精胚との間で相違なく、8 細胞期までの胚では、各割球の細胞質全域に一樣に分布しているが、コンパクションを起こした 8 細胞期および桑実胚期の胚では、外側の扁平割球では主として核周囲の細胞質に少数、内側の球形割球では細胞質全域に多数、それぞれ分布していたという。一方 LB は、単為発生胚盤胞では、内細胞塊細胞と栄養膜細胞の細胞質全域に多数分布していたが、受精胚盤胞では、内細胞塊細胞の細胞質全域に多数、栄養膜細胞の核周囲に少数分布している程度であったといわれており、LB の分布は、受精胚盤胞と単為発生胚盤胞との間で異なっていたという。このことから、単為発生胚では割球の分化が受精胚と同様に起こっておらず、このことが単為発生胚の低発生能の要因の一つとも考えられる。しかしこれまでに、単為発生胚の発生に伴う LB の分布は、マウスで調べられている程度で、それ以外の動物では調べられていない。

本研究において、ブタの活性化卵子と単為発生胚について、LB の分布が活性化後の時間経過ならびに発生に伴ってどのように変化するのかを AO 染色によって調べた。その結果、LB は、活性化後 6 ないし 32 時間までの卵子において、表層を除く細胞質に分布していたが、中心部の分布密度は低く、媒精後の卵子と同様の分布を示すことが確かめられた。また、各時期の単為発生胚においても、LB の分布は、受精胚のものと同様であることも確認された。従って、LB の分布変化から考えると、ブタの単為発生胚では、割球の変形と分化は、受精胚のものと同様に起こっていることが推察された。なお LB の分布は、ブタの単為発生胚盤胞と受精胚盤胞の間で相違ないことも本研究

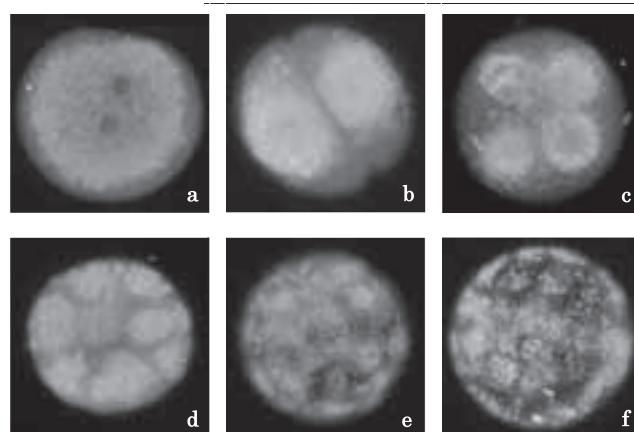


Fig. 1. Whole mount preparations of porcine egg and embryos with a magnification of $\times 150$ under an epifluorescence microscope. All egg and embryos were photographed after staining with acridine orange.

- An egg 6 hrs after insemination. Fluorescent lysosome-like bodies are densely distributed in the cytoplasm except the cortical region, and its density was lower in the inner cytoplasm.
- A 2-cell embryo derived from a fertilized egg. Fluorescent lysosome-like bodies are densely distributed in the perinuclear cytoplasm of each blastomere.
- A 4-cell embryo derived from a fertilized egg. Fluorescent lysosome-like bodies are densely distributed in the perinuclear cytoplasm of each blastomere.
- An 8-cell embryo derived from an activated egg. Fluorescent lysosome-like bodies are densely distributed in the perinuclear cytoplasm of each blastomere.
- A morula derived from a fertilized egg. Fluorescent lysosome-like bodies are densely distributed throughout the cytoplasm of inner round blastomeres, and they are mainly distributed in the cytoplasm of apical and lateral regions of nucleus of outer flattened blastomeres.
- A blastocyst derived from fertilized egg. Fluorescent lysosome-like bodies are densely distributed throughout the cytoplasm of inner-cell-mass cells, and they are mainly distributed in the cytoplasm of apical and lateral regions of nucleus of trophoblast cells.

で確かめられたが、この結果は上述のマウスにおける結果 (新村ら, 1998) とは異なっていた。この結果の相違の理由は明らかではないが、動物種の違いによることも考えられた。従って、今後、マウスとブタ以外の動物種についても、単為発生胚の発生に伴う LB の分布変化を調べる必要があるように思われた。

引用文献

- Calarco, P. G. and A. McLaren. 1976. Ultrastructural observations of preimplantation stages of the sheep. *J. Embryol. exp. Morph.*, **36**:609-622.
- Earle, W. B. 1943. Production of malignancy in vitro. IV. The mouse fibroblast cultures and changes seen in the living cells. *J. Nat. Cancer Inst.*, **4**:165-212.

- Grant, P., B. O. Nilsson and S. Bergström. 1977. The ultrastructure of preimplantation hamster blastocysts developed in vivo and in vitro. *Fertil. Steril.*, **28**:866-870.
- Hegele-Hartung, C., B. Fischer and H. M. Beier. 1988. Development of preimplantation rabbit embryos after in-vitro culture and embryo transfer: an electron microscopic study. *Anat. Rec.*, **220**:31-42.
- Hillman, N. and R. J. Tasca. 1969. Ultrastructural and autoradiographic studies of mouse cleavage stages. *Am. J. Anat.*, **126**:151-173.
- 石田 一夫. 1972. 分化8-16細胞期におけるハムスター卵子の酵素組織化学的研究. *家畜繁殖誌*, **18**:105-109.
- Kaufman, M. H. 1981. Parthenogenesis: a system facilitating understanding of factors that influence early mammalian development. *Prog. Anat.*, **1**:1-34.
- Kikuchi, K., A. Onishi, N. Kashiwazaki, M. Iwamoto, J. Noguchi, H. Kaneko, T. Akita and T. Nagai. 2002. Successful piglet production after transfer of blastocysts produced by a modified in vitro system. *Biol. Reprod.*, **66**:1033-1041.
- Kim, H., G. Lee, S. Hyun, S. Lee, D. Nam, Y. Jeong, S. Kim, S. Kang, B. Lee and W. Hwang. 2004. Improved in vitro development of porcine embryos with different energy substrates and serum. *Theriogenology*, **61**:1381-1393.
- Kuryszko, J. and K. Marcinkowski. 1990. Ultrastructural studies on the morula in cattle. *Z. mikrosk. Anat. Forsch.*, **104**:521-526.
- Mann, J. R. and R. H. Lovell-Badge. 1984. Inviability of parthenogenones is determined by pronuclei, not egg cytoplasm. *Nature*, **310**:66-67.
- Medvedev, S., A. Onishi, D. Fuchimoto, M. Iwamoto and T. Nagai. 2004. Advanced *in vitro* production of pig blastocysts obtained through determining the time for glucose supplementation. *J. Reprod. Dev.*, **50**:71-76.
- Mulnard, J. G. 1965. Studies of regulation of mouse ova *in vitro*. pp. 123-138. In : Wolstenholme, G.E.W. and M.O' Connor (eds.). *Ciba Foundation Symposium on Preimplantation Stages of Pregnancy*. J. & A. Churchill Ltd., London.
- Niimura, S. and M. Jinguu. 1996. Distributional changes of acridine orange-stained lysosomes in hamster eggs and embryos during the folliculogenesis and early development. *J. Mamm. Ova Res.*, **13**:39-43.
- Niimura, S. and M. Jinguu. 1997. Distributional changes in lysosome-like bodies in mammalian embryos during the course of blastocyst formation. *J. Mamm. Ova Res.*, **14**:56-60.
- 新村 末雄・浅見 貴恵. 1997a. 単為発生マウス胚盤胞における各種酵素の組織化学的研究. *日不妊会誌*, **42**:78-82.
- 新村 末雄・浅見 貴恵. 1997b. 単為発生マウス胚盤胞の細胞数と染色体数. *新大農研報*, **50**:61-66.
- Niimura, S. and T. Asami. 1997. A histochemical study of the steroid metabolism in parthenogenetic mouse blastocysts. *J. Reprod. Dev.*, **43**:251-256.
- 新村 末雄・浅見 貴恵・中村 美香. 1998. 単為発生マウス胚の発生に伴うライソソーム様小体の分布変化. *新大農研報*, **50**:159-164.
- Petzoldt, U. and P. C. Hoppe. 1980. Spontaneous parthenogenesis in *Mus musculus*: comparison of protein synthesis in parthenogenetic and normal preimplantation embryos. *Mol. Genet.*, **180**:547-552.
- Sathananthan, A. H., K. Selvaraj, M. L. Girijashankar, V. Ganesh, P. Selvalaj and A. O. Trounson. 2006. From oogonia to mature oocytes: Inactivation of the maternal centrosome in humans. *Microsc. Res. Tech.*, **69**:396-407.
- Smith, M. S. R. and I. B. Wilson. 1971. Histochemical observations on early implantation in the mouse. *J. Embryol. exp. Morph.*, **25**:165-174.
- Solter, D., W. Biczysko, C. Graham, M. Pienkowski and H. Koprowski. 1974. Ultrastructure of early development of mouse parthenogenones. *J. Exp. Zool.*, **188**:1-23.
- Surani, M. A. H. and S. C. Barton. 1983. Development of gynogenetic eggs in the mouse: implications for parthenogenetic embryos. *Science*, **222**:1034-1036.
- Surani, M. A. H., S. C. Barton and M. L. Norris. 1986. Nuclear transplantation in the mouse: Heritable differences between parental genomes after activation of the embryonic genome. *Cell*, **45**:127-136.
- Whittingham, D. G. 1980. Parthenogenesis in mammals. pp.205-231. In : Finn, C. A. (ed.). *Oxford Reviews of Reproductive Biology*. 2nd ed. Clarendon Press, Oxford.
- Yoshida, M., Y. Ishizaki and H. Kawagishi. 1990. Blastocyst formation by pig embryos resulting from in-vitro fertilization of oocytes matured in vitro. *J. Reprod. Fert.*, **88**:1-8.

Distributional Changes of Lysosome-Like Bodies in Porcine Embryos during the Early Development

Shoko YAMAZAKI¹ and Suelo NIIMURA^{2*}

(Received June 20, 2008)

Summary

Distributional changes of lysosome-like bodies (LBs) in porcine eggs and embryos during the fertilization and early development were observed using the acridine orange staining method, and were compared with those in diploid parthenogenetic embryos derived from the eggs activated and diploidized by the treatment of ethanol and cytochalasin B.

At 6 to 32 hrs after insemination or activation, LBs were distributed in the cytoplasm except the cortical region, and its density was lower in the inner cytoplasm of both fertilized and activated eggs.

LBs were densely distributed in the perinuclear cytoplasm of blastomeres in fertilized embryos at the 2-cell to 8-cell stages. In fertilized embryos at the stages of morula and blastocyst, LBs were densely distributed throughout the cytoplasm of inner round blastomeres or inner-cell-mass cells, and they were mainly distributed in the cytoplasm of apical and lateral regions of nucleus of outer flattened blastomeres or trophoblast cells. Such a distribution of LBs in fertilized embryos was similarly observed in parthenogenetic embryos at the 2-cell to blastocyst stages.

From these findings, it was confirmed that a distribution of LBs in matured porcine eggs does not change until the first cleavage. Furthermore, it was suggested that there is a close relationship between distributional changes in LBs and the transformation or differentiation of blastomeres in porcine embryos.

Bull. Facul. Agric. Niigata Univ., 61(1):35-39, 2008

Key words : pig egg and embryo, distribution of lysosome-like body, acridine orange staining, parthenogenetic embryo, fertilization and development

¹Graduate School of Science and Technology, Niigata University

²Faculty of Agriculture, Niigata University

* Corresponding author: niimura@agr.niigata-u.ac.jp