

## 経膈採卵による体外胚生産実証試験成績について

家畜改良研究室 齋藤 陽之

### 背景

黒毛和種繁殖農家では、繁殖牛に子牛を生産させることで経営が成り立っている。しかし、その繁殖牛が繁殖障害や高齢になると、妊娠及び体内胚の生産が困難となるため優良な遺伝資源が活用できなくなる。

経膈採卵による体外胚生産（OPU-IVP）は、発情周期に縛られず、またホルモン剤による卵巣刺激も必須ではないため、上記のような牛にも活用できる技術として現場での活用が望まれていた。

### 目的

体内胚の生産が困難な繁殖牛（供卵牛）から体外胚が生産できることを実証する。

### 具体的な成果

#### 1 材料および方法

##### （1）材料

R4年度に体内胚採取に不適と獣医師が診断した黒毛和種繁殖牛延べ26頭（17～152か月齢）。

##### （2）方法

OPUは畜産技術部処置室において遮光・室温20℃以上の環境で実施し、採卵前のFSH投与による処置の有無により無処置区（20頭）及び前処置区（FSH区）（6頭）を設定した。

回収した卵子はすぐに同環境の実験室にて処理し、TCM199を基礎とする成熟培養液により20～22時間38℃5%CO<sub>2</sub>の条件で成熟培養した。培養後農家指定の精液でIVF100を用いて体外受精を実施し、5～6時間後に卵丘細胞を裸化後8日間修正SOF培地により38℃5%CO<sub>2</sub>5%O<sub>2</sub>90%N<sub>2</sub>の条件で培養観察（IVF後27、31、53時間と6、7、8日）した。

#### 2 成果

- （1）全頭の回収卵子数は平均32.6（7～91）個、体外受精に供した卵子数（供試卵子数）は平均23.5（4～65）個、胚盤胞率は平均22.6（0～66.7）%であり、胚盤胞率は既報の報告と比較するとやや低値となるが、胚の生産は可能であった。（表1）
- （2）卵子の品質向上を目的とした前処置区（FSH区）の平均回収卵子数・平均供試卵子数・平均胚盤胞率は36.1個、29個、17.3%で、平均胚盤胞率は無処置区と比較して低値を示し、FSH投与効果は認められなかった。（表2）
- （3）物理的障害（術後の癒着・骨折）があった供卵牛（試験牛①・②）で平均胚盤胞率が42.4%と良好で、卵巣機能が正常な供卵牛では効率的に胚が生産できることが示唆された。（表3）

(4) 体内胚採卵で採取ができなかった供卵牛（試験牛③～⑦）、原因不明の繁殖障害の供卵牛（試験牛⑧～⑪）の一部から体外胚を作出することができ、技術の有用性が確認された。（表4・5）

表1 全体培養成績

OPU数	回収卵子数	供試卵子数	IVF後27時間 正常卵割数 (平均卵割率)	IVF後31時間 正常卵割数 (平均卵割率)	IVF後53時間 正常卵割数 (平均卵割率)	胚盤胞数 (平均胚盤胞率)
26	848	612	67 (16.4)	153 (27.8)	135 (26.2)	133 (22.6)

表2 前処置別培養成績

前処置	OPU数	回収卵子	供試卵子数	IVF後27時間 正常卵割数 (平均卵割率)	IVF後31時間 正常卵割数 (平均卵割率)	IVF後53時間 正常卵割数 (平均卵割率)	胚盤胞 (平均胚盤胞率)
無処置	20	631	439	52 (18.7)	116 (30.1)	100 (28.3)	93 (24.3)
FSH	6	217	174	15 (8.5)	37 (19.8)	37 (19.3)	33 (17.3)

表3 物理的障害があった供卵牛での培養成績

試験牛No.	OPU数	回収卵子	供試卵子数	IVF後27時間 正常卵割数 (平均正常卵割率)	IVF後31時間 正常卵割数 (平均正常卵割率)	IVF後53時間 正常卵割数 (平均正常率)	胚盤胞数 (平均胚盤胞率)
①	6	64	43	18 (46.6)	18 (46.6)	19 (47.9)	17 (41.8)
②	1	24	13	2 (15.4)	3 (23.1)	7 (53.8)	6 (46.2)
合計	7	88	56	20 (35.7)	21 (37.5)	26 (46.2)	23 (42.4)

表4 体内胚採卵で採取ができなかった供卵牛での培養成績

試験牛No.	OPU数	回収卵子	供試卵子数	IVF後27時間 正常卵割数 (平均正常卵割率)	IVF後31時間 正常卵割数 (平均正常卵割率)	IVF後53時間 正常卵割数 (平均正常率)	胚盤胞数 (平均胚盤胞率)
③	3	209	155	33 (36.3)	72 (44.0)	56 (45.2)	54 (40.2)
④	2	15	9	0 (0.0)	2 (22.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
⑤	1	7	7	0 (0.0)	1 (14.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
⑥	2	53	41	5 (12.8)	5 (12.8)	7 (17.7)	8 (20.0)
⑦	3	208	140	3 (2.0)	18 (13.7)	10 (7.3)	17 (12.8)
合計	11	492	352	41 (9.1)	98 (24.5)	73 (15.3)	79 (16.7)

表5 原因不明の繁殖障害の供卵牛での培養成績

試験牛No.	OPU数	回収卵子	供試卵子数	IVF後27時間 正常卵割数 (平均正常卵割率)	IVF後31時間 正常卵割数 (平均正常卵割率)	IVF後53時間 正常卵割数 (平均正常率)	胚盤胞数 (平均胚盤胞率)
⑧	1	7	7	1 (14.3)	3 (42.9)	4 (57.1)	0 (0.0)
⑨	2	99	78	0 (0.0)	4 (5.5)	2 (2.9)	9 (13.2)
⑩	1	48	31	2 (6.3)	7 (21.9)	5 (15.6)	3 (9.7)
⑪	2	60	52	0 (0.0)	11 (21.6)	20 (38.2)	17 (32.8)
合計	6	214	168	3 (3.4)	25 (19.8)	31 (25.8)	29 (16.9)