

和牛特定系統の維持・造成における胚移植技術の利用とその成績

米田一裕*・野久保 隆・石田正記・奥島史朗・

岸田芳朗・河本泰生・佐藤勝紀*

(山地畜産部門・*動物遺伝育種学分野)

緒言

牛の改良を目的とした胚移植は、能力の高い牛より過剰排卵誘起した胚を能力の低い牛あるいは未経産牛に移植することで後継牛を生産し、早期に高能力牛を増産することに利用されている。この胚移植の技術は高能力牛の効率的生産のみならず、系統牛集団の維持や造成にも有用な手段であることが報告されている¹⁾。

本学農学部付属農場津高牧場（以下、津高牧場）には、岡山和牛である清国、下前系の系統牛が維持されている。そこで、津高牧場では当场で飼育されている系統牛を胚移植の技術を用いて維持、造成することを目的として、平成6年より優良繁殖雌牛から胚を採取し、凍結保存を行い、さらに、胚移植を行うシステムを採用し、このシステムによる胚移植の試験研究を進めている。

本研究では津高牧場において、平成7年5月から9年12月までの2年8ヶ月にわたる胚移植の成績についてまとめ、今後の課題について検討した。

材料と方法

供胚牛は津高牧場の延べ15頭の経産牛を用いた。胚移植のための受胚牛は、供胚牛と同様な性周期のものを選定した。また、性周期の一致しないものは事前にプロスタグランジンF₂α剤（PG）処理を行い、発情を誘起させることで性周期を同期化させた。胚移植した受胚牛は延べ31頭であった。

生体由来した胚を採取して胚移植を行うにあたって、まず過剰排卵処理と採卵を行った。過剰排卵処理は、図1に示した方法で行った。牛の発情周期に合わせて黄体期（発情後9日から13日目）に卵胞刺激ホルモン剤（FSH）を減量投与して、予め卵胞を多数形成させ、その後、PGを投与して黄体の退行を促し、卵胞を发育、排卵させた（発情誘起）。発情を確認した後、人工授精（AI）を2回行い、1回目の人工授精から7日目に採卵を試みた。採卵は左右の子宮角を非外科的に灌流し、灌流液より胚を回収した。

次に、検卵後、品質の良いAまたはBランクの移植可能胚（後期桑実胚～初期胚盤胞）は、新鮮胚移植或いは凍結保存処理を行った。新鮮胚移植は、移植可能胚を1卵ずつ胚移植用ストローに修正リン酸緩衝液（PBS）と共に封入し、牛専用の胚移植器を用いて受胚牛の膈から挿入し、子宮深部に胚を注入した。凍結保存処理は、以下の方法で行った。20%子牛血清加修正PBSを基本液に10%エチレングリコールと0.1Mシュクロースを耐凍剤に用い、これを凍結液とした。凍結液と胚を1卵ずつ封入した胚移植用ストローはプログラムフリーザーにて-30度まで冷却後、液体窒素に投入し、使用直前まで保存した。凍結-融解胚移植は、凍結保存しておいた胚移植用ストローを30度の温水で融解し、直ちに上記の新鮮胚移植と同様の方法で受胚牛へ移植を行った。受胚牛の受胎の判定は妊娠40日から50日目に超音波診断により行った。

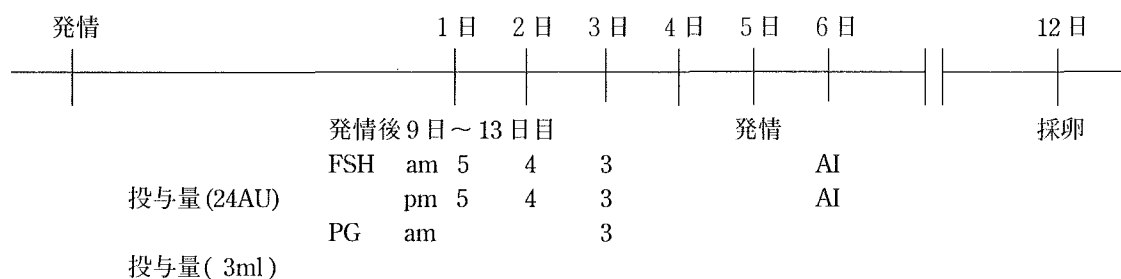


図1 採卵のための供胚牛への過剰排卵処理と人工授精方法

結果及び考察

表1に示すように、延べ15頭の供胚牛について採卵を行った結果、合計176個の胚が回収され、1頭あたりの平均は11.7個であった。各個体の採卵数は1～32個と大きなばらつきがあった。この原因として過剰排卵処理に使用されるホルモン剤（種類、投与量）、牛の個体差（品種、系統、年齢、産歴など）、季節、飼養環境及び飼料給与方法、さらに、牛の栄養状態などの影響が報告されている^{1,3)}。本研究では、ホルモン剤投与や飼料給与方法については一定量、一定条件で行っていることから、採卵数のばらつきは牛の個体差、特に、年齢、産歴の違いや飼養環境による影響が大きいと考えられた。

次に、移植可能胚数は合計94個で、1頭あたりの平均は6.3個となった。一般に農家において満足する移植可能胚数は7～10と報告されており³⁾、本研究の結果はこの数に近い値が得られていると考えられる。移植可能胚数においても、採卵数と同様に各個体で大きなばらつきがあった。また、採卵数は比較的多いにも関わらず、未受精卵や変性卵が多く、移植可能胚が少ない個体が認められた。その原因としては、これまでの報告²⁾によると、未受精卵が多く認められる場合、用いた精液の性状、人工授精のタイミングが考えられており、また、変性卵が多い場合、ホルモン剤の残留や飼養条件、特に飼料の変化による子宮内環境への影響などが挙げられており、本研究においてもこれらの要因に起因することが考えられた。

表1 採卵成績

年度	頭数	採卵数	移植可能胚
平成7	9	* 9.1 / 82 (1 ~ 14)	5.2 / 47 (1 ~ 11)
8	2	31.5 / 63 (31 ~ 32)	18 / 36 (9 ~ 27)
9	4	7.8 / 31 (4 ~ 13)	2.8 / 11 (0 ~ 7)
合計	15	11.7 / 176 (1 ~ 32)	6.3 / 94 (0 ~ 27)

* 平均値／合計
(最小数～最大数)

表2 受精卵移植成績

	新鮮胚移植	凍結－融解胚移植	合計
移植胚数	6	25	31
受胎数	3	11	14
受胎率 (%)	50	44	45.2

表2は胚移植の成績について示した。移植に用いた胚数は、新鮮胚が6個、凍結－融解胚が24個であった。受胎を確認した数は新鮮胚移植で3頭、凍結胚移植で12頭となり、受胎率は新鮮胚移植、凍結－融解胚移植でそれぞれ50%、44%であった。平成6年の全国の受精卵移植実施状況⁵⁾では、肉用牛の受胎率は、新鮮胚移植で44.1%、凍結－融解胚移植では44.3%、また、平成7年度では、新鮮胚移植で52%、凍結－融解胚移植では47%と報告されており、さらに、平成8年度の岡山県総合畜産センター内での肉用牛胚の受胎率は、新鮮胚移植で41.7%、凍結－融解胚移植では42.1%であった(私信)。本研究の結果は、これまでの報告の値に近いことが認められた。本研究では受胎確認後、新鮮胚移植した1個体で流産が確認され、受胎した個体は合計13頭になった。そのうち12頭がすでに分娩しており、雄が7頭、雌が5頭であった。

このように、津高牧場において行われている胚移植を用いた系統牛の維持・造成のシステムは順調に運用されており、平成6年の開始時より7年4月までの胚移植の成績を加えると、生産された個体は合計17頭となり、現在、保存されている凍結胚数は78個である。

今後の検討課題としては、優良個体である供卵牛の過剰排卵誘起処理において高くかつ斉一した反応性を得るため、牛の生理的状态を考慮したホルモン剤投与方法の検討、ならびに一定した環境条件下での飼養管理が必要であると考えられる。また、近交係数の急激な増加を避けるために、幾つかの種雄牛の確保が必要である。しかし、本系統の種雄牛は数が

少なく限られてくることから、本系統の種雄牛の造成に取り組むか、同じ岡山和牛の中で供胚牛とは異なる系統を用いて交配計画の検討をはかる必要があると考えられた。さらに、必要に応じて求められる性別の牛の確保のため、津高牧場において胚移植以前に性判別を行うシステムの確立が必要になると考えられる。

謝 辞

本研究の遂行に当たり、御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました湯原正高名誉教授に深甚なる謝意を表します。また、胚移植の技術的な御指導と有益な御助言を頂きました岡山総合畜産センター野上興志郎氏、小田頼政氏、中原 仁氏に心より深謝いたします。

引用文献

- 1) 市野清博：牛の過剰排卵処理技術，臨床獣医：Vol.14, No.7, 19～25(1996)
- 2) 家畜人工授精講習会テキスト：社団法人日本家畜人工授精師協会
- 3) 西貝正彦：和牛胚移植の受胎率向上，臨床獣医：Vol.14, No.7, 32～39(1996)
- 4) 野久保隆・松浦次郎・岸田芳朗・奥島史朗・河本泰生・湯原正高・中原仁・小田頼政・野上興志郎：黒毛和種特定系統の維持・造成における胚移植技術の応用，第5回西日本胚移植研究会講演要旨集：27(1996)
- 5) 家畜受精卵移植業務現況調査まとめ：家畜人工授精：Vol.171, 24～40(1995)