

## 牛の受精卵移植技術普及定着に関する研究

赤上正貴<sup>1)</sup>・戸田尚美・山口大輔<sup>2)</sup>・足立憲隆

Research on the Application of Cattle Embryo Transfer

Masataka AKAGAMI, Naomi TODA, Daisuke YAMAGUCHI and Noritaka ADACHI

### 要 約

当センターでは牛の受精卵移植技術の普及定着をはかるために、黒毛和種の良質な受精卵の生産および供給を行っている。平成 21 年度は、延べ 40 頭から 165 個の正常卵を回収した。1 頭あたりの平均正常卵数は 4.1 個であり、農家への譲渡卵数は 72 個、試験研究に使用したものは 22 個であった。また、受精卵の効率的な生産を目的として、発情の同期化に用いる膈内留置型黄体ホルモン製剤(以下、PRID:progesterone releasing intervaginal device)の留置期間を 12 日間(対照区)から 7 日間(試験区)に短縮し、その有効性について検討した。PRID の留置期間の短縮による回収卵数および正常卵率に有意差は認められなかったものの、試験区は対照区より高い傾向を示した。このことから、PRID の留置期間については、7 日間の留置で十分に効果があり、加えて、胚回収成績を向上させる可能性が示唆された。

キーワード：受精卵移植，過剰排卵処理，子宮灌流，膈内留置型黄体ホルモン製剤

### 緒 言

受精卵移植の普及に必要なものとして良質な受精卵の安定した供給があげられる。このため、黒毛和種の受精卵の生産および供給を当センターの先端技術研究室が受精卵供給センターとして行うとともに、効率的な受精卵採取技術の確立を図る。

### 材料および方法

#### 1 試験期間

平成 20 年 4 月 1 日～平成 22 年 3 月 31 日

1) 茨城県鹿行家畜保健衛生所

2) 茨城県県北家畜保健衛生所

#### 2 供試牛

当センター繁殖黒毛和種 41 頭

(年齢 1～13 才)

#### 3 試験方法

##### 1) 試験区分

平成 20 年 4 月 1 日～平成 21 年 3 月 31 日に採卵を行い、PRID の留置期間を 12 日としたものを対照区、平成 21 年 4 月 1 日～平成 22 年 3 月 31 日に採卵を行い、PRID の留置期間を 7 日としたものを試験区とした。

##### 2) 調査項目

回収卵数および回収卵の正常卵率，変性卵率，未受精卵率について比較した。

##### 3) 胚の回収および処理方法

まず、PRIDの除去日が過剰排卵処理3日目となるよう、膣内留置期間を対照区12日間、試験区7日間とし、性周期の同期化を行った。

過剰排卵処理は、豚の脳下垂体前葉から抽出した前葉性性腺刺激ホルモン剤中に含まれる黄体形成ホルモンを0.8%まで除去精製した卵胞刺激ホルモン製剤(以下、FSHR)、または閉経期の婦人尿から抽出した下垂体性性腺刺激ホルモン(以下、hMG)を用いて3日間減量投与方法を実施した。ホルモン投与量をFSHRは12~24AUとした。前回の採卵で、FSHRによる過剰排卵効果が低かった個体についてはhMG750IUを選択した。発情誘起としてプロスタグランジンF<sub>2</sub>αを使用し、過剰排卵処理3日目の夕および4日目の朝にそれぞれ20mg、15mgを投与した。6日目の朝・夕の2回人工授精を行った。

受精卵は、人工授精後7日目に、バルーンカテーターを用いて子宮灌流法で回収をした。

回収された受精卵は、10%エチレングリコールを含む20%子牛血清加修正PBSにトレハロース0.1Mを添加した凍結保存液とともに移植用ストローに吸引してダイレクト法にて緩慢凍結を行った。

## 結果および考察

### 1 受精卵の生産

平成21年度は、延べ40頭から採卵し、合計353個を回収した。正常卵は165個、正常卵率は46.7%で、1頭あたりの正常卵数は4.1個であった。

### 2 受精卵の供給

農家に供給した受精卵は72個、試験研究用に供した個数は22個であった。近年、農家のニーズに合う受精卵の生産が求められているため、県有牛種雄牛に加えて、民間の種雄牛精液での採卵も実施している。

### 3 PRID留置期間の短縮効果

回収卵数については、PRIDの留置期間を12日とした対照区(50頭)とPRID留置期間を7日とした試験区(40頭)間に有意差は認められなかった(表1)。

表1 PRIDの留置期間による採卵成績

	n	平均 回収卵数	平均 正常卵数	平均 変性卵数	平均 未受精卵数
試験区 (7日間)	40	8.8	4.1	2.3	2.4
対照区 (12日間)	50	7.6	2.8	2.6	2.7

また、回収卵の正常卵率については、有意差は認められなかったものの、試験区が46.7%、対照区が36.6%と試験区が対照区より高い傾向を示した。回収卵の変性卵率は試験区が26.4%、対照区が34.6%、未受精卵率は試験区が26.9%、対照区が28.8%と有意差は認められなかったものの、試験区が対照区より低い傾向を示した。(図1)

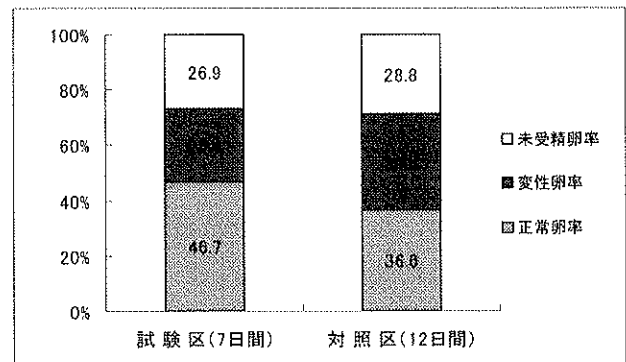


図1 PRIDの留置期間による正常卵率、変性卵率および未受精卵率の比較

PRIDは発情周期に関係なく過剰排卵処理が開始できる方法として発情周期の同期化に広く利用される。一般的に、その留置期間は12日間とされるが、7日間および12日間の留置期間の違いによる回収卵数、回収卵の正常卵率、変性卵率、未受精卵率に有意差は認められず、7日間の留置で十分に効果が期待できると考えられる。

また、留置期間を12日間とした対照区より7日

間とした試験区の方が、回収卵数および正常卵率が高い傾向を示した要因として、留置期間の短縮による卵胞発育ウェーブの制御があげられる。

PRID は挿入後速やかにエストラジオールを放出し始め、これにより、FSH 分泌が抑制、この時点で存在する卵胞は閉鎖退行する。その後、エストラジオールが代謝され、血中濃度が低下すると一過性のFSH 分泌が起こり、エストラジオール放出後 3~5 日の間に新たな卵胞発育ウェーブが出現する。この卵胞発育ウェーブの出現時期と FSH 投与開始日が一致すると高い卵巣反応が得られ、採卵成績の向上が期待できる。今回、試験に用いた供卵牛は過剰排卵処理を反復した高齢牛も多く、胚回収成績の低い個体も含まれていたが、留置期間を7日にすることで、卵胞発育ウェーブを制御した過剰排卵処理が行われ、胚回収成績が向上する傾向がみられたと考えられる。

以上より、過剰排卵処理に用いる PRID の留置期間は7日間で十分な効果が期待され、また、個体差がみられるものの、胚回収成績を向上させる可能性が示唆された。

今後、過剰排卵処理における PRID 留置期間を7日間とし、胚回収成績の向上と作業性の改善を図っていく。併せて、PRID の活用が生産性の改善にどう影響するか、継続して検討して行く予定である。

#### 参考文献

- 1) 社団法人 家畜人工授精師協会他, 家畜人工授精講習会テキスト (家畜体内受精・家畜体外受精卵移植編), 2009.3, 69-72
- 2) 堂地 修, 2005.12, 最近の牛過剰排卵誘起処置法に関する新しい知見, ET ニュースレター EMBRYO TRANSFER, NO.34, 7-10
- 3) 早坂駿哉他, 2009.1, PRID を用いたウシ過剰排卵処理における安息香酸エストラジオールの効果, 第24回東日本家畜受精卵移植技術研究大会, 研究会報25号, 46-47

- 4) 川崎友子・藤井陽一・小川賀雄・稲吉洋裕, 2008.3, 膣内留置型ホルモン剤 (CIDR) を利用したウシ胚移植における受胎率向上効果の検討, 山口県畜産試験場研究報告, 第21号, 14-18