

## 牛受精卵の切断 2 分割

奥 透・藤山雅照・吉田豊昭 (長崎県畜産試験場)

Toru OKU, Masateru FUJIYAMA and Toyoaki YOSHIDA : Bisection of Bovine Embryos

牛受精卵を切断 2 分割することにより、受精卵の有効利用、双子生産におけるフリーマーチンの阻止、一卵性双子の産出による種々の試験への利用等の利点がある。

受精卵を切断 2 分割するには、ガラス針、金属針、ガラス片、カミソリ刃等が用いられているが、今回は作成の簡易なカミソリ刃 (一部ガラス片) を用いた切断法について検討した。

### 1. 試験方法

1) 供試受精卵 過剰排卵誘起処理したホルスタイン種、黒毛和種から発情後 7 日目に回収した後期桑実胚～胚盤胞期の新鮮胚、及び福岡種畜牧場方式の一段階ストロー法による凍結胚を供試した。

#### 2) 受精卵の分離切断法

①A法 切断刃はカミソリを銃子で狭み割り、微細ガラス管に瞬間接着剤で固定することにより作成した。ガラス刃はスライドガラスを割ったものを用いた。プラスチックシャーレーに少量の修正リン酸緩衝液と共に受精卵を入れ、流動パラフィンで覆った。微細ピペットで吸引固定した受精卵に切断刃を水平に押し当てて分離した。分離した受精卵は同一透明帯中で切断面がゆ着しないように反転するかまたは透明帯から取り出して切断した。

②B法 切断刃の作成法はA法と同様であるが、刃をシャーレーの底面に向け、受精卵を垂直に圧断した。分離した受精卵は、新鮮胚の場合 1 個のみもとの透明帯に入れ、他は裸化、凍結胚の場合は 2 個とも別々の透明帯に入れた。

③移植法 1 頭の受卵牛へ 1 対の分離受精卵を黄体側の子宮角へ頸管経由法で移植した。

### 2. 結果及び考察

A法により 12 個の受精卵を 2 分割したが、うち 4 個はカミソリ刃に細胞が付着し、はずすのが難しかった。ガラス刃は、切断に適する刃を得にくい欠点はあるが、細胞の付着もなく使いやすかった。

B法では、切断刃の位置を決めるのが難しいが、切断は容易で、付着した細胞は、刃をシャーレーの底面に押し付けることにより簡易にはずすことができた。

移植成績については、第 1～2 表に示した。A法により新鮮胚 4 個、凍結胚 8 個を 2 分割し、移植した結果、新鮮胚で 1 頭、凍結胚で 1 頭計 2 頭が受胎した。

B法により新鮮胚 4 個、凍結胚 2 個を切断し、移植した結果、新鮮胚で 2 頭、凍結胚で 6 頭が受胎した。

以上のことから、受精卵を水平に圧断するよりも垂直に圧断する方が操作もやさしく、受胎率を対象とする成

績では受精卵の損傷も少ないと考えられ、移植結果も優れていた。

今後双子率を向上させるための検討、さらに野外での応用を考えると、分離切断後の凍結技術の検討が必要である。

第 1 表 A 法による分離受精卵の移植成績

No.	受精卵の区分	受精卵のステージ	妊否	備考
1	新鮮卵	B	-	早死産 双子
2	"	B	-	
3	"	E B	-	
4	"	E B	+	
5	凍結卵	B	-	単子
6	"	B	-	
7	"	C M	+	
8	"	C M	-	
9	"	B	-	
10	"	B	-	
11	"	B	-	
12	"	C M	-	

注) No.3, 4, 6, 11については、透明帯なし  
受卵牛はすべてホルスタイン種  
B:胚盤胞, E B:初期胚盤胞, C M:圧縮桑実胚。

第 2 表 B 法による分離受精卵の移植成績

No.	受精卵の区分	受精卵のステージ	妊否	備考
1	新鮮卵	B	+	単子
2	"	B	+	単子
3	"	B	-	流産 単子
4	"	E B	-	
5	凍結卵	C M	-	
6	"	C M	+	
7	"	B	+	双子
8	"	B	-	
9	"	B	+	双子
10	"	B	-	
11	"	B	-	
12	"	E B	+	
13	"	E B	-	双子
14	"	E B	-	
15	"	B	+	
16	"	B	+	

注) 新鮮卵については、すべて 1 個だけ透明帯に選納  
受卵牛 No.6, 7 は黒毛和種、他はホルスタイン種  
B, E B, C M: 第 1 表に同じ。