

牛低ランク胚の有効活用

藤山雅照・中里 敏・山本和利¹⁾ (長崎県畜試験場, ¹⁾長崎県南家畜保健衛生所)

Masateru FUJIYAMA, Satoshi NAKAZATO and Kazutosi YAMAMOTO :
Utilization of Low Grade Bovinn Embryo

牛の過剰排卵処理により採取される正常胚のうち10～20%はCランクといわれている低ランク胚で、一部を新鮮卵移植に利用する他はほとんど廃棄されている。

これらCランク胚を有効に活用出来れば、受精卵移植のコスト低減につながり、また貴重な遺伝資源の有効活用からも必要な技術と考えられる。

今回、過剰排卵処理を行い、発情後7日目に採取した胚のうち凍結能が低くこれまで廃棄していたCランク胚24時間培養したところ、胚の発育ステージはコンパクトモルラからプラストに発育し、ランクもA及びBランクに向上した。

これを、凍結し移植した結果、常法で行っている凍結胚の受胎率と変わらない成績が得られたので、その概要を報告する。

1. 材料及び方法

- 1) 試験期間; 1993年4月～1994年3月
- 2) 供試牛; 当場繋養の採卵専用の黒毛和種
- 3) 過剰排卵処理; FSH総量13mgを朝夕2回、4日間減量投与、PGは3日目の朝夕2回各20mg投与した。
- 4) 胚の回収; 発情後7日目に行った。
- 5) 供試胚; 回収した胚のうち凍結可能と判断したものは、ただちに凍結を行い、残りの胚のうち、未受精卵及び変性胚を除いて供試胚とした。

6) 培養; 培養液として①卵丘細胞単層発育シート上に5%CS加TCM199液②20%CS加修正PBSの2種類を使った。培養は5%CO₂、39℃に設定された培養器で24時間行った。

7) 凍結; 24時間培養後、胚の形態を観察し、凍結可能なステージ、ランクに発育したと、判断したものについて凍結を行った。

凍結方法は当場の常法により、20%CS加修正PBSに耐凍剤としてエチレングリコール10%添加した液を使用した。

耐凍剤の添加は一段階で行い、15分間平衡した後、-7℃に設定したプログラムフリーザーに投入、2分後

に植氷、8分間保持し、その後1時間17分で-30℃(-0.3℃/分)まで冷却し、10分間保持後液体窒素中に投入、保存した。

8) 移植; 2名の移植師に依頼し、一般農家の受卵牛を使って実施した。

融解は、農家の庭先で保存器からストローを取り出し、約5秒間空気中に保持した後30℃の湯湯に投入、5秒後に取り出し、移植器に装着して移植する、直接移植法で行った。

第1表 培養成績

区 分	培養数	発育胚数	凍結胚数	成功率
199区	6個	6個	6個	100.0%
PBS区	15	11	11	73.3%

2. 結果及び考察

第1表に示したとおり、TCM199で培養した6個は総て凍結可能なA及びBランクの胚盤胞まで発育し、PBS区でも15個中11個が発育し、それぞれ凍結を行った。

TCM199で培養した6個は、3頭のホルスタイン種に2胚ずつ移植し、2頭が受胎した。PBSで培養した11個はホルスタイン種及び黒毛和種に1胚ずつ移植して7頭が受胎し、第2表に示したとおり合計で64.3%の受胎成績が得られた。

これまで、7日目に採取した胚で写真1のような発育の遅れた胚は受胎しないと、廃棄していたが、24時間培養することにより写真2のような凍結可能な胚に発育し、凍結して移植した結果、受胎したことから、採取した胚のうち少しでも細胞に正常な部分があるものについては、培養を行う価値があるものと考えられる。

第2表 移植成績

区 分	移植頭数	受胎頭数	受胎率
一卵移植(PBS区)	11頭	7頭	63.6%
二卵移植(199区)	3	2	66.7%
計	14	9	64.3%



写真1 培養前 (モルラ-C)

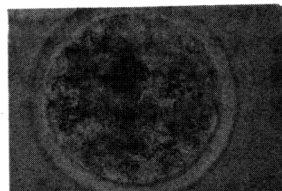


写真2 培養後 (アーリーブ ラスト-B)