

低ランク胚の短期培養および選定による有効利用

立山松男・大山真二・井上直弘¹⁾
(宮崎県優良家畜受精卵総合センター・¹⁾宮崎県農政水産部)

Matsuo TATEYAMA, Sinji OYAMA and Naohiro INOUE :
Utilization of Poor Quality Bovine Embryos by Short-term Culture and Selection

当センター供卵牛の過剰排卵処理により採卵される胚の内、変性細胞が全細胞の30%以上を占める低ランク胚が2割程度存在する。これらの低ランク胚は凍結保存することが困難で、新鮮胚移植するか廃棄されていた。

そこで低ランク胚でも、高い受胎率が得られる選定基準を作るために、低ランク胚の短期培養試験および移植試験を実施したのでその結果を報告する。

1. 材料および方法

1) 試験1；低ランク胚の短期培養試験

供試胚には、採卵した体内受精胚の内、変性細胞が30%以上の低ランク胚を用い、5%CO₂、95%空気、38.5度の条件の下、10% FCS および100μ M β-メルカプトエタノール添加TCM199液で、20~25時間培養した後、凍結・融解後、24時間目、48時間目の発育および脱出胚盤胞率を調査した。

2) 試験2；培養後の品質別移植試験

上記と同様の条件下で培養した後、内部細胞塊が明瞭な胚(以下 Fair 胚)と不明瞭な胚(以下 Poor 胚)別に移植試験を行った。

3) 試験3；培養前のランク別移植試験

採卵時のランク別の移植成績を比較検討するために、変性細胞が30~50%のB'ランク胚と変性細胞が50%以上のCランク胚を上記と同様の条件下で培養した後、Fair 胚のみで移植試験を行った。

4) 試験4；培養後の発育ステージ別移植試験

培養後の発育ステージ別の移植成績を比較検討するために、採卵時のランクがB'ランクの胚を上記と同様の条件下で培養した後、Fair 胚のみ用い発育ステージ別に移植試験を行った。

2. 結果

1) 試験1；短期培養区が無培養区に比べて24時間目、48時間目の生存率が有意に高く、脱出胚盤胞率も培養区が無培養区に比べ有意に高くなった(第1表)。

2) 試験2；Poor 胚の受胎は認められなかった。

3) 試験3；培養区の新鮮胚移植では、B'ランク胚、Cランク胚ともに50%以上の高い受胎率となったが、培養区の凍結胚移植では、B'ランク胚がCランク胚より有意に高い受胎率となった。また、培養区の凍結B'ランク胚の受胎率は、無培養区の凍結B'ランク胚の受胎率と比べても有意に高くなった(第2表)。

4) 試験4；培養後のステージが胚盤胞以上に発育した胚で40%以上の高い受胎率となった(第3表)。

3. 考察

試験1の結果から低ランク胚を短期培養することで凍結・融解後の生存率が向上することがわかり、また試験2~4の結果から低ランク胚は次の選定条件を満たす胚を移植すれば安定した高い受胎率が得られることが示唆

された。

1) 培養前のランクがB'(変性細胞30~50%)の胚を使う。

2) 20~25時間培養後の内部細胞塊の明瞭な胚を使う。

3) 20~25時間培養後、胚盤胞以上の発育の良い胚を使う。

4. 考察の実証

上記の選定条件を踏まえ、平成12年度に低ランク胚を一般に供給した結果、低ランク胚(B'ランク)の受胎率は、一般胚(A・Bランク)の受胎率と比べると低くなったが、充分供給可能な受胎率となり選定基準の有効性が確認された(第4表)。

第1表 培養後、凍結・融解後の生存率

試験区	供試胚数	生存胚数		
		24時間(%)	48時間(%)	脱出胚盤胞(%)
培養区	33	31(93.9) ^a	29(87.9) ^a	20(60.6) ^a
無培養区	24	17(70.8) ^b	14(58.3) ^b	6(25.0) ^b

注) a-b; P<0.05, A-B; P<0.01

第2表 培養前のランクと受胎率 (H8~11年度)

区分	新鮮胚			凍結胚			
	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)	
培養区	B'	48	26	54.2	233	107	45.9 ^a
	C	26	14	53.8	84	26	31.0 ^b
無培養区	B'	-	-	-	20	4	20.0 ^b
	C	-	-	-	3	0	0

注) a-b; P<0.05

第3表 培養後発育ステージ別移植成績 (H8~11年度)

培養後の発育ステージ	選定率(%)	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
初期胚盤胞	32.1	8	3	37.5
胚盤胞	81.0	110	49	44.5
拡張胚盤胞	85.0	163	81	49.7

注) 選定率；培養後各ステージに達した胚の内、移植に用いた胚の割合

第4表 H12年度供給胚移植成績 (黒毛和種)

区分	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)	
一般胚	新鮮胚	238	140	58.8
	凍結胚	579	300	52.0
	計	817	440	54.0
低胚	新鮮胚	17	8	47.1
	凍結胚	93	41	45.1
	計	110	49	45.4
合計	927	489	53.0	

注) 一般胚はA、Bランク胚、低胚は培養前がB'ランク胚