

(成果情報名) 性選別精液を用いた牛性判別胚の生産

[要約] 性選別精液の体外受精による性判別胚の生産では、従来法に比べて卵胞発育同調法において胚盤胞数が多い。過剰排卵処理による性判別胚の生産では、非選別精液を使用して胚を性判別した非選別区が性選別精液を使用した選別区に比べて雌胚数が多い。

(実施機関・部名) 農業技術センター畜産技術所

連絡先 046-238-4056

[背景・ねらい]

性選別精液を利用した性判別胚生産方法を確立するために、性選別精液の体外受精により性判別胚を生産する方法と過剰排卵処理により性判別胚を生産する方法について生産胚数を比較する。

[成果の内容・特徴]

1 性選別精液の体外受精による性判別胚の生産 (図1)

従来法では発情周期の任意の時期に卵胞を吸引し、卵胞発育同調法では主席卵胞の除去及び黄体ホルモン製剤の留置とFSH製剤の減量投与による卵胞発育同調処理を行った後に卵胞を吸引し、卵子を採取する。20～22時間成熟培養した卵子をパーコール液及び媒精液(IVF100、機能性ペプチド研究所)で洗浄した性選別精液を用いて体外受精し、9日目まで炭酸ガス培養器内で培養する。

2 過剰排卵処理による性判別胚の生産 (図1)

黄体ホルモン製剤とエストラジオール製剤で卵胞波の調整を行った後にFSH製剤の減量投与による過剰排卵処理を行い、発情日に非選別区では非選別精液を、選別区では性選別精液を人工授精し、人工授精後7日目に胚を採取する。非選別区では牛性判別試薬キット(栄研化学)を用いて胚の性別を判定する。

3 従来法は採取卵子数が10.7個、体外受精後の胚盤胞数が0.9個、卵胞発育同調法は採取卵子数が14.3個、体外受精後の胚盤胞数が1.7個であり、両法ともに体外受精後9日目までに胚盤胞は得られるが、卵胞発育同調法の胚盤胞数が多い(表1)。

4 非選別区は総回収卵数が13.9個、正常胚数が6.7個、雌胚数が2.5個であり、選別区は総回収卵数が5.2個、正常胚数及び雌胚数が0.5個であり、非選別区の雌胚数が多い(表2)。

[成果の活用面・留意点]

1 供卵牛は当所で飼養するホルスタイン種泌乳牛である。

2 同一種雄牛(1頭)の精液を用いた成績である。

3 本試験は、新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業の助成を受けた。

[具体的データ]

従来法

0日	1日	3日	7日
卵胞吸引	体外受精	分割検査	発生検査

卵胞発育同調法

0日	5日	7日	8日	9日	10日	11日	12日	14日	19日
卵胞吸引	主席卵胞除去 CIDR挿入	朝 FSH	FSH	FSH PG	FSH	CIDR除去 卵胞吸引	体外受精	分割検査	発生検査
		夕 FSH	FSH	FSH	FSH				

CIDR: 黄体ホルモンの製剤、FSH: 4日間、1日2回、計30AU、PG: 3ml

過剰排卵処理による性判別胚の生産 (非選別区、選別区)

0日	1日	5日	6日	7日	8日	9日	16日
CIDR挿入	EB	朝 FSH	FSH	FSH PG	FSH	発情	採卵 性判別
		夕 FSH	FSH	FSH	FSH	人工授精	

EB: エストラジオール製剤1ml、FSH: 4日間、1日2回、計36AU、PG: 3ml、人工授精: 発情日の午後、1本

図1 処理スケジュール

表1 性選別精液の体外受精による性判別胚の生産

試験区	供試 頭数	推定卵胞数*				採取卵子数**						培養 卵子数 (%)	分割胚 数 (%)	胚盤胞数				
		大	中	小	計	A	B	C	D	E	F			計 (%)	Day7	Day8	Day9	計 (%)
従来法	9	2.6	2.2	19.7	24.4	4.0	3.1	1.9	1.2	0.0	0.4	10.7 (48.1)	9.0 (82.2)	4.7 (52.2)	0.0	0.4	0.4	0.9 (7.5)
卵胞発育 同調法	9	28.8	3.4	0.8	33.0	10.3	3.0	0.7	0.1	0.2	0.0	14.3 (44.6)	14.0 (98.0)	8.8 (63.2)	0.6	0.8	0.3	1.7 (9.9)

*大: 8mm以上、中: 5mm以上8mm未満、小: 5mm以下

**A: 卵丘細胞3層より多い、B: 卵丘細胞0.5~3層、C: 裸化、D: 膨化した卵丘細胞、

E: 直径が明らかに小さい卵子、F: 変性卵子または透明帯のみ

表2 過剰排卵処理による性判別胚の生産

試験区	供試 頭数	推定 黄体数	遺残 卵胞数	総回収 卵数	正常胚数	性判別 可能胚数	雌胚数	凍結可能 胚数	未受精 卵数	変性胚 数
非選別区	9	17.0	2.4	13.9	6.7	5.9	2.5	6.2	2.8	4.4
選別区	6	9.8	1.2	5.2	0.5	-	0.5	0.3	3.7	0.8

[資料名] 平成23年度試験研究成績書

[研究課題名] 生体内吸引卵子と性選別精液を用いた効率的な体外受精卵生産技術の
開発

[研究期間] 平成22~23年度

[研究者担当名] 秋山清、坂上信忠