

[平成19年度普及に移す技術]

[技術名] ダメージが少ない未成熟卵子の輸送・保存技術

[要約] 酪農家の後継牛づくりの手法として経膈採卵(OPU)を実施し、得られた未成熟卵子を5%CS加199培地と2重ストローで封入し輸送する方法が、無血清培地と試験管で輸送する方法に比べ、移植可能胚が多く作出できる。

[キーワード] 乳用牛、OPU、子牛血清、2重ストロー、輸送

[担当] 福井畜試・技術開発部・バイテク研究グループ

[連絡先] 電話 0776-81-3130、電子メール h-tanimura-tm@pref.fukui.lg.jp

[背景・ねらい]

生体卵巢から未成熟卵子を採取する経膈生体卵子吸引法(OPU)が開発され、体外受精により移植可能胚を得ることが可能となっている。そこで、酪農家の優良雌系統から後継牛を得る手法として、野外において未成熟卵子の輸送液、輸送方法、輸送時間および媒精に用いた精液の違いについて胚盤胞期への発生率に及ぼす影響を比較検討する。

[技術の内容・特徴]

酪農家の長期不受胎乳用牛6頭と当场乳用牛2頭を供試し、1週間間隔でのべ31回実施する。OPUには、超音波診断装置(SSD900SE:FHK)、プローブ(コンベックス型7.5MHz:FHK)、採卵針(COVAneedle17G:ミサワ医科工業)、吸引ポンプ(FV4:FHK)を使用し、100mmHgの吸引圧で、1%CS、ヘパリン10IU/mLを添加した乳酸化リンゲル液で卵子を回収する。

1. 輸送液に5%CS加199培地と無血清培地、輸送方法に小試験管(1.0mL)と2重ストロー(0.25mLストローを外サヤに入れる:図1)とし、胚盤胞期までの発生率を比較すると、5%CS加199培地と2重ストローによる輸送方法が、他に比べ卵子の紛失も無く発生率が高い(表1)。
2. OPU卵子の輸送に90分を要しても、当场の輸送しない場合と比べ、発生率には差がない(表2)。
3. OPU卵子124個を6種類の精液で体外受精すると、5種類で35個(28%)の移植可能胚が得られるが、2種類では分割卵子数が少なく精液の個体差が大きい(表3)。

[技術の活用面・留意点]

1. OPU卵子を5%CS加199培地と二重ストローで輸送する方法ことにより、移植可能胚が作出でき、酪農家の優良血統の維持に活用できる。
2. 移植可能胚の作出には、精液の選定が必要である。

[普及計画]

普及目標: 移植可能卵作出数 54個

普及対象: 優良な後継牛を求める酪農家

普及に向けた対応: ET技術現地検討会での技術研修や技術指導の実施

[具体的データ]



図1 2重ストローの模式図

表1 輸送液および方法の違いによる胚盤胞期までの発生数

輸送液	方法	培養卵子数	分割卵子数(%)	胚盤胞発生数(%)
無血清培地	試験管*	9	5(56)	0
〃	2重ストロー	14	9(64)	0
5%CS加199培地	試験管*	22	13(59)	1(5)
〃	2重ストロー	110	79(72)	35(32)
		155	106(68)	36(23)

*試験管輸送では、未成熟卵子を8個紛失

表2 輸送時間の違いによる胚盤胞期までの発生数

時間(分)	培養卵子数	分割卵子数(%)	胚盤胞発生数(%)
90	110	79(72)	35(32)
0	52	33(64)	8(15)

表3 精液の違いによる胚盤胞期までの発生数

精液No	培養卵子数	分割卵子数(%)	胚盤胞発生数(%)
1	20	18(90)	8(40)
2	9	0(0)	0(0)
3	11	1(9)	1(9)
4	8	4(50)	3(38)
5	34	27(79)	11(32)
6	42	38(90)	12(29)
合計	124	88(71)	35(28)

*2重ストローで輸送した卵で実施

[その他]

研究課題名：農林水産業者等提案型共同研究

研究期間：2006年度

研究担当者：谷村英俊、田中 健

