

[平成21年度参考となる技術]

[技術名] ウシ単為発生胚の移植は黄体退行を抑制する

[要約] ウシ単為発生胚 (PA 胚) の共移植による受胎成績の向上を図るため、受胎牛へ移植する PA 胚の有効胚数と発情周期への影響を調査した結果、PA 胚の2胚移植により黄体退行の抑制効果が認められる。

[キーワード] ウシ単為発生胚 (PA 胚)、受胎牛、共移植、胚移植、発情周期

[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 chikusi@perf.fukui.lg.jp

[背景・ねらい]

これまで、胚移植成績の向上を図るため栄養膜小胞と胚を共移植したところ、胚のみの移植に比べ受胎率が5~10%程高くなった。栄養膜小胞は妊娠シグナル (インターフェロン τ) を分泌し受胎率を向上させることが明らかになっているが、効率的な作成が困難であるという問題がある。そこで、実験室内において比較的簡易に作出でき、インターフェロン τ 産生能をもつ単為発生胚 (PA 胚) の共移植への利用を目的に、PA 胚の耐凍性、子宮内での発育性、黄体退行の抑制効果について調査し、共移植による移植受胎成績について検討を行う。

[技術の内容・特徴]

PA 胚はと場由来卵子を材料として、カルシウムイオノホア A23187 と 6-ジメチルアミノプリンを用いた複合活性化処理により作出し、処理日 (=0 日) から7日または8日目に拡張胚盤胞期に到達したものをを用いる。移植胚は過剰排卵処理した黒毛和種より回収し、10%エチレングリコール(EG)、または 10%エチレングリコール+0.1M トレハロース(EG+Tre)を耐凍剤として緩慢凍結した胚を用いる。

1. PA 胚の耐凍性

PA 胚を 10%EG または 10%EG+0.1MTre を耐凍剤として凍結・融解後の生存性を対照区の体外受精(IVF)胚(10%EG)と比較すると、培養 48h までの生存率はどちらの耐凍剤でも対照区に比べ低く、また耐凍剤間に差はみられない (表 1)。

2. PA 胚の子宮内における発育状況

新鮮または凍結・融解した PA 胚を 1 胚、2 胚および 10 胚に分けて受胎牛へ発情後 7 日目(発情日: 0)に移植し 16 日目に回収し、子宮内における発育状況を調査すると、1 胚移植区では PA 胚が回収されないが (0/3)、2 胚移植区および 10 胚移植区では、1~15mm の PA 胚が各々 33.3%(2/6)および 100%(2/2)で回収される (表 2)。

3. PA 胚移植後の発情回帰日数

PA 胚の黄体退行抑制効果を推察するため、受胎牛へ発情後 7 日目に新鮮 PA 胚を 1 胚または 2 胚移植し、移植後の発情回帰日数を通常の無投与時の発情周期と比較すると、2 胚移植区は 1 胚移植区に比べ発情周期の延長する牛が多く、延長する発情回帰日数も 30.6 日と長い (表 3)。

4. PA 胚共移植成績

発情後 7 日目に凍結胚を黄体側子宮角内にダイレクト移植し、凍結・融解後生存性を確認した PA 胚 2 胚を反対側子宮角内に移植する共移植区と胚のみを移植する対照区の移植成績を比較すると、両者の受胎率に差はみられない (表 4)。

[技術の活用面・留意点]

1. PA 胚は IVF 胚に比べ耐凍性が低く、凍結・融解処理には注意が必要である。
2. 受胎牛の子宮内へ PA 胚を移植すると、胚と同様な発育が確認され、黄体退行抑制効果が認められる。

3. 胚と生存を確認した PA 胚 2 胚との共移植受胎率は、胚のみを移植した受胎率と差がない。

[具体的データ]

表1 単為発生胚における凍結方法と凍結融解後の生存率

凍結方法	供試胚数	生存率(%)		72hr後脱出胚盤胞率(%)	備考
		24hr	48hr		
10%EG	182	45.6 ^{a*}	40.7 ^a	18.7 ^{**}	
10%EG+Tre	92	41.3 ^a	41.3	22.8	
対照区 10%EG	24	79.1 ^b	62.5 ^b	20.8	IVF胚

*: 生存率(生存胚数/供試胚数)

** : 脱出胚盤胞率(脱出胚盤胞数/供試胚数)

^{a,b}: 異符号間で有意差あり(p<0.05)

表2 単為発生胚の移植回収成績

移植胚数	移植頭数	回収成績(%)	回収胚(胚数、長径:mm)
1(新鮮胚)	2	0/2(0)	
1(凍結胚)	1	0/1(0)	
2(新鮮胚)	6	2/6(33.3)	(2:2mm,1mm) (2:3mm,1mm)
10(新鮮胚)	1	1/1(100)	(3:15mm,4mm,1mm)
10(凍結胚)	1	1/1(100)	(1:2mm)

表3 PA胚移植による受胎牛の発情回帰延長日数

移植	移植頭数	発情回帰延長牛	延長する発情日数(日)		
			最短	最長	平均*
PA胚1	8	4	1	36	14.8±15.7
PA胚2	8	7	2	51	30.6±21.4
栄養膜小胞**	11	6	1	7	3.5±2.2

*: 平均±SD

** : 参考(平成16年度研究成果情報より)

表4 移植成績

移植区分	凍結方法	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
共移植区	EG	18	7	38.9
	EG+Tre	2	1	50.0
対照区	EG	19	8	42.1
	EG+Tre	7	2	28.6

[その他]

研究課題名：受精卵移植技術高度定着化確立事業

研究期間：2006～2008年度

研究担当者：笹木教隆(福井畜試)、山口大輔(茨城畜セ)、齋藤公治(熊本畜研)、安川幸子(奈良畜技セ)、橋谷田 豊(畜草研)