

[平成 17 年度 普及に移す技術]

- [普及に移す技術名] ウシ栄養膜小胞は発情周期を延長させ胚との共移植で受胎率向上
- [要約] ウシ栄養膜小胞を子宮内に注入すると、発情回帰が遅延し、血中プロゲステロン濃度が発情後 25 日目まで平均で 1 ng/ml を維持して黄体退行抑制が推察された。また、胚との共移植では、受胎率が 50 % 以上になり向上効果が期待できる。
- [キーワード] 栄養膜小胞、共移植、受胎率、血中プロゲステロン濃度
- [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 i-sakai-af@pref.fukui.lg.jp
- [分類] 参考

[背景・ねらい]

ウシの受精卵移植の普及定着には、受胎率を 50 % 以上に向上させることが課題であり、受卵牛の選定・受精卵の品質・移植操作の面からさまざまな検討がなされている。最近、胎盤へと分化する栄養膜細胞が産生するインターフェロン が妊娠維持に重要な役割を果たすことに注目し、子宮灌流により採取した胚より栄養膜を細切し培養後に形成される栄養膜小胞 (Trophoblastic vesicle、以下 TBV) と胚の共移植によって受胎率が向上するとの報告がある。

そこで、TBV の子宮内注入による黄体機能への影響を明らかにするため、発情回帰の状況と黄体長径および血中プロゲステロン濃度の動向、さらに胚との共移植による受胎率の向上効果について検討する。

[技術の内容・特徴]

1. 発情回帰の状況

同一供試牛を用いて、発情後 7 日目に黄体側子宮角へ緩衝液 (PBS) を注入する方法と TBV3 個を注入する方法における発情回帰を比較した。TBV3 個を注入した場合、発情周期が 1 から 7 日間の延長する個体が 11 頭中 6 頭で確認された(表1)。

2. 黄体長径および血中プロゲステロン濃度の動向

同時に、黄体長径および血中プロゲステロン濃度の推移を比較した。血中プロゲステロン濃度は、PBS 注入では通常発情周期に応じた推移を示した。一方、TBV3 個注入では発情後 25 日目まで平均で 1 ng/ml を維持し、黄体退行抑制が推察された(図1)。黄体長径の推移には差がなく、また黄体長径と血中プロゲステロン濃度との相関もみられなかった(図2)。

3. TBV・胚の共移植による受胎率向上

TBV3 個・胚 1 個を、1.8M のエチレングリコール (EG) を耐凍剤として用いたダイレクト法によって、凍結融解後に共移植した。また、この時、保存溶媒への 0.1M のトレハロース (Tre) の添加と無添加についても比較検討した。その結果、いずれも、受胎率は 50 % 以上と高く TBV と共培養しない胚 1 個移植に比べて良好な成績であった。特に 0.1MTre 無添加の共移植では、68.8 % と高い受胎率が得られた(表2)。

[技術の活用面・留意点]

1. TBV・胚のダイレクト法による共移植によって、受胎率が向上する一定の効果が認められた。この手法は、野外応用の可能性が高く、受胎牛へのホルモン投与方法との併用効果も期待できる。
2. 実用化のためには、TBV・胚の同一ストロー内での凍結保存法の改善・簡易化が必要であり、ガラス化法などの検討が求められる。

[具体的データ]

表 1 発情回帰日数

牛	TBLot.	対照区	試験区	延長日数
I004	ISOV1	21	21	0
I013	ISOV2	22	22	0
I115	ISOV2	22	29	7
I117	ISOV2	22	24	2
N001	NIVF3	21	21	0
N002	NIVF4	20	20	0
N003	NSOV5	20	21	1
Y022	YSOV6	22	27	5
Y029	YSOV6	23	22	-1
F056	FSOV7	24	27	3
F040	FSOV8	24	27	3
平均 ± SD		21.9 ± 1.4	23.7 ± 3.2	1.8 ± 2.5

対照区:PBS 注入
試験区:TBV 注入

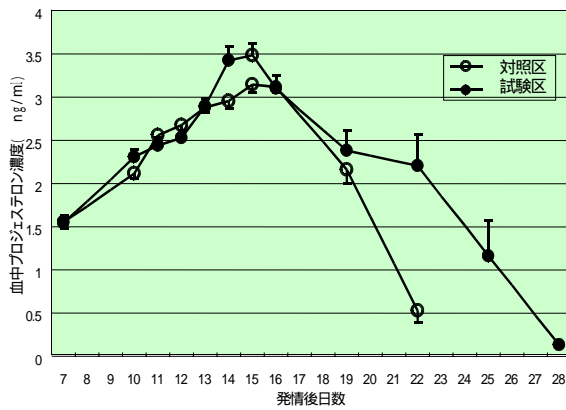


図 1 血中プロジェステロンの濃度の推移

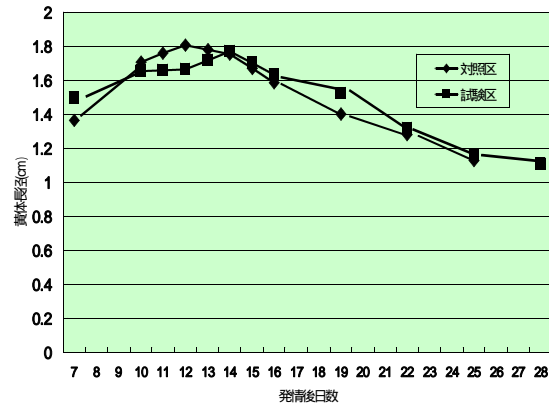


図 2 黄体長径の推移

表 2 移植成績

		移植数	受胎数	受胎率
1.8M EG + 2.0% CS 加 DPBS	試験区	32	22	68.8
	対照区	32	16	50.0
1.8M EG + 2.0% CS 加 DPBS + 0.1M Tre	試験区	31	17	54.8
	対照区	43	17	39.5

対照区:胚移植
試験区:共移植

[その他]

発表論文等：

- 1) 渡辺ら (2002) 第 17 回東日本受精卵移植研究会講要 5 . 34-35.
- 2) 渡辺ら (2003) 第 18 回東日本受精卵移植研究会講要 17 . 50-51.
- 3) 宮地ら (2004) 第 19 回東日本受精卵移植研究会講要 6 . 30-31.