

〔技術のページ〕 受精卵の新しい性判別方法と受胎性について

岡山県農林水産総合センター 畜産研究所
改良技術研究室 中原 仁

近年、受精卵移植技術は、改良を効率的に進める技術として普及されており、特に、性判別技術は計画的な後継牛生産につながる技術として酪農家を中心に利用が進んでいます。現在、岡山県では県下全体で移植される乳用牛受精卵の70%程度が性判別された雌受精卵で占められるまでになっており、酪農家のみなさんにとってはなくてはならない技術となっています。

しかし、性判別受精卵は、図1に示すとおり受精卵の一部を切断しているため、凍結保存が難しく通常のスローを使った凍結とは異なるガラス化法を用いて凍結されています。この方法は良好な生存性が得られる反面、クライオトップと言われる特殊な道具（図2）を用いているためダイレクト移植が行えないという問題点を抱えています。

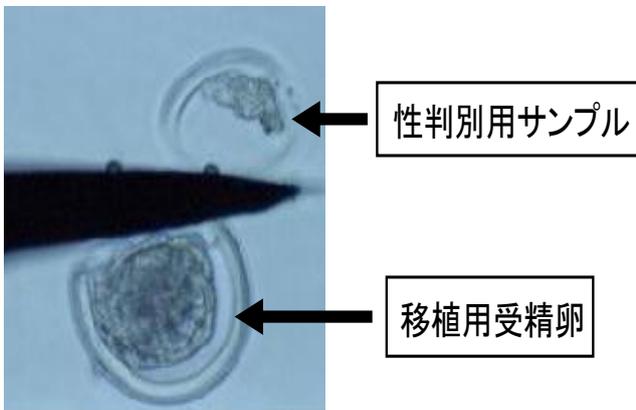


図1 切断法による性判別

そこで、性判別胚の普及をさらに促進するため畜産研究所では、胚を切断しない新しい性判別方法を開発し、ダイレクト移植の可能性を検討しているのです。その概要を紹介します。

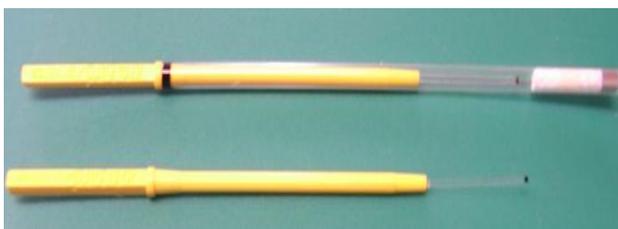


図2 クライオトップ

1. 新しい性判別方法

これまで性判別は受精卵を切断する方法が用いられていましたが、この方法では受精卵を保護している透明帯を消失させてしまっており、耐凍性の低下につながっていると考えられていました。新しい性判別方法は、透明帯内の卵細胞に傷を付けずに透明帯に微細な切開を行い、その部分から露出した性判別用細胞を採取するという方法で透明帯切開法（図3）と呼ばれています。この方法

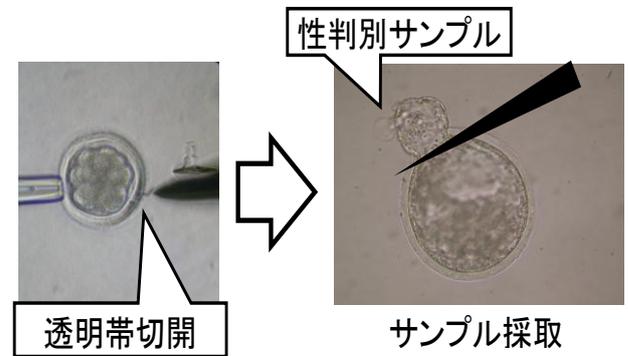


図3 透明帯切開法

は、透明帯を温存した状態で性判別サンプルの採取が行えることから凍結によるダメージの低減が期待されています。しかし、直径約1mmの受精卵で透明帯を切開する位置や切開する大きさ（切開幅）をコントロールすることが難しく、切開コ

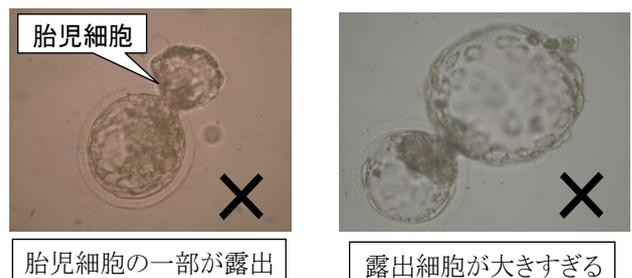


図4 透明帯切開法による成功と失敗例

ントロールを間違えると図4のように露出部分が大きくなったり、将来胎児となる部分の細胞が露出してしまつて失敗することが多くなるため普及していない現状にあります。

2. 畜産研究所での取り組み

そこで、私たちは、透明帯切開法による性判別成功率の向上とダイレクト移植の受胎性について検討しました。

1) 透明帯切開法による性判別成功率

成功率を向上させるため、透明帯切開に適した受精卵の発育ステージや切開幅をコントロールしやすい切開器具について詳細な検討を行いました。

その結果、切開に適した発育ステージは切開場所が特定でき、切開時に卵細胞へ傷をつける可能性が低い初期胚盤胞であることがわかりました。また、切開器具は、透明帯を切るのではなく、穴をあける感覚で行えるクローン受精卵の作成に利用していたガラス製の針を用いると行いやすいことが判明しました。

これらの条件で透明帯切開を行うと、これまで行っていた受精卵の切断法と同等の性判別サンプル採取率ならびに性判別成功率が得られることが明らかとなりました。

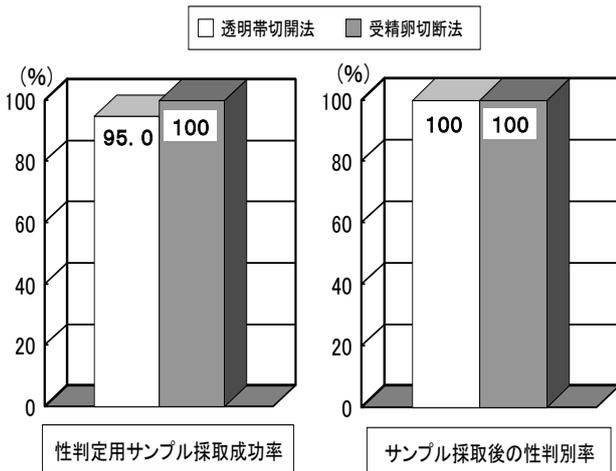


図5 透明帯切開による成功率

2) 移植成績

透明帯切開法による受胎性を検討するため、切開法で性判別した受精卵をストローを用いて緩慢凍結後、ダイレクト移植を行いました。その結果、同様の方法で凍結、移植を行った性判別を実施していない無傷の受精卵と同等の受胎率が得られました。また、以前に実施した切断法による受胎率と比較しても良好な受胎率が得られていることから、透明帯切開法は凍結によるダメージを低減できる性判別手技ではないかと考えられます。

表1 透明帯切開法による受胎性

区分	性判別法	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
通常胚	—	40	15	37.5%
性判別胚	切開	21	8	38.1%
性判別胚 ^{*)}	切断	32	9	28.1%

*) 平成12, 13年度に実施した成績

3. 今後の課題

透明帯切開法は、期待したとおり性判別胚の凍結によるダメージを軽減できる性判別方法であると考えられます。

しかし、実用化するには性判別サンプル採取率やダイレクトによる受胎率をより一層向上させていく必要があると考えています。今後、さらなる技術精度の向上や移植成績の蓄積に取り組むことで、性判別受精卵の庭先融解を普及させていきたいと考えています。