

OPU-IVF 技術を活用した種雄牛造成

Efficient Production of sires by Ovum Pick-up and In Vitro Fertilization

安達聡、藤田達男

要 旨

本研究は、経膣採卵－体外受精（OPU-IVF）技術を活用した体外受精胚移植による産子生産法を、本県における効率的な種雄牛造成の一手法として確立することを目的としている。

今回、希少な精液から短期間に多くの子牛を生産し、選抜された候補牛の能力を実証することで、本技術を活用した種雄牛造成の有効性について検討した。

1. 本研究部で飼養する高能力供卵牛 8 頭に「安福 1 6 5 の 9」の精液を用いた OPU-IVF による体外受精胚移植を行い、計 11 頭の雄産子を得た。
2. 雄産子の中から遺伝病を保有していない 2 頭を種雄牛候補として選抜し、産肉能力検定（直接検定法）を実施した。
3. 候補牛 2 頭は発育不良等により検定落選となったものの、うち 1 頭は（一社）家畜改良事業団に買い上げられ、期現場後代検定候補種雄牛として繋養されることとなった。

取組の結果、短期間で 2 頭が種雄牛候補として選抜されるに至り、効率的な種雄牛造成の手法として OPU-IVF による体外受精胚移植技術の有効性が示唆された。

（キーワード：OPU-IVF、効率的な種雄牛造成）

背景および目的

本県の繁殖雌牛の父方系統は現在系系が約半数を占め、今後は気高系雌牛の保留増加も想定されていることから、これらに交配する系統として但馬系ブランド種雄牛の誕生が望まれている。そこで本研究部では、産肉能力成績が全国でトップクラスの但馬系種雄牛である「安福 1 6 5 の 9」と本県高能力繁殖雌牛との交配により、新たな種雄牛の造成を行うこととしている。

しかし、「安福 1 6 5 の 9」の凍結精液は流通量が極めて少なく、また、遺伝病であるクローディン 1 6 欠損症等の不良形質遺伝子を保因していることから、より効率的に多くの子牛を生産して遺伝病フリーの種雄牛候補を選抜する必要がある。

今回、これらを解決する手段として経膣採卵－体外受精（OPU-IVF）による体外受精胚移植技術を活用し、効率的な種雄牛造成の手法としての本技術の有効性について検討した。

試験方法

本研究部で飼養する供卵牛 8 頭に「安福 1 6 5 の 9」の精液を用いた OPU-IVF により体外受精卵の生産を行った。卵子の成熟培養は 0.02AU/ml FSH（アントリン R10；共立製薬）、1 μ g/ml Estradiol-17 β （SIGMA）、0.2mM ピルビン酸（SIGMA）、5%牛胎児血清（FCS；GIBCO）添加 TCM-199（GIBCO）で 20～22 時間、媒精は牛体外受精用媒性液 IVF100（機能性ペプチド研究所）で 6 時間（精子濃度 5.0 \times 10⁶/ml）、いずれも 38.5 $^{\circ}$ C、5%CO₂ in air、湿潤の条件下で実施した。その後、卵丘細胞を除去し、発生培養は 5% FCS 添加 SOFaa で 7～8 日間、38.5 $^{\circ}$ C、90%N₂、5%CO₂、5%O₂、湿潤の条件下で実施した。

生産された胚盤胞期胚は、20% FCS 添加リン酸緩衝生理食塩水（PBS）に移してストロー内に封入した後、30 $^{\circ}$ Cに保温して輸送し、農家の飼

養する受卵牛に新鮮卵として移植した。その後生産された雄子牛から遺伝病フリーで体型的に優れたものを種雄牛候補として選抜し、産肉能力検定（直接検定法）を実施した。

結果及び考察

供卵牛 8 頭に延べ 34 回の OPU-IVF を実施して計 156 個の胚を生産し、発生培養開始後 8 日目の胚盤胞発生率は 30.8%であった。

(表1) 胚生産成績

供卵牛	供試回数	採取卵子数	供試卵子数	7日目		8日目	
				胚盤胞数	胚盤胞率 (%)	胚盤胞数	胚盤胞率 (%)
D136	3	9	6	2	33.3 ±22.2	2	33.3 ±22.2
D140	3	75	45	19	42.2 ±8.8	19	42.2 ±8.8
D141	4	65	63	19	30.2 ±7.8	21	33.3 ±8.3
D142	3	49	27	10	37.0 ±4.6	11	40.7 ±8.0
D147	3	114	79	23	29.1 ±5.3	28	35.4 ±8.5
D150	4	61	56	22	39.3 ±4.1	23	41.1 ±5.8
D151	3	50	22	4	18.2 ±11.0	4	18.2 ±11.0
D154	7	169	140	26	18.6 ±5.2	30	21.4 ±6.2
D155	4	72	68	17	25.0 ±5.5	18	26.5 ±4.9
計	34	664	506	142	28.1 ±2.9	156	30.8 ±3.1

注): mean±SEM

発生培養開始後 7 日目に胚盤胞期に達した胚のうち B ランク以上の胚計 95 個を移植して 24 頭が受胎し、移植受胎率は 25.3%であった（表 2）。

(表2) 移植成績

供卵牛	移植頭数	受胎頭数	受胎率
D136	2	0	0.0%
D140	7	2	28.6%
D141	8	4	50.0%
D142	9	5	55.6%
D147	15	4	26.7%
D150	19	3	15.8%
D151	3	1	33.3%
D154	16	3	18.8%
D155	16	2	12.5%
計	95	24	25.3%

受胎牛から計 11 頭の雄子牛が誕生し、遺伝病を保因していない 2 頭を種雄牛候補として選抜した（表 3）。

(表3) 雄子牛遺伝病保因状況

供卵牛	供卵牛血統	No.	遺伝病保因状況						
			M SHR	CL16	B3	F13	CHS	MCSU	MOD
D140	敏次郎-第20平茂-忠福	1	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
D141	福桜-安平-糸秀	2	保因	保因	正常	正常	正常	正常	正常
		3	保因	正常	正常	正常	正常	正常	正常
		4	保因	正常	正常	正常	正常	正常	正常
D142	糸福-第2福鶴-八重福	5	正常	保因	正常	正常	正常	正常	正常
		6	保因	保因	正常	正常	正常	正常	正常
D147	第2安鶴土井-谷福土井-田森土井	7	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
		8	保因	正常	正常	正常	正常	正常	正常
D154	金幸-神高福-宝勝	9	保因	保因	正常	正常	正常	正常	正常
D155	金幸-神高福-第20平茂	10	正常	保因	正常	正常	正常	正常	正常
		11	保因	正常	正常	正常	保因	正常	正常

※M SHR: メラン細胞刺激ホルモン受容体、CL16: 牛クローニン16欠損症、B3: 牛バンド3欠損症、F13: 牛第13因子欠損症、CHS: 牛子エテックヒガン症候群、MCSU: 牛モリブデン補酵素欠損症、MOD: 眼球形成異常症

選抜した 2 頭の産肉能力検定（直接検定法）を実施したものの、発育不良等により検定落選となった（表 4）。

(表4) 直接検定法成績

No.	1	7
名号	経4	経10
終了時日齢	346	325
終了時体重(kg)	262	270
終了時体高(cm)	113.0	115.6
終了時体高σ値	-2.9	-1.6
登録点数	78.6	78.3
優点	資質、中軀、乳器	資質、中軀、前軀
欠点	発育、体積、後軀、肩付	発育、体積、後軀、体伸

No.7（経 10）は、その後（一社）家畜改良事業団に買い上げられ、「安福盛」と改名されて平成 23 年度後期現場後代検定候補種雄牛として繋養されている。

今回の取組において、種雄牛「安福 165 の 9」の性質として遺伝病保因率の高さや、発育面での課題等が産子に見られたものの、2 頭が種雄牛候補として選抜されるに至っており、効率的な種雄牛造成の手法として OPU-IVF による体外受精卵移植技術の有効性が示唆された。

本技術のさらなる普及定着を図るうえでは移植受胎率の改善が必要であり、より高品質な胚の生産、受卵牛の管理（発情同期化法等）、畜産試験場・家畜保健衛生所・受精卵移植師との連携の強化等について検討する必要があると思われる。本研究部では現在、試験課題「経腔採卵一体外受精による良品質胚生産の検討」においてこれらの改善に向けた研究を進めているところである。