

牛の栄養膜小胞利用による人工授精受胎率の向上

農業研究センター 畜産研究所 生産技術開発部
担当者：谷口 雅律

研究のねらい

牛の胚移植技術の普及において、受胎率の向上は必須であるが、ここ数年受胎率は 50 %前後を推移している状況である。近年、着床胚の栄養膜(Trophoblast)細胞が産出するインターフェロン γ が胚と母胎間の妊娠認識や黄体退行阻止による妊娠維持に関与しているといわれ、また、栄養膜を細切し、短期間培養後に形成される栄養膜小胞(Trophoblast vesicle、以下 TBV)を胚と共移植することにより受胎率向上の可能性が報告されている。

今回、これらの知見を実証・活用し、伸長期胚盤胞由来の TBV 作出試験及び凍結融解試験並びに共移植による移植試験を実施し、受胎率向上を図る。

研究の成果

- 伸長期胚盤胞の採胚
 - 体外受精胚移植後回収区(IVF 区)
生存性を確認した体外受精胚 10 ~ 20 個を 7 日目に移植し 14(day14)及び 16 日目(day16)に採胚。
 - 過剰排卵後回収区(SOV-AI 区)
過剰排卵処理後の day14 及び day16 採胚を実施。
その結果、両区とも伸長期胚盤胞が回収できる(表 1)。
- 栄養膜小胞の作成
回収した伸長期胚盤胞から栄養膜を切除後、1 ~ 1.5mm に押し切るように細切し、100 μ M ME 添加 20%CS-TCM199 中で、38.5 $^{\circ}$ C、5%CO₂ in air の気相条件により 20 時間培養する。
その結果、SOV-AI day16 区が最も効率的に作成できる(表 1)。
- TBV の凍結融解後の生存性
10%IFN γ リコールで緩慢凍結した(EG 法)TBV の融解後 24 及び 48 時間後生存性は高い(表 2)
その結果、EG 法による胚との共移植が可能となる。
- 共移植試験
EG 法により TBV3 個を胚と同じストローム内で凍結し、共移植した結果、共移植区は非共移植区より受胎率が高い。
これらのことから TBV の効果があると思われる(表 3)。

普及上の留意点

- 県内各胚移植機関への安定的な TBV 供給が必要である。
- TBV の作成及び取り扱いには、一定レベルの技術修得が必要である。

表1 伸張期胚盤胞回収及びTBV作出試験成績

	回収 日齢	実施頭数 (頭)	移植総数 (個)	回収個数 (個)	伸張期胚盤胞個数 (%) ³⁾ (個)	切断後個数 (個)	TBV個数 (%) ⁴⁾ (個)
IVF区 ¹⁾	day14	4	50	24	11(45.8)a	34	24(70.6)a
	day16	6	60	18	6(33.3)	47	44(93.6)b
SOV-AI区 ²⁾	day14	6	-	30	19(63.3)b	61	54(88.5)
	day16	7	-	21	13(61.9)c	167	156(93.4)b

a,b:P<0.01 a,c:P<0.05

1)体外受精胚移植後回収区

2)過剰排卵処理後回収区

3)伸張期胚盤胞割合 / 回収個数

4)TBV個数 / 切断後個数

表2 TBV凍結融解の生存性試験成績

融解個数 (個)	24時間後生存数 (%) (個)	48時間後生存数 (%) (個)
82	73(89.0)	68(82.9)

表3 共移植試験成績

	移植頭数 (頭)	胚区分	受胎頭数 (頭)	妊否不明 (頭)	不受胎頭数 (頭)	受胎率 (%)
共移植区	27	体内胚	19	1	7	73.0
非共移植区	21	体内胚	10	1	10	50.0

* : P<0.1

受胎牛：品種問わず、黄体、子宮検査実施