

過剰排卵処理 (SOV) と経膈採卵 (OPU) を組み合わせた牛胚生産の検討

小原 剛・相沢健一・西宮 弘・小松 恵・高橋利清・小西潤一

(秋田県畜産試験場)

Examination of production of bovine embryos utilizing
super ovulation (SOV) and ovum pick up (OPU) techniques

Tsuyosi OBARA, Kenniti AIZAWA, Hiroshi NISINOMIYA, Megumi KOMATSU

Tosikiyo TAKAHASHI and Jyunnti KONISI

(Akita Prefectural Experiment Station of Animal Industry)

1 はじめに

近年、胚移植技術 (ET) の定着により家畜改良が急速に進んできた。また、それに伴い特定ドナー牛血統構成胚への需要が高まっている。しかしながら胚生産においてはホルモン剤によるSOV技術の研究が多くなされてきたにも関わらず¹⁾、SOVの反復やドナー牛の加齢など種々の要因により採卵個数、正常胚個数の向上は難しい状況となっている^{2~3)}。また現行のSOV技術による胚生産の場合、通常2~3ヶ月毎の採卵となり1頭のドナー牛から年間に生産できる胚の数も限られてくる。このような状況の中でSOV技術にOPU技術を組み入れ胚を生産する技術に関する報告もある⁴⁾。しかしSOV-SOV間におけるOPUの実施とSOV採卵成績に与える影響についての報告は少ない。OPU技術の場合、週1~2回の採卵を繰り返しても卵巣に異常はないとされている⁵⁾。今回の試験では、特定ドナー牛からの胚生産向上を目的に、初回SOV1週間後からのOPU実施期間と、その後のSOV採卵成績の関係について検討したので報告する。

2 試験方法

(1) 供試牛

当场繁殖の繁殖経産黒毛和種12頭を供試した。

(2) OPUの方法

探触子を膈内に挿入後、直腸より卵巣を保持し超音波画像に映った卵胞を確認しながら採卵針を穿刺し、卵胞液ごと未受精卵子を回収した。尚、吸引圧は全て90mmHgに設定して行った。回収液は血餅による吸引管の閉塞を防ぐために5IU/mlヘパリン注射液 (アベンティスファーマ社、ノボヘパリン)、結晶ペニシリンを添加したエンブリオテック (全薬工業) を用いた。回収した液はセルコレクターに移し洗浄・濾過後、顕微鏡下で形態的に鑑別しランクA~Dに分類しA, Bを正常卵とした。

(3) SOV: SOV処置は、発情から9~14日目より卵胞刺激ホルモン (FSH: アントリン、デンカ製薬) 24AUを3日間頸部筋肉内に漸減投与し、3日目にPGF2 α 類縁体 (エストラメイト、住友製薬) をクロブロステノールとして750 μ gを頸部筋肉内に投与し発情を誘起した。

発情発現から約半日後に人工授精を1回行い、発情の1週間後に常法により胚を回収した。回収した胚は顕微鏡下で形態的に鑑別し正常胚 (A~C)、変性・未受精卵胚に分類した。

(4) SOV採卵後のOPU実施期間とその後のSOV成績の検討

試験概要について図-1に示した。初回SOV1週間後から週1回連続3・5・7週に区分しOPUを実施し、それぞれの区でOPU成績について検討した。また連続OPU実施期間がSOV採卵成績にどのように影響を与えるかについて、OPU前後のSOV採卵成績により比較検討した。各区の実施頭数はそれぞれ4頭ずつとした。

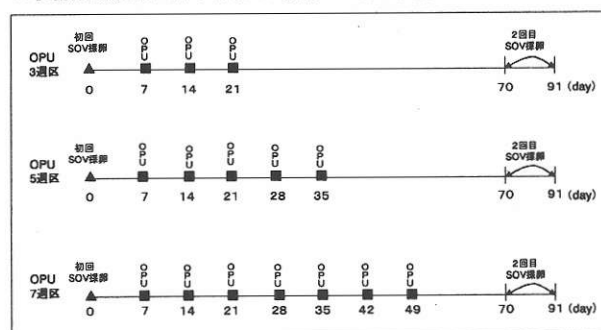


図-1 試験概要

3. 試験結果および考察

各区のOPU全体の成績について表-1に示した。3週区と5週区で吸引卵胞数、回収卵子数に有意差が見られたが、その他に大きな差は認められなかった。次に各区の週毎のOPU成績について表-2に示した。5週区で週毎に回収卵子数が減少する傾向が見られたが、3週区、7週区においてはOPU期間中大きな差が認められなかった。

各区連続OPU後のSOV採卵成績について表-3に示した。3週区と5週区でOPU前のSOV成績と比べ回収卵数、正常卵数平均が低下しているが、これは特定個体が初回SOV採卵成績が著しく突出していた為のパラツキによるもので、他の個体毎でみると初回SOVと大きな差はなく、正常卵率においては初回SOV成績とほぼ同様の結果となった。しかし、OPU連続7週実施区では回収卵数、正常卵数、正常卵率とも有意に低下し、ほとんど採取出来な

かった。OPUの場合、週1～2回の採卵を繰り返しても卵巣に異常はないとされているが、連続OPU期間が長くなると、卵巣穿刺による卵巣内末梢血管の損傷や、内分泌的作用がホルモン剤への反応及び排卵機序に何らかの影響を与えることが考えられる⁶⁾。今回の結果より、SOV～SOVまでの期間にOPUを応用する場合、連続5週以内に留めることでOPU後のSOV採卵成績に影響を与えずに未受精卵子を回収出来ることが示唆された。これにより牛体外由来胚・体内由来胚を組み合わせ生産することで、限られたドナー牛を無理なく利用することが可能と考えられる。今回の試験では、ドナー毎に初回SOV成績におけるバラツキがかなりあった為、今後供試ドナー牛の厳選し、例数を増やして更なる検討をしていく必要がある。

引用文献

- 1) 沼辺孝ら. 1996. 第3回日本胚移植研究会講演要旨 P-53
- 2) Hasler JF, McCauley AD, Schermerhorn EC, Foote RH. (1983): Superovulatory responses of Holstein cow: Theriogenology, 83-99
- 3) Donaldson LE. (1984): Effect of age of donor cows on embryo production: Theriogenology, 963-967
- 4) 轟木淳一ら. 1997. 鹿児島県肉用牛改良研究報告第2号. P13
- 5) Kruip, Th. A. M., R. Boni, M. W. M. Roelofs, Y. A. Wurth & M. C. Pieterse (1993): Theriogenology, 39, 251
- 6) 赤塚裕人ら. 1999. 宮崎県畜産試験場研究報告. 第12号, 20-26

表一 各区OPU全体成績 (mean±SD) 各区n=4

	吸引 卵胞数	回収 卵子数	卵子 回収率 (%)	正常 卵子数	正常 卵子率 (%)
3週区	19.1±9.7a	15.2±8.8a	77.4±18.1	9.8±4.8	70.5±14.4
5週区	14.6±2.3b	10.6±2.1b	72.8±12.1	8.0±2.4	75.0±12.4
7週区	16.4±5.5	12.1±5.8	71.3±15.7	8.9±5.2	71.8±14.7

* a) vsb) ~P<0.05

表二 各区週毎のOPU成績 (mean±SD) 各区n=4

	吸引 卵胞数	回収 卵子数	卵子 回収率 (%)	正常 卵子数	正常 卵子率 (%)
3週区					
1週目	19.8±9.8	16.5±8.8	83.6±14.4	11.3±4.6	72.8±12.9
2週目	17.8±12.6	14.0±10.8	75.8±26.0	9.3±6.7	72.3±18.9
3週目	19.8±9.3	15.0±9.2	71.4±14.9	9.0±3.7	66.4±14.2

	吸引 卵胞数	回収 卵子数	卵子 回収率 (%)	正常 卵子数	正常 卵子率 (%)
5週区					
1週目	16.0±2.7	12.8±2.6a	79.4±6.0a	10.3±3.0a	81.0±13.7
2週目	14.8±1.5	12.0±1.4c	81.3±3.4a	10.0±0.8a	84.0±9.5
3週目	13.8±2.4	10.5±1.0b	77.5±11.1a	7.5±1.3b	71.7±12.0
4週目	15.0±0.8	9.0±0.8bd	59.9±2.2b	6.0±1.6bd	65.8±12.3
5週目	13.5±3.4	8.5±0.6bd	66.1±17.0	6.3±1.3bd	73.3±11.6

* a) vsb), c) vsd) ~p<0.05

	吸引 卵胞数	回収 卵子数	卵子 回収率 (%)	正常 卵子数	正常 卵子率 (%)
7週区					
1週目	19.8±1.5	13.5±2.6	68.4±12.7	9.3±2.6	67.8±5.9
2週目	16.0±3.6	13.0±2.2	82.2±6.0	9.0±3.2	68.4±16.5
3週目	18.5±4.2	14.3±5.5	75.2±12.1	10.5±5.9	71.8±17.6
4週目	16.3±6.6	11.3±8.8	63.0±24.6	8.3±6.6	76.4±18.2
5週目	14.5±7.8	10.3±6.8	67.5±16.6	8.3±6.7	76.3±11.3
6週目	15.5±6.1	10.8±5.7	68.4±13.0	8.8±5.9	78.2±19.0
7週目	14.5±7.9	10.5±8.4	66.8±14.9	7.9±7.2	64.6±16.8

表三 各区OPU前後のSOV成績 (mean±SD) 各区n=4

	回収卵数	正常卵数	変性・未受精卵数	正常卵率 (%)
3週区				
OPU前	14.8±16.4	11.3±11.3	3.5±5.1	83.8±11.8
OPU後	6.5±4.7	5.3±4.3	1.3±0.5	72.1±17.6

	回収卵数	正常卵数	変性・未受精卵数	正常卵率 (%)
5週区				
OPU前	19.5±11.6	13.0±8.8	6.5±9.0	70.1±25.6
OPU後	6.8±3.6	5.3±3.1	1.5±0.6	72.8±15.4

	回収卵数	正常卵数	変性・未受精卵数	正常卵率 (%)
7週区				
OPU前	7.3±1.3a	5.0±1.6a	2.3±1.3	68.6±14.3a
OPU後	1.5±1.7b	0.5±1.0b	1.0±1.4	16.7±33.3b

* a) vsb) ~P<0.05