

# 牛受精卵移植の実用化の現状

雪印乳業(株) 受精卵移植研究所 富 樫 久

## 1 はじめに

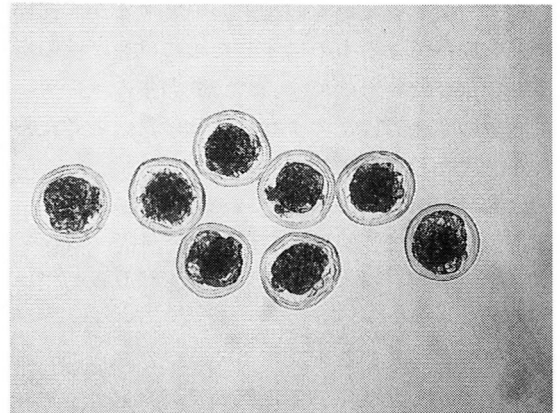
わが国における牛の受精卵移植は昭和39年に農水省畜産試験場で成功して以来、長い間、試験研究の域を出ず実用化が実現されなかった。昭和50年代に入り、北海道大学金川弘司教授によって北米の受精卵移植が日本に紹介され、当社をはじめ民間にも実用化の気運が高まった。50年代後半からは受精卵の凍結、人為的雙仔生産、2分離胚作出、さらに実験的ながらも性判別、60年代に入り体外受精に成功し、農家からの需要も次第に増加してきた。

農水省畜産局の実態調査によると、昭和63年度の実施機関数151か所、ET従事者数1,227名、供卵牛頭数5,208頭、受卵牛頭数12,258頭となっており、前年に比較すると受卵牛頭数において約1.5倍に増加している。これら移植牛の平均受胎率は新鮮卵移植で52%、凍結卵移植で38%と受胎率も年々向上してきている。わが国の受精卵移植の研究は、この10年の間に飛躍的に進展してきた。

本稿では、当社が実用に供することのできる受精卵移植の技術について紹介する。

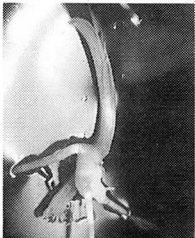
## 2 受精卵移植の意義

牛の繁殖は産業動物としての期待を担い、大部分が人工授精によって増殖することにより使命を果たしている。産業動物としての牛は繁殖・生産サイクルを繰り返しながら農家経済を成り立たせて行かなければならない。すなわち、農家経済の発展のためには、次の生産活動の展開を見通しながら、数少ない繁殖の機会を逃さず有効に活用していかなければならないと考える。能力の劣る世



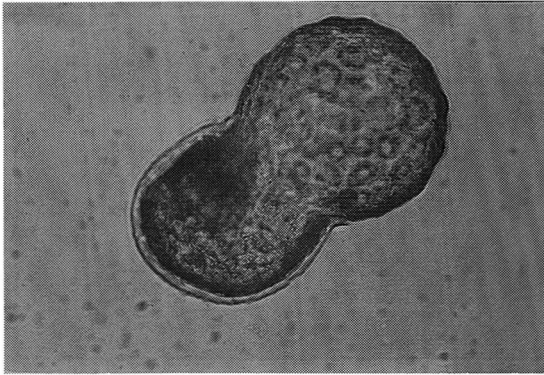
受精後7日目に採取された受精卵

## 目 次



トウモロコシの薬培養  
(花粉から再生した  
幼植物〈半数体〉)

□トウモロコシの薬培養	表②
■牛受精卵移植の実用化の現状	富 樫 久… 1
□トウモロコシ薬培養研究の現状と育種への展望	高橋 哲也… 6
■牧草・飼料作物育種へのバイオテクノロジーの利用	杉 信 賢… 9
■自給飼料の活用による高収益肉牛経営	須藤 純…13
■和牛適正肥育へ向けて	三橋 忠由…17
■集团的土地利用による飼料作物生産体系	板橋 正六…21
□酪農環境の整備にスノーミックスフラワー	薄 巖…25
□スノーミックスフラワーの生育ステージと主な品種	表③
□暮らしの中に「花と緑で、うるおいを！」スノーミックスフラワー	表④



受精後9日目の受精卵(孵化)

代の交代を早め能力優秀な牛を導入しようとする時、あるいは短期間のうちに遺伝形質の優れた牛群に揃えようとする時、ここに牛群の雌牛側からの遺伝的改良の期待が具現化される受精卵移植活用の機会があると考えられる。技術革新ともなり得るこの技術を経営計画に組み込み積極的に活用してはどうだろうか。

### 3 過排卵処置〈ホルモン処置〉(表1)

能力、血統の良いものを供卵牛とするが、採卵結果を期待できるものにするためには連産性のある牛を選びたいものです。また、供卵牛のコンディションの整え方は次のようにすれば良いと考えられる。すなわち、

- ①分娩後60日以上経過していること。
- ②正常な周期で2回以上の正常な発情(スタンディング発情・翌日排卵・黄体形成)を繰り返していること。
- ③繁殖障害でないこと。
- ④過肥でなく、活気ある毛艶の良いコンディションにしておくこと。
- ⑤乳房炎や肢蹄病などを完全に治しておくこと。

このようにして選ばれた供卵牛への過排卵処置は、黄体確認後、最終の発情から9～12日目に入

表1 過排卵処置成績

	多排卵 処置頭数	採卵数 /頭	正常卵数 /頭	正常卵率
1987	166	9.2個	5.6個	61.1%
1988	110	10.7	6.9	64.2
1989	39	9.8	6.5	65.8

注) \* 1989年は7月末まで。

る。通常使用されるホルモン剤などは下垂体前葉性腺刺激ホルモン(FSH)とプロスタグランジンF<sub>2</sub>α (PG) が用いられる。この処置によって誘起される発情の観察は、発情行動で最も大切なスタンディング発情を観察することが大切です。スタンディング発情発現後、半日後に一本、さらに半日後一本の精液を人工授精する。PG処置後2日目までに、パドックに出していてもスタンディング発情が観察されない場合には潔くその後の処置、すなわち人工授精以降の処置をあきらめる必要がある。

そして、スタンディング発情から7日目に採卵する。

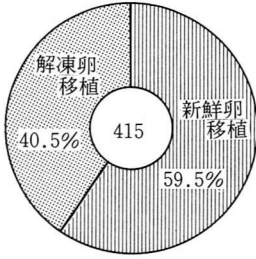
供卵牛の過排卵処置を繰り返す時、処置から次の処置までは3か月程度の牛の休養期間をとりたい。これは、卵巢や子宮の回復、ホルモンに対する感受性の回復、体力が衰えてしまう牛に対しては復調する期間などそれぞれに要する期間と考えていただきたい。また、過排卵処置について副作用的に理解されているかもしれないことについては、次のように考えられている。受精卵移植(以下ETと略す)をやると乳房炎になる? ことについては、ETをやっていない他の牛が発情の時に乳房炎になる頻度と同じであり同じ要因でもある。また、ETをやると乳量が減るか? の予測については、個体差はあるが発情時に乳量が減少する牛がいることが知られている。この種の牛に過排卵処置をした場合には同じように乳量が減るであろうことが予想できることである。

一回の過排卵処置によって採卵できる移植可能な受精卵数は5～7個であり、この中には、凍結可能なGood卵と云われる品質の良いものは3～5個と非常に少ない。生存しているが凍結できない卵質のFair卵～Poor卵と呼ばれるものは、採卵したその日のうちに新鮮卵として移植しておきたい。したがって、供卵牛と発情を同期化した新鮮卵移植のための受卵牛は5頭程度を用意したいものです。

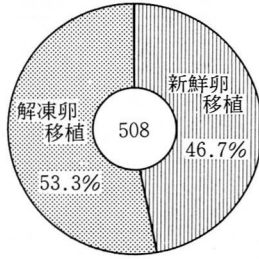
### 4 新鮮卵移植と解凍卵移植(図1,2,表2)

受卵牛(借腹牛)に移植する場合には、採卵されている受精卵が発情から7日目(6～7日齢の受精卵)のものでありますから、受卵牛の生殖器も発情

1987年



1988年



1989年上期

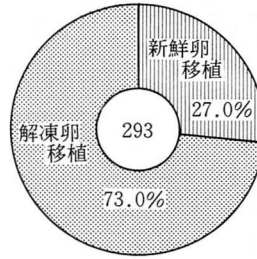


図1 新鮮卵移植と解凍卵移植の割合

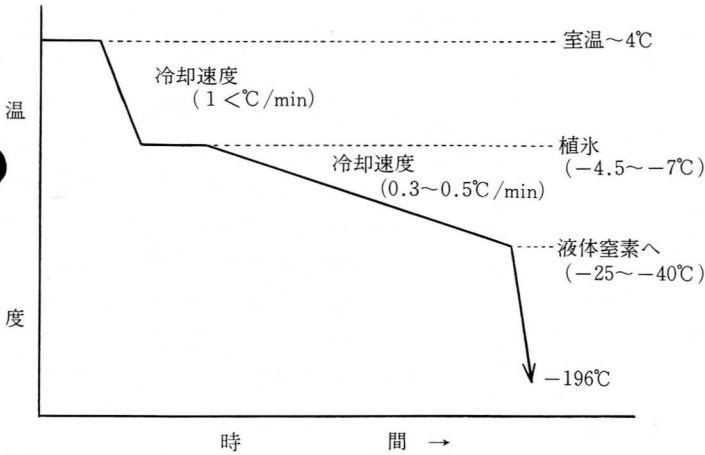


図2 凍結時の温度制御

表2 年度別受胎率の推移

	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989*
新鮮卵移植	39.7%	36.0%	45.9%	59.6%	63.2%	60.8%	69.0%
	25/63	50/139	113/246	155/260	156/247	144/237	40/58
凍結解凍卵移植	9.5%	7.9%	40.0%	44.0%	45.8%	47.6%	60.6%
	2/21	3/38	26/65	55/125	77/168	129/271	94/155

(注) \* 1989年は7月末まで。

から7日目にふさわしい状態でなければならない。これら受卵牛に新鮮卵として移植する場合には、供卵牛の発情に受卵牛の発情を同期化しておく必要がある。この場合、凍結不可能な卵質のものも現われるので受卵牛として5頭程度用意しておきたい。凍結卵の解凍移植でも同じことが言えますが、移植する受卵牛の数を確保するためには、移植しようとする数より多くの受卵牛を用意して発情の同期化処置を図る必要がある。

現在の移植法は子宮頸管経由法（非手術法）と呼ばれる方法で、牛の人工授精法に準じた形の移植法が採用されている。専用の移植器具が開発さ

れて、昭和60年代に入ってから受胎率が飛躍的に向上した。当社受精卵移植研究所の新鮮卵移植による受胎率及び解凍卵の受胎率を表3、表4に示した。

一方、当社は受精卵の凍結及び解凍に

おける耐凍剤としてのグリセリンの添加及び除去方法については、信頼できる標準的な手法として、いわゆる6ステップ法を採用していたが、今年度から添加は1ステップ法、グリセリン除去は3ステップ法を採用している（表5）。これによって、受胎率を落とさずに受精卵を凍結及び解凍する所要時間を大幅に短縮することができたと考えている。この延長線上に直接移植法と呼ばれる凍結解凍卵の移植方法がある。直接移植法とは、牛の人工授精用凍結精液と同じ操作で移植できる方法で、ストローに入れたままの凍結受精卵を温湯で解凍した後、すぐそのストローを移植器具に装着し受卵牛に移植する方法である。移植方法を今までの解凍卵移植（6ステップ法）による受胎率を落とすことなしに直接移植法に移行することはわれわれの目標となってい



和牛を供卵牛として、ホルスタインの受卵牛から生まれたE T産仔

表3 ステージ別ランク別受胎率(新鮮卵移植)

ステージ	ランク	移植頭数	受胎頭数	受胎率
Morula	Good	42	28	66.7%
	Fair	37	25	67.6
V.E.blasto	Good	40	26	65.0
	Fair	8	2	25.0
E.blasto	Good	94	61	64.9
	Fair	40	17	42.5
Blastocysto	Good	35	26	74.3
	Fair	7	2	28.6
Total	Good	211	141	66.8
	Fair	92	46	50.0

(1988,1,1~1989,7,31)

表4 ステージ別ランク別受胎率(凍結解凍卵移植)

凍結前 ステージ	ランク	解凍卵数	廃棄卵数	移植頭数	受胎頭数	受胎率
Morula	Good	32	3(9.4%)	29	11	37.9%
	Fair	2	1(50.0)	1	1	100.0
V.E.blasto	Good	65	8(12.3)	57	32	56.1
	Fair	5	3(60.0)	2	0	—
E.blasto	Good	76	8(10.5)	68	38	55.9
	Fair	21	8(38.1)	13	4	30.8
Blastocysto	Good	32	2(6.3)	30	15	50.0
	Fair	4	2(50.0)	2	0	—
Total	Good	205	21(10.2)	184	96	52.2
	Fair	32	14(43.8)	18	5	27.8

(1988,1,1~1989,7,31)

表5 3 Step法による解凍卵受胎成績

移植卵数	受胎頭数	受胎率
69	51	73.9%

(1989年6月~8月)

るが、これに一步近づいたと言える。

## 5 1卵移植と2卵移植(表6)

2卵移植とは1頭の受卵牛に2個の受精卵を移植することであるが、肉牛増産を目的とした主に双仔作出のための移植方法である。通常は、和牛受精卵2個を1頭のホルスタイン種の受卵牛に移植するのが一般的である。受胎率は約8割以上を期待できるが、問題は双仔妊娠の場合、流早産がやや多く(受胎牛の10~30%)、さらに分娩時はお産を介助してやる必要があるなど、受胎した後の管理や分娩時の観察など畜主による緻密な妊娠管理をしてやる必要がある。また、産仔獲得率は分娩牛頭数から計算すると約150%が理想値と考えら

表6 A町ET研究会の多卵移植, 分娩成績

移植卵	凍結		新鮮		合計
	2卵	3卵	2卵	3卵	
移植頭数(a)	21	6	3	2	32
受胎頭数(b)	19	6	3	0	28
受胎率(b)/(a)	90.5%	100%	100%	0%	87.5%
流産頭数(c)	3	0	0	—	3
流産率(c)/(d)	15.8%	0%	0%	—	10.7%
分娩頭数(d)	13	1	0	—	14
うち双仔分娩頭数(e)	4	1	—	—	5
うち単仔分娩頭数(f)	9	0	—	—	9

(1987年6月~1989年8月)

れているが、120~130%の率となることが多いようである。ホルスタイン種から和牛の単仔が産まれる場合は、和牛から産まれるより若干大きく、ホルスタイン種から和牛の双仔が産まれる場合には、単仔より若干小さく産まれることが多い。そして、小さく産まれた和牛は耐病性にやや乏しいようである(特に下痢, 肺炎)。最近、肉牛の双仔生産の気運が高まっており、和牛の適切な人工的哺育管理技術が確立されることを期待したい。2卵移植に当たっ

ては、繁殖可能な雌牛を生産できる確率が低くなり、フリーマーチン牛が多く生産されることを念頭におかなければならない。これを避けるには、後に述べる分離胚のペアを1頭の受卵牛に移植する方法を選択するべきである。いづれにしても双仔生産に取り組む場合、確固とした経営理念を持って取り組む決意をした上で、受胎した受卵牛の管理、分娩時の立会い、または介助、双仔の哺育管理など、管理を徹底する強い意志のもとに取り組んで欲しいと願っている。

## 6 人為的2分離胚の移植(表7)

2分離胚を作出する技術は、人工授精後7日目まで発育した受精卵(胚)をマイクロマニピュレーターを使って人為的に2分離胚を作り、これを様々な用途に向けていき、効率の良い受精卵移植を展開しようという技術である。効果は、①移植機会が2倍にやり、期待できるET産仔の数も2倍となる。②1卵性双子を1頭の受卵牛から同腹双仔

表7 透明帯除去分離胚の1卵ないしは2卵移植による妊娠率の比較

( )内は%

	分離胚移植		非分離胚移植
	2卵	1卵	対照
供試胚数	13	31	48
分離胚数	26	62	—
受卵牛頭数	13	62	48
妊娠頭数	8(61.5)	45(72.6) <sup>c</sup>	35(72.9)
双子妊娠頭数	7(53.8) <sup>b</sup>	15(48.4)	—
正常1卵性双仔(組)	2(15.4)	14(45.2)	—
正常産仔数 <sup>a</sup>	6(46.2)	44(141.9)	35(72.9)

a 正常産仔数/供試胚数

b 2組は流産, 1組は死産, 2組は未熟産仔と正常産仔または死産仔

c 1頭流産

(1989年, THERIOGENOLOGY 清家ら)

を作出するか(フリーマーチン牛を避けたいとき, 受卵牛に不足しているときなどに採用する手法)。  
③2頭の受卵牛から一卵性の異母双仔として作出する。  
④2分離した一方を性判別した後に, 雄または雌と判定された他方の分離胚を移植または廃棄する。ただし, 分離胚作出の実用面への応用は, 現状では凍結卵には生存率の問題があり新鮮卵への操作のみに限定したいと考えている。しかしながら, これら新鮮分離胚の移植による受胎率は, 分離操作を加えない受精卵のそれと比較してもさほど低下しないようである。受精卵移植の効率を追求できる技術であるので, 積極的に活用して行きたい。

## 7 受精卵の性判別

受精卵の性判別は畜産界の悲願とも言える命題であり開発を急いでいるが, いまだ簡単に利用できるものとはなっていない。取り組み機関における研究アプローチの手法を大別すると, ①精子段階でX精子(受精後受精卵は雌となる)とY精子(受精後受精卵は雄となる)に分離しようとする方法, 受精卵の段階では, ②染色体検査による性染色体の同定, すなわち, 受精卵から一部の細胞を切り取り染色体標本を作製, これを鏡検し, 1対の性染色体がXXの組合は雌と判定され, XYの組合は雄と判定されるもの, ③HY抗体法と呼ばれる方法で, 特定の発育時期の雄受精卵(桑実胚)のその後の発育を抑制するというHY抗体の特性を利用した判別法(発育が抑制されなかった受精卵は雌と判定される), ④遺伝子レベルの判定法で,

受精卵細胞核内のDNAを調べ, 雄にしか存在しない塩基配列を探索するシステムなどがある。われわれは, このうち②と③の研究手法で進めている。特に染色体検査法では, 新鮮分離胚を使い一方を性判別用に他方を移植用に仕向けているが, 仕向数からいくと約70%が判別できるようになった。2年前の成績と比較すると2倍の判別率になっている。

## 8 体外受精について

体外受精とは屠場で得られた卵巢から未成熟な卵子を吸引採取し, 体外で受精発育させた後, 受卵牛に移植・受胎させる技術である。

牛の体外受精については, 日本で初めて産仔が得れたのは昭和60年代に入ってからであり, 兎の子宮を借りないで完全な体外培養で7日目胚まで発育させ, 産仔獲得まで成功したのは昭和62年であった。現状では卵巢1個から移植可能な受精卵まで発育する可能性は, 受精卵数で1~2個である。実用としてフィールドで応用するためには, より効率的な体外受精系を確立するよう研究を進めなければならないと, まだまだ解明されなければならないところが多い。

外圧に強いと考えられる低コスト和牛牛肉増産に希望のもてる分野であり, 今後に期待したい研究である。

## 9 最後に

めまぐるしく技術革新を遂げる畜産分野において, 新しい情報と知識の導入は研究を進める上での活力源であり生命線でもある。

当社では, これまでにも国内の多くの大学・研究機関に研究員を派遣しその協力を得ながら, 一步一步研究成果を積み上げてきた。

今年もアメリカの大学をはじめとして数名の研究員を留学・研修に派遣しているが, これらの研究の一つひとつがやがては大きな技術となって, 多くの農家の皆様にいっそう喜んで活用して頂ける畜産技術となることを願っている。