

試験研究成果普及情報

部門	酪農・肉牛	対象	研究
課題名：受精卵移植技術マニュアル(12) 牛海綿状脳症（BSE）対策特別措置法制定後の牛卵巣および未成熟卵の保存方法の検討			
[要約]平成13年のBSE発生以来、胚移植技術に利用されている牛新鮮卵巣の採材が困難になっている。そこで、BSE対策特別措置法に適應したと畜場における卵巣等の採材、保管方法について検討したところ、と畜場内に据え付けた炭酸ガス培養器で未成熟卵子を保管することにより、従来行われていた方法と同程度の体外受精成績及び核移植成績が得られる。			
キーワード（専門区分）家畜育種・繁殖（研究対象）牛共通 （フリーワード）バイオテクノロジー、体外培養、体外受精、卵巣、BSE			
実施機関名（主査）千葉県畜産総合研究センター 生産技術部 生物工学研究室 （協力機関）千葉県東総食肉衛生検査所、千葉県食肉公社 （実施期間）2001年度 - 2002年度			

[目的及び背景]

平成13年のBSE発生以降、BSEスクリーニング検査で陰性と判定されるまで全ての牛臓器がと畜場外に持ち出すことが禁止された。このため、胚移植技術に広く利用されてきた新鮮な牛卵巣はと畜場から採取後、と畜場内で約一晩保留されることになった。その結果、牛体外受精成績は大きく低下し、体外受精等の実施が難しくなった。

そこで、BSE陰性結果が判明するまで卵巣等を保存する方法について検討し、以前の体外受精成績と比較、同等の発生率を得るための採材及び保存方法について検討した。

[成果内容]

1. 卵巣を15%の生理食塩水中で保管した場合、卵巣の変質は見られたが、採取した卵子を体外受精したところ、胚盤胞への発生が確認された。また、卵胞液又は炭酸ガス培養液内で保存した卵子は、体外受精後に高率に胚盤胞に発生し(表1)、従来と同程度の発生率を得た。
2. 各保存卵子を用い核移植を実施したところ、核移植胚の胚盤胞への発生率は培養器中で成熟培養しながら保管した卵子で高く(表2)、従来の方法と同程度の発生率が得られた。しかし、卵巣又は卵胞液中で保存した卵子では、死滅あるいは細胞質に偏りが見られる成熟卵子の割合が高く、均一な細胞質を有する卵子の割合が低かったため、胚盤胞への発生率は低かった。

以上のことから、BSE陰性検査結果が判明するまでの間、と畜場内に据え付けた炭酸ガス培養器で卵子を保管することにより従来と同程度の胚発生が可能となった。

[留意事項]

- 1 採材の実施に当たりと畜場及びと畜検査員と事前協議の上許可を要する。
- 2 BSE発生時の対応策について検討しておく必要がある。
- 3 食肉衛生上の配慮が必要である。

[普及対象地域]

県下全域

[行政上の措置]

実施にあたっては、人工授精所の開設届が必要となる。

と畜場から採材する場合、事前の打ち合わせと採材届けを要する。

[普及状況]

[成果の概要]

表1 と畜場内で保管された卵の体外受精後の発生能

保存形態	保存条件	供試 胚数	体外受精後の胚の発達 (%)			
			2細胞		胚盤胞	
卵巣	生食 (10-15)	217	162	(75)	55	(25)
卵胞液	遠沈管 (室温)	415	344	(83)	133	(32)
培養液	輸送器 (38)	350	233	(67)	98	(28)
同上	培養器 (38.5)	317	240	(76)	108	(34)
2001春	新鮮	316	263	(83)	84	(27)

表2 と畜場内で保管された卵由来核移植胚の発生能

保存形態	保存条件	供試 胚数	核移植後の胚の発達 (%)			
			2細胞		胚盤胞	
卵巣	生食 (10-15)	112	38	(34)	8	(7)
卵胞液	遠沈管 (室温)	75	52	(69)	18	(24)
培養液	培養器 (38.5)	81	65	(80)	22	(27)
2001冬	新鮮	108	91	(84)	30	(28)
2001春	新鮮	107	81	(87)	28	(26)

< 各保存方法の詳細 >

- 1 卵巣：卵巣を抗生物質添加の生理食塩水を入れた保温瓶に浸漬して、翌日まで10-15 で屠畜場内に保存した。
- 2 卵胞液：と畜場内で卵巣より卵胞液と共に卵子卵丘複合体を吸引、5分間静置して上澄みを除去後、同液に抗生物質を添加し室温で保存した。
- 3 培養液（輸送器）：と畜場内で卵胞液から卵子卵丘細胞複合体を採取し、ガス平衡した5%胎仔血清添加 TCM199(成熟培地)にて洗浄後、38 に設定した細胞培養輸送器(FHK)を用いて成熟培養しながら保存した。
- 4 培養液（培養器）：3と同様に処理した卵子卵丘細胞複合体をと畜場内に設置した炭酸ガス培養器を用いて、38.5 、3%CO₂ 気相下で成熟培養しながら保存した。

[発表及び関連文献]

1. 牛島仁．平成13年度試験研究成果発表会資料．
2. 牛島仁．平成12年度試験研究成果発表会資料．