

## 2 1. 酪農生産基盤強化に向けた黒毛和種体外受精卵生産技術の確立

農林水産研究指導センター畜産研究部・<sup>1)</sup>宇佐家畜保健衛生所  
○久々宮萌果・澤野貴之<sup>1)</sup>・(病鑑) 藤田達男・松井英徳

### 【はじめに】

酪農家における所得向上対策として、乳牛への黒毛和種体外受精卵移植技術の普及拡大が有効と考えられるが、体外受精卵は体内受精卵に比較して耐凍性が劣り、受胎率が低いという課題がある。安達らは SOF 培地に成長因子等を添加した無血清培地において、体外受精卵の耐凍性が向上することを報告している。一方、高橋らはカルニチンを、森らはリファンピンを血清添加培地に添加することにより耐凍性の向上に成功している。そこで本研究では、無血清培地にカルニチンまたはリファンピンを添加することにより、発生率や耐凍性が向上するかどうかを検討し、さらに生産された胚の移植成績を報告する。

### 【材料および方法】

と畜場において黒毛和種の卵巣 291 個から採取した卵丘細胞卵子複合体を 20~22 時間成熟培養し、体外受精を実施した。発生培養方法として「1 区：mSOFaa+5%FCS（血清添加培地）」、「2 区：mSOFaa-PVA+EGF+IGF-1+トランスフェリン+セレン+ 媒精 6 日後からグルコース（無血清培地）」、「3 区：2 区+0.6mg/ml L-カルニチン」、「4 区：2 区+10 $\mu$ M リファンピン」及び「5 区：2 区+0.6mg/ml L-カルニチン+10 $\mu$ M リファンピン」の各試験区を設定し、分割率、媒精 8 日後の胚盤胞発生率及び発生した拡張胚盤胞の細胞数（1～3 区のみ）を調査した。また、媒精 7～8 日後に発生した拡張胚盤胞を緩慢凍結し、融解 48 時間後の生存率及び透明帯脱出率を調査した。さらに、県内酪農家 4 戸において乳牛延べ 77 頭へ新鮮卵又は凍結卵移植を行い、受胎率及び分娩成績を調査した。

### 【結 果】

1～5 区の間で体外受精卵生産時の分割率（1 区から順に 80.3、78.5、80.2、80.7、85.6%）及び胚盤胞発生率（42.6、37.5、37.3、40.1、41.0%）に有意差はないものの、1 区で胚盤胞発生率が最も高値となった。1～3 区の間で拡張胚盤胞の内細胞塊（36.5、30.6、35.0 個）、栄養膜細胞（79.0、76.3、79.3 個）及び総細胞数（115.5、107.0、114.3 個）に有意差はないものの、1 区で内細胞塊及び総細胞数が最も高値となった。凍結融解後の生存率（65.1、77.9、86.0、89.6、87.5%）は、1 区に比較し 3～5 区で有意に高値であった。透明帯脱出率（53.0、71.1、78.0、79.3、81.2%）は、同じく 2～5 区で有意に高値であった。1 区と 2～5 区の受胎率はそれぞれ新鮮卵移植で 22.2%（4/18）、16.0%（4/25）、凍結卵移植で 0%（0/7）、11.1%（3/27）であった。H28 年 10 月までで、7 頭中 4 頭が正常分娩、3 頭が流産であった。

### 【考 察】

カルニチン及びリファンピンを無血清培地へ添加することで胚の耐凍性向上が認められた。しかし、無血清培地では、発生率や胚の品質が依然血清添加培地に劣るといった傾向にある。そこで、今後は血清添加培地への添加剤も検討し、高品質な体外胚生産を可能とする発生培養方法の確立を図りたい。