

「たまご」からつくる「とやま肉牛」

よっしま けんじ
四ツ島 賢二 (畜産研究所)

1 はじめに

本県では肉牛の生産基盤は、比較的小さいものの、県民のニーズにあった牛肉生産のため、関係者が努力を重ねています。そのような状況のなかで、富山育ちの「とやま肉牛」を効率的に増産するためには、受精卵移植技術の活用が有効です。本県は、全国的にも早い時期にこの技術で肉牛を誕生させ、その後、受精卵の凍結保存や体外受精技術等の技術開発を進めてきました。今後は、これらの技術に性判別をはじめとした遺伝子診断技術、さらに、将来的にはクローン技術などを組み合わせることで、「たまご」からより質の高い「とやま肉牛」をつくるのが期待されます。そこで、今回は、受精卵の効率的生産の基礎となる体外培養技術の高度化への取り組みについて、報告いたします。

2 成果の内容

1) 「たまご」の“旬”の時期を

コントロールする

体外受精などで、牛の卵子が受精できる時間は卵巣から取り出して20～24時間と限られており、早すぎても遅すぎても良好な結果は望めません。そのため、従来は卵子を回収した時間によって、作業的な大きな制約がありました。そこで、シクロヘキシミド (CH) という卵子の成熟を抑える作用がある比較的安価な物質を用いて、卵子の受精適期である“旬”の時期をコントロールすることを可能にしました。CHは、牛の体温に近い38℃で使うと受精卵発生率が低下しますが、培養温度を下げることで発生率や発育速度が改善されました。

(図1)

2) 卵子や受精卵を客観的に評価する

卵子や受精卵の品質は受胎率を改善するための大切なポイントです。従来、これらの評価は、技術者の熟練度に依存していました。一方、客観的な評価法は、蛋白質や遺伝子を分析することから、卵子や受精卵を傷つけてしまうため、客観的で非破壊による方法が望まれていました。品質のよい卵子とは周囲の保護細胞が厚く、受精卵は自身の細胞の数が多いものとされています。

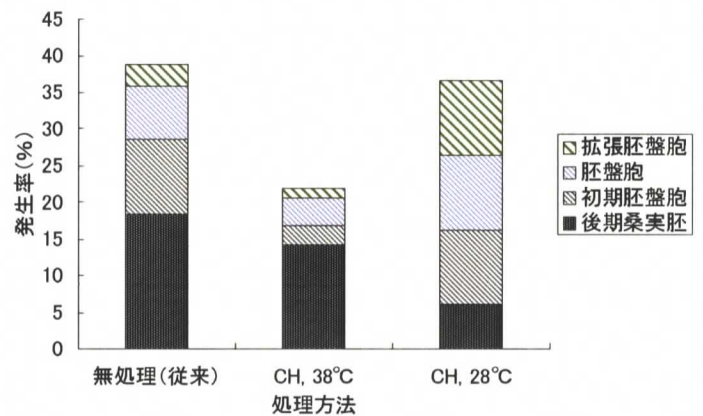


図1. “旬”の時期のコントロールによる受精卵発生率の変化

受精卵は後期桑実胚、初期胚盤胞、胚盤胞、拡張胚盤胞の発育ステージ順に成長し、それにつれて細胞数が増え、サイズが大きくなる。細胞数が多い受精卵は受胎しやすく、品質がよいとされる。

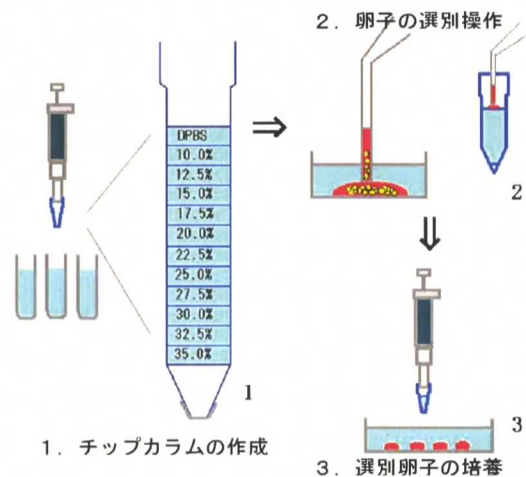


図2. パーコール不連続密度勾配チップカラムによる卵子の選別

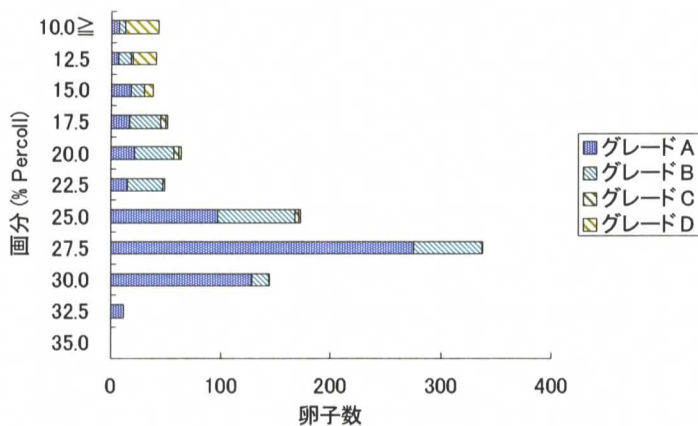
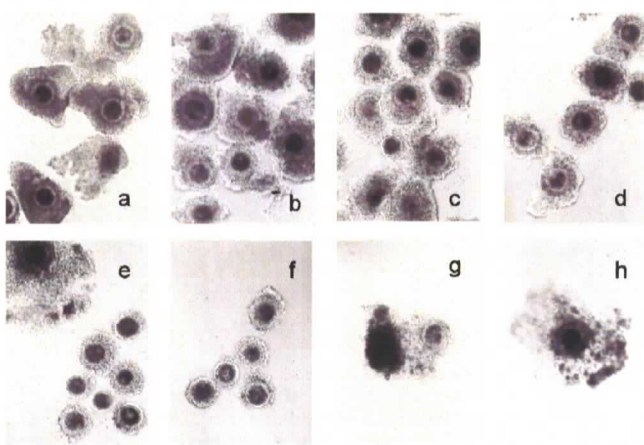


図3. パーコール不連続密度勾配チップカラムによる卵子の客観的評価

グレードAは保護細胞が厚いもの、Bは中間、Cは薄いもの、Dは保護細胞が変性しているもので、AからDの順に品質が下がる。



a: 30% Percoll, b: 27.5%, c: 25%, d: 22.5%, e: 20%, f: 17.5%, g: 12.5%, h: 10%

図4. パーコール不連続密度勾配チップカラムで選別した卵子の外観

a-dは保護細胞が厚く、品質がよい。e、fは保護細胞が薄く、g、hは保護細胞が変性している。

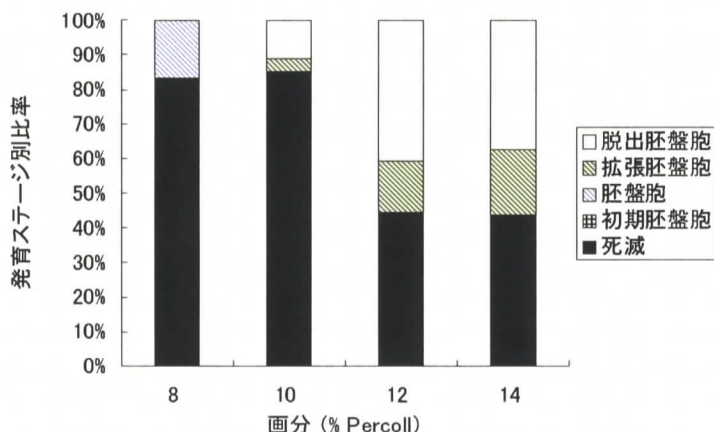


図5. パーコール法で評価した受精卵を72時間培養継続したときの発育

胚盤胞、拡張胚盤胞と発育ステージが進むと受精卵のサイズは大きくなり、ついに卵子の殻を破って出てくる脱出胚盤胞になる。品質の良い受精卵は、ここまで発育する。

そこで、パーコールという細胞の分離にも用いられる高分子化合物を利用したところ、卵子や受精卵を比重の違いにより評価できることが明らかになりました。しかし、この方法は時間がかかることから、より簡易で卵子を自動的に選別する目的で、パーコール不連続密度勾配チップカラムという技術を開発しました。(図2)

このチップカラムを用いると、品質のよい卵子はパーコールの比重が高い領域に集まるため、自動的に卵子を選別することができます。

(図3、4)

また、この技術は受精卵にも応用でき、初期胚盤胞という発育ステージにおいて、比重を調べることにより、その後の発育が良い受精卵を予測することも明らかになりました。(図5)

3 まとめ

当所では、体外培養技術の高度化に伴い、受精卵の数・質も向上しており、県内での受精卵移植による子牛も、年々多くなっています。また、乳用牛では、性判別した受精卵の移植が主流になってきています。

今後も、消費者の方々が安心して食することができる良質な「とやま肉牛」を育むために、受胎率向上などの技術的な問題を解決するため、研究を進めていきたいと考えています。