

1. 背景とねらい

受精卵移植技術は、家畜では育種改良面や特定品種の増殖等に利用されているが、これに雌雄産み分け技術が加われば利用価値はさらに向上する。

そこで、受精卵移植技術の利点を高める手法として「家畜の雌雄産み分け技術利用促進事業」として3年間の実証試験に取り組んでいる途中であるが、良好な成績が得られたので参考事項に供する。

2. 技術の内容

(1) 性判別方法

材料：受精卵移植に供する胚（新鮮胚または凍結保存胚の融解後の胚）の一部の細胞をマイクロコンピューターに装着したバイオカットプレートで切断（バイオプシー）したもの。

DNA増幅用試薬キット：XYセレクター（伊藤ハム）

DNA増幅器：TSR-300(IWAKI), GeneAmp9600(PerkinElmer), XE2000(日本テク)

の3機種で確認済み。

解析：2%アガロースゲルまたは5%ポリアクリルアミドゲルによる電気泳動後、EtBr染色を行い、紫外線照射装置にのせて写真撮影する。

所要時間：約2.5時間

(2) 利用方法

- ア 採卵 → 検卵 → バイオプシー → PCR・解析 → 移植
- イ 凍結保存胚の融解 → 検卵 → バイオプシー → PCR・解析 → 移植
- ウ 採卵 → 検卵 → バイオプシー →

	PCR・解析
	凍結保存……融解 → 検卵 → 移植

(3) 技術レベル

- ア 雌雄の判別が可能な割合は 97.2% (70/72)であった。
- イ 雌雄を判別した胚の移植後の全体の受胎率は 33.9% (19/56)であった。
これを胚のランク別に比較すると
新鮮胚でA: 54.5% (6/11), B: 25.0% (1/4), C: 21.4% (3/14)
凍結胚でA: 81.8% (9/11), B: 0.0% (0/11), C: 0.0% (0/5)であり
Aランク胚ではバイオプシーによる影響は認められなかった。
- ウ 判別結果と実際の性の一致率は 85.7% (12/14)であった。

3. 指導上の留意事項

- (1) 性判別を希望する場合は、家畜保健衛生所を窓口とし、当场での対応が可能かどうかを事前に確認・調整の上実施する。
- (2) 性判別を行う場合は、野外で採卵後、灌流液を回収瓶のまま密栓して、または検卵後の胚

を凍結用ストローに保存液とともに封入し、当场に持ち込む。この際、温度変化は胚の発育を損なうので、30～37℃に保温すること。（断熱容器の中に保温剤〔保冷用ゲル・温湯等を37℃に暖めたもの〕を隙間なく充填すると良い。）

(3) 判別結果については

- ア 試料の取り扱い上のミス。（試料の取り違い・手順の誤操作）
- イ 解析上のミス。（泳動結果の読み誤り・写真撮影の誤り）
- ウ 試料不足。（PCR反応産物の不足）
- エ 試薬の状態不良。（酵素の失活・キットの不良・染色不足）

といったことから誤りを生じる場合がある。

(4) 受胎には用いる胚のランクが影響するので、特に凍結融解胚の場合には融解後の胚の検査の時点で移植に供用できない場合がある。

(5) 判別に用いた試薬は「XYセクター」（伊藤ハム）¥100,000（30検体分）で特許料込みである。このほか、全農より サプライセンス取得契約（サプライセンス・機材・試薬の購入）性判別検査委託（現地でのバイオプシー検体の送付 ¥9,000/検体）という2つの形態での性判別も行われている。この場合には、バイオプシー後の移植用胚の凍結保存用液も販売される。

4. 試験成績の概要

表1. 胚の保存方法別性判別移植結果

	新鮮胚	凍結胚	
		3STEP法	ダイレクト法
供試胚数	37	26	9
判別胚数	35	26	9
判別率	94.6%	100%	100%
移植頭数	29	18	9
受胎頭数	10	7	2
受胎率	34.5%	38.9%	22.2%

表2. 胚のランク別移植結果

ランク	移植頭数	受胎頭数	受胎率	流産頭数(2胚)	事故頭数	分娩頭数	分娩率	
新鮮胚	A	11	6	54.5%	2 (1)	0	4	36.4%
	B	4	1	25.0	0	0	1	25.0
	C	14	3	21.4	1	0	2	14.3
凍結胚	A	11	9	81.8	4 (2)	1	4	40.0
	B	11	0	0.0	0	0	0	0.0
	C	5	0	0.0	0	0	0	0.0
計	56	19	33.9	7 (3)	1	11	20.0	