

平成16年 3月10日

畜産技術レポート

第52号

島根県立畜産試験場（繁殖技術科）

TEL= 0853-21-2631 FAX=0853-21-2632 URL= <http://www2.pref.shimane.jp/tikusi/>

写真でわかる牛の繁殖技術 — 普及技術と今後実用化が期待される技術 —

はじめに

家畜の遺伝的な改良に対する努力は、人間が動物を家畜化したときから、ずっと続けられてきました。それは、人間にとって有用な資質（良質な畜産物や病気に対する強さなど）を持つ動物の雄と雌とを交配し、それらの子孫を生産していくというこゝで行われ、その試みがいまなお継続されていることはご存じかと思ひます。

そして、現在、人工授精、胚移植などの様々な“人為的”繁殖技術を選択できるようになりました。これらの技術が、最も広く利用されており、遺伝的な改良に大きなインパクトを与えられている家畜は、間違いなく「牛」だと考えられます。実際に、牛では、改良を短い期間で効率的に進めたい、乳を生産するので雌牛だけほしい、などの生産農家段階でのニーズに応えるために、バイオテクノロジーと呼ばれる先端技術を用いた新たな繁殖手法が開発されてきています。

そこで、今号では、「既に農家段階で普及・実用化している技術」と「研究開発中の技術」の流れを、写真等を利用してとりまとめたので、紹介します。



当場の受精卵（胚）供給施設（胚採取および繁殖新技術関連試験研究施設）と研修風景

国内における牛の繁殖技術の発展経過

家畜としての牛群の育種改良は、一般に、優れた経済形質（肉の質や量など）を持つファミリー（系統）を選んで残すこと（選抜）で行われています。実際にそれを実現するために、繁殖分野でのバイオテクノロジーの開発が要求されてきました。これまでに、多岐にわたる技術が開発され、それらの新技術は行政や生産者との連携によって速やかに普及、実用化されてきています。そして、これらの技術が、肉用牛・乳用牛の育種改良面で大きな恩恵をもたらしています。

年次	家畜改良増殖法	人工授精 (液状精液)	人工授精 (凍結精液)	体内受精卵移植	体外受精卵移植	核移植(クローン)
昭和25	制定(液状精液)	実用化				
.						
27		普及率80%	研究開始			
.						
29		普及率90%		研究開始		
.						
36	改正(凍結精液)	普及率98%				
.						
39				【子牛誕生】		
40			実用化 普及率10%			
.						
47			普及率96%		研究開始	
.						
57				実用化		
58	改正(受精卵移植)					研究開始
.						
60				産子: 887頭 / 年	【子牛誕生】	
.						
平成 1						【受精卵クローン子牛誕生】
2					実用化	
3				産子: 7,163頭 / 年	産子: 1,147頭 / 年	
4	改正(体外受精)					
.						
9						【体細胞クローン子牛誕生】
.						
11				産子: 16,381頭 / 年	産子: 2,000頭 / 年	
.						
.						
.						
.						

牛の人工授精 (Artificial Insemination : AI)

家畜としての牛の交配は、自然交配（雄と雌の同居）と人工授精（人為的に精液を雌牛に注入）によって行われています。現在、自然交配は特殊な場合にのみ行われ、ほとんどの子牛生産は人工授精で行われています。人工授精で使用される精液は、極めて少数のエリート雄牛（種雄牛）から採取後 - 196 の液体窒素中に凍結保管し、農家の庭先で融解して発情徴候を示す雌牛の子宮内に注入します。凍結精液を用いた人工授精は、牛の繁殖の基本的な技術として、昭和40年代から実用化されています。

種雄牛



精液採取

擬牝台あるいは台牛へ誘導し、人工膣で射出精液を採取する。



【精子の顕微鏡写真】

精液の検査

採取量その他、精子の活力、濃度、形態等を検査する。



繁殖用雌牛(母牛)



精液の保存

卵黄、耐凍剤（グリセリン）等を混合した保存液で精液を一定濃度に希釈して、専用のストローに充填後、液体窒素内に投入する。凍結後は、-196 の液体窒素中で半永久的に保存できる。



精液の注入

発情した繁殖用雌牛に精液を注入する。



妊娠

子牛生産



牛の体内受精卵(胚)移植 (Multiple Ovulation - Embryo Transfer : MO-ET)

肉質，増体などの経済的能力に優れた牛（供胚牛）にホルモン処理および人工授精を行った後，子宮から着床前の体内受精卵（胚）を洗い出して回収し，他の牛（受胚牛または借腹牛）の子宮に移して着床，妊娠させ，多くの優良な子牛を生産する技術として実用化されています．

供胚牛



過剰排卵処理

ホルモン剤を注射して卵巣内の卵胞を刺激して発育させ，多数の卵子を排卵させる．

発情同期化

ホルモン剤の投与で供胚牛の発情周期（7日目）と同調させ，妊娠可能な状態にする．

人工授精

発情した供胚牛に精液を注入する．



受胚牛（代理母牛）



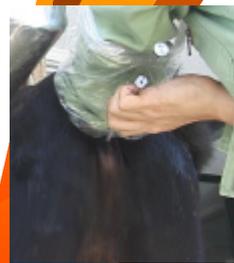
子宮灌流～胚の検査

人工授精後7日目に，子宮内の胚を灌流液で洗い出し，顕微鏡下で正常胚を選別する．



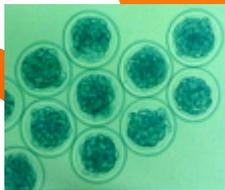
移植

胚を受胚牛の子宮内に注入する．



胚の保存

胚を単純に凍らせると氷の結晶が細胞を破壊する．このため，一般には，糖類を加えた耐凍剤と温度降下を制御できるプログラムフリーザーを用いて凍結する．凍結後は，-196の液体窒素中で半永久的に保存できる．



妊娠

子牛生産



平系勝 / ひらいとかつ (ET) 98子受母島黒330079



牛の体外受精卵(胚)移植

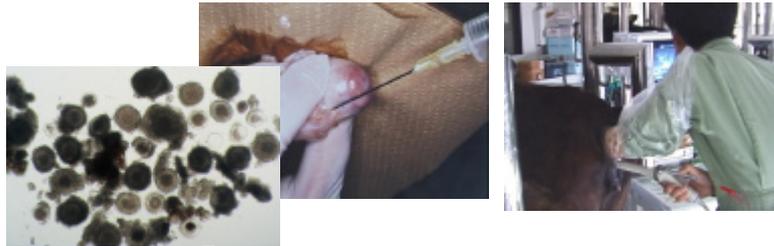
(In Vitro Fertilization - Embryo Transfer : IVF-ET)

牛の卵巣から卵子を吸引して採取し，清浄な室内で成熟培養，体外受精および発生培養を行って，発育した体外受精卵(胚)を牛(受胚牛または借腹牛)の子宮に移して着床，妊娠させ，肉質，増体などの経済形質に優れた子牛を生産する技術です．

摘出卵巣 (と殺後に卵子採取) 生体卵巣 (生体から経膈で卵子採取)

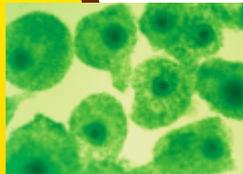
卵子の吸引採取

直径2～8ミリの小卵胞から吸引する．



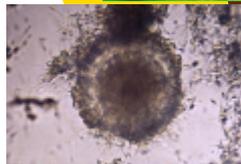
卵子の成熟培養

採取後約1日間培養液の中で成熟させる．



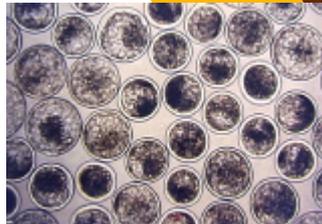
体外受精(媒精)

精子の小滴中で受精させる．



胚の発生培養

約1週間、培養液の中で胚を発育させる．



胚の保存

体外受精胚は、一般に、体内受精胚に比べて、凍結融解後の生存性が低い．従って、細胞質内に氷の結晶ができてにくいガラス化法などの方法で保存される．ガラス化胚は、-196の液体窒素中で半永久的に保存できる．



発情同期化

ホルモン剤の投与で胚の発育ステージ(7日目)と同調させ、妊娠可能な状態にする．

受胚牛(代理母牛)



移植

胚を受胚牛の子宮内に注入する．



妊娠

子牛生産



牛の受精卵（胚）の雌雄判別 (Sex Sorting of Bisected Embryo)

人為的にコントロールしない限り、生まれてくる子牛は雄，雌半分ずつです．しかし，乳用牛では乳を出す雌の価値が高いなど，繁殖段階から子牛の性が決定していることは，畜産経営上，大きなメリットがあります．精子の段階で判別する方法も開発されつつありますが，移植胚の段階で判別する方法が広く実用化されています．

供胚牛

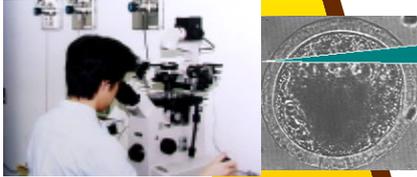


形態の良い正常な胚

過剰排卵処理を行い，人工授精後7日目に子宮内の胚を洗い出し，形状の良い正常な胚を選別する．

顕微鏡下で切断

特殊な刃で胚を「移植部分」と「雌雄判別部分」とに切断分離する．



受胚牛（代理母牛）



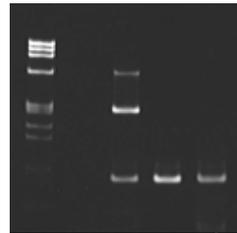
透明体へ挿入

「移植部分」は，顕微鏡下で，別の不要な卵（未受精卵等）の透明体に挿入する．



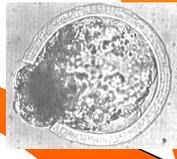
発情同期化

ホルモン剤の投与で供胚牛の発情周期（7日目）と同調させ，妊娠可能な状態にする．



DNA検査

「雌雄判別部分」は，PCRでDNAを増幅したあと，判別用マーカーで性を確定する．



移植

性別を確認した移植可能な胚は，受胚牛の子宮内に注入する．



胚の保存

切断分離した胚は，一般の体内受精胚に比べて，凍結融解後の生存性が低い．従って，細胞質内に氷の結晶ができにくいガラス化法などの方法で保存する．ガラス化胚は，-196℃の液体窒素中で半永久的に保存できる．



妊娠

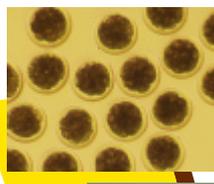
子牛生産



受精卵（胚）クローン牛の生産 (Cloning by Nuclear Transfer of Blastomere)

遺伝的に同じ能力を持つ1卵性双子は、自然の状態生産される産子の他、胚を2つに切断する方法で生産することができます。さらに、初期胚の段階で核移植技術を用いれば、1卵性双子や3つ子といった1卵性多子（クローン）を効率的に生産できます。核移植では、マイクロマニピュレータというミクロの手を使って、胚を一つ一つの細胞に分離後、それぞれの核を、予め核を取り除いた未受精卵に注入、融合させ、体外で发育させた胚を受胎牛（代理母牛）へ移植して、子牛を生産します。

優良な雌牛から得られた体内あるいは体外胚



形態の良い正常な胚（ドナー胚）

人工授精あるいは体外受精後5～6日目の16～32細胞期で形状の良い正常な胚を選別する。

細胞分離

透明体を取り除いて、一つ一つの細胞に分離する。

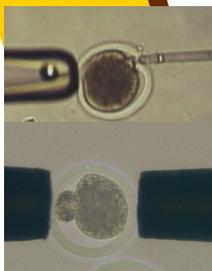


発情同期化

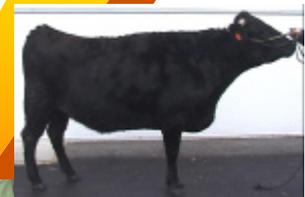
ホルモン剤の投与で胚の发育ステージ（核移植後7日目）と同調させ、妊娠可能な状態にする。

核移植

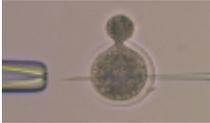
除核した未受精卵の卵胞内に細胞を挿入し、電気によって融合させる。



受胎牛（代理母牛）

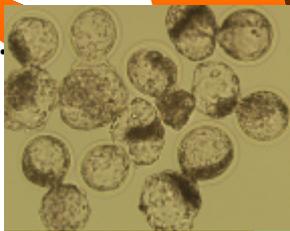


未受精卵の核を除去（レシピエント卵子）



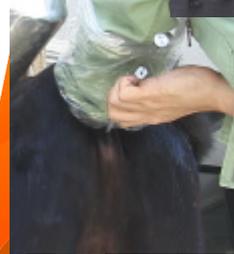
胚の発生培養

約1週間、培養液の中で胚を发育させる。



移植

移植可能な胚は、受胎牛の子宮内に注入する。



胚の保存

核移植によって作出した胚は、体内および体外受精胚に比べて、凍結融解後の生存性が低い。従って、細胞質内に氷の結晶ができにくいガラス化法などの方法が検討されている。



妊娠

子牛生産



体細胞クローン牛の生産

(Cloning by Nuclear Transfer of Somatic Cell)

体細胞クローン技術は、胎子ないしは成牛の体細胞を核移植によって、個体を複製する技術です。体細胞は凍結保存法がすでに確立され、無限に入手できることから、受胎牛さえ確保できれば、理論上、優れた遺伝能力を有する牛を多数作り出すことができます。複製のもともとの材料となる体細胞の核内遺伝子は、変換（遺伝子組み換え）することなく、そのまま利用します。核移植では、受精卵クローンと同様にマイクロマニピュレータというミクロの手を使って、それぞれの体細胞を、予め核を取り除いた未受精卵に注入、融合させ、体外で発育させた胚を受胎牛（代理母牛）へ移植して、子牛を生産します。

細胞提供牛



体細胞の採取 (ドナー細胞)

筋肉、皮膚、卵子周囲の細胞など。

発情同期化

ホルモン剤の投与で胚の発育ステージ（核移植後7日目）と同調させ、妊娠可能な状態にする。

細胞分離

洗浄後、一つ一つの細胞に分離する。



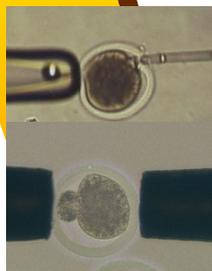
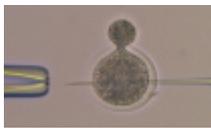
核移植

除核した未受精卵の卵胞内に細胞を挿入し、電気によって融合させる。

受胎牛(代理母牛)

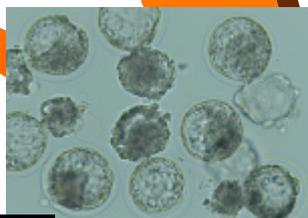


未受精卵の核を除去 (レシピエント卵子)



胚の発生培養

約1週間、培養液の中で胚を発育させる。



移植

移植可能な胚は、受胎牛の子宮内に注入する。



妊娠

子牛生産



【核移植胚の蛍光染色】
明るい青色の一つ一つが細胞核

