通し番号	４６３６

分類番号	24-57-21-26

牛胚をMVAC法を用いて液体窒素に触れずにガラス化しストロー内投入希釈法で産子が誕生

［要約］　ガラス化保存した牛胚を直接受胚牛に移植するための加温方法を検討した。MVAC法を用いて供試胚をガラス化保存した。ストロー内投入希釈区では、液体窒素から取り出したガラス化保存器具を、希釈液を充填し38℃に加温したストロー内に投入し、ストロー内で一段階希釈を行い、そのまま移植器にセットして黒毛和種牛に移植した。直接移植区では、希釈液を封入し予め液体窒素内においたストローにガラス化保存器具を挿入してガラス化保存した。液体窒素から取り出したストローを38℃のウォーターバス内で加温し綿栓部を押すことでストロー内の希釈液内に胚を導入して希釈を行い、そのまま移植器にセットし移植した。受胎率は、ストロー内投入希釈区で57%(4/7)、直接移植区で16.7%(1/6)であった。

神奈川県農業技術センター・畜産技術所　　連絡先　046-238-4056

［背景・ねらい］

胚の生存性に優れたガラス化保存法を普及するためには、ガラス化保存した胚を生産者の庭先で加温し、ストローから直接受胚牛に移植する方法を確立することが必要である。平成18年に三角らが開発したMicro Volume Air Cooling 法（MVAC法）は、0.25mlストロー内に収納できる器具を用いて豚胚をガラス化保存する手法である。この器具を牛胚に応用してガラス化保存胚を直接受胚牛に移植するための加温方法を検討する。

［成果の内容・特徴］

1　供試胚は、黒毛和種供胚牛から人工授精後７日目に子宮灌流により非外科的に採取した胚盤胞を使用し、表１の平衡液、ガラス化保存液、希釈液を用いてMVAC法でガラス化保存した。胚を平衡液で４分間平衡後、ガラス化保存液に移した後、少量のガラス化保存液とともに速やかにガラス化保存器具上にのせ、液体窒素中に保持したストロー内に封入してガラス化保存した。（図１、２）。

2　ストロー内投入希釈区　液体窒素から取り出したガラス化保存器具を、38℃に加温したストロー内の希釈液に投入し、ストロー内で一段階希釈を行い、そのまま移植器にセットして黒毛和種牛に移植した。
直接移植区　希釈液を封入し予め液体窒素内で冷却しておいたストローにガラス化保存器具を挿入して胚をガラス化保存した。ガラス化保存器具を挿入したストローを液体窒素から取り出し38℃のウォーターバス内で加温し、綿栓部を押すことでストロー内の希釈液に胚を導入して希釈を行い、そのまま移植器にセットし黒毛和種牛に移植した。

3　受胎率は、ストロー内投入希釈区57%(4/7)、直接移植区16.7%(1/6)であった（表２）。

［成果の活用面・留意点］

使用したガラス化保存器具は豚胚用に開発されたもので胚スティックという商品名で市販されている。

［具体的データ］

表１　平衡液、ガラス化保存液、希釈液の組成

	基礎培地	凍結保護物質	添加物
平衡液	Hepes-TCM199	1.8M EG、0.3M Tre	20%牛胎子血清
ガラス化保存液	Hepes-TCM199	8.0M EG、0.6M Tre	20%牛胎子血清
希釈液	Hepes-TCM199	0.5M Tre	20%牛胎子血清

注）Hepes-TCM199：市販の細胞培養液に緩衝剤を添加、EG：エチレングリコール、Tre：トレハロース

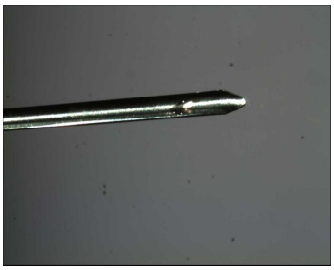

図１　ガラス化保存器具の先端

ステンレス製の針の上で
ガラス化保存する。

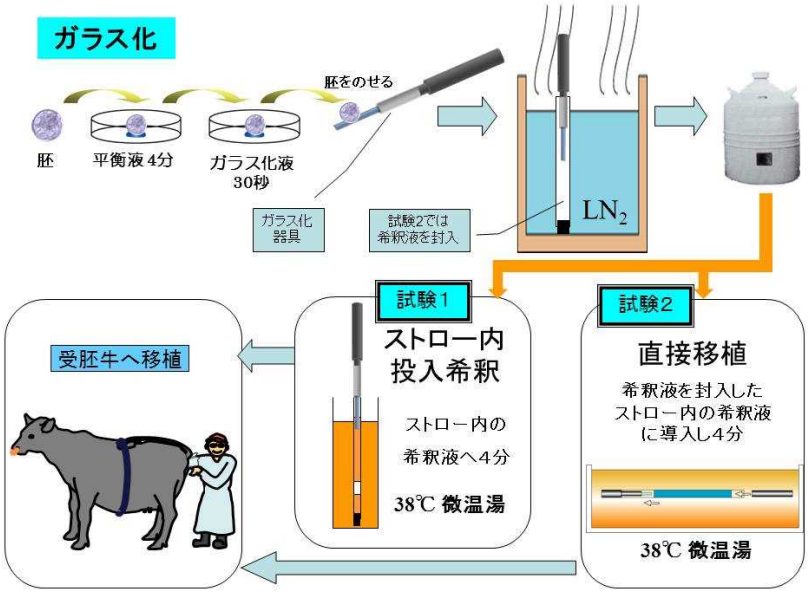

図２　ガラス化保存法及び希釈法

図３　誕生した仔牛

H24.1.9 生まれ、性別:雄、妊娠期間 287 日、政治体重 27.5kg

表２　MVAC 法によりガラス化保存した牛胚の移植成績

試験区	供試胚数	移植頭数	受胎頭数(%)
ストロー内投入希釈区	7	7	4 (57.1)
直接移植区	6	6	1 (16.7)

［資料名］　平成 24 年度　試験研究成績書

［研究課題名］　受胎率向上技術の開発

［研究期間］　平成 23～24 年度

［研究者担当名］　坂上信忠、秋山 清、三角浩司

（共同研究：(独)家畜改良セ）