

通し番号	4374
------	------

分類番号	20-57-22-01
------	-------------

(成果情報名) ガラス化保存した性判別胚のストロー内希釈に用いる希釈液
[要約] 庭先融解に対応可能な性判別胚のガラス化保存法を確立するために、ストロー内に充填する希釈液と移植方法を検討した。5%エチレングリコール0.15Mシュークロース液 (EGS) または0.3Mシュークロース液 (SUC) で希釈した胚を生存性確認後に移植したEGS区及びSUC区の受胎率は60.0%及び72.7%であり、直ちに受胎牛に移植したEGS直接区及びSUC直接区の受胎率は56.3%及び16.7%であった。また、移植操作時間による受胎率の差は認められなかった。
(実施機関・部名) 神奈川県畜産技術センター 畜産工学部 連絡先 046-238-4056

[背景・ねらい]

胚のガラス化保存は、冷却後に細胞内外に氷晶形成を起こさないことから、従来の緩慢凍結法に比べて高い受胎率が得られるが、凍結胚の利用の主流となっている庭先融解による直接移植へ対応できることが望まれる。そこで、ガラス化保存した性判別胚のストロー内希釈に用いる希釈液の組成と移植方法が受胎性に及ぼす影響について検討した。

[成果の内容・特徴]

- 1 人工授精後7日目に採取し、性判別のために金属刃でバイオプシーした牛胚を、25%エチレングリコール 25%DMSO 及び 0.4%BSA 添加修正 PBS でガラス化保存した。加温後の耐凍剤除去操作は、ストロー内でガラス化液と希釈液を混合することにより行った(図1)。ストロー内に充填した希釈液は、5%エチレングリコール 0.15M シュークロース及び 20%子牛血清添加修正 PBS (EGS) または 0.3M シュークロース及び 20%子牛血清添加修正 PBS (SUC)を用いた。
- 2 胚の生存性を確認した後に移植した EGS 区及び SUC 区の生存率は 80.0%及び 90.9%であり、受胎率は 60.0%及び 72.7%であった。また、直ちに受胎牛に移植した EGS 直接区及び SUC 直接区の受胎率は 56.3%及び 16.7%であった(表1)。
- 3 移植用ストローを移植器に装着してから移植終了までの移植操作時間は 2.5~10 分の範囲であった。各区において移植操作時間の延長による受胎率の低下は認められなかった(表2)。

[具体的データ]

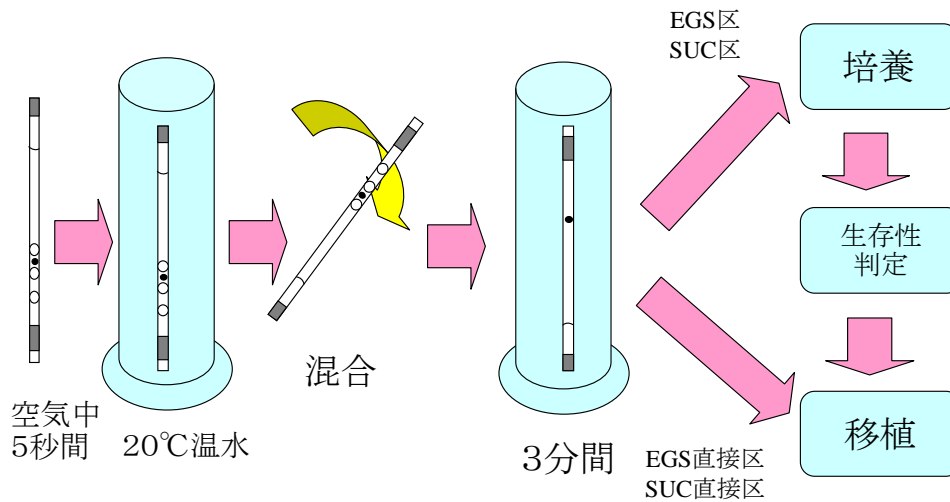


図1 ガラス化保存胚の加温手順

表1 希釈液及び移植方法が受胎性に及ぼす影響

試験区	加温胚数 (a)	生存胚数 (b)	生存率 (b/a,%)	移植頭数	受胎頭数 (c)	受胎率 (c/a,%)
EGS区	5	4	80.0	4	3	60.0
SUC区	11	10	90.9	10	8	72.7
EGS直接区	16	-	-	16	9	56.3
SUC直接区	12	-	-	12	2	16.7

表2 移植操作時間が受胎率に及ぼす影響

移植操作時間	EGS区及びSUC区				EGS直接区				SUC直接区			
	平均 (分)	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率 (%)	平均 (分)	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率 (%)	平均 (分)	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率 (%)
6分未満	3.1	13	10	76.9	3.6	14	7	50.0	3.3	9	1	11.1
6分以上	10.0	1	1	100.0	8.5	2	2	100.0	6.5	3	1	33.3

[資料名] 平成 20 年度試験研究成績書
 [研究課題名] 牛の雌雄産み分け技術の検討
 [研究期間] 平成 10～23 年度
 [研究者担当名] 秋山 清 坂上 信忠