

通し番号	4400
------	------

分類番号	20-57-22-08
------	-------------

(成果情報名) 水溶性プルランフィルムを用いて超急速ガラス化保存した牛体外生産胚はストロー内で一段階の希釈が可能である

[要約] 水溶性プルランフィルムを用いてガラス化保存した牛体外生産胚の直接移植のための加温方法を検討した。二段階希釈(2SD)による加温は、プルランフィルム上でガラス化した胚を直接38.5℃に暖めた0.6M Suc FCS-PBSに投入し、2分静置後、0.3M Suc FCS-PBS(0.3MS)に2分静置した。一段階希釈(1SD)は、プルランフィルムを38.5℃に暖めた0.3MSに5分静置して行った。ストロー内一段階希釈(1SID)は、38.5℃に暖めたウォーターバス内に0.3MSを含むストローを縦に置き、その中へプルランフィルムを投入することで行った。ガラス化しない胚を対照区とした。24時間後の生存率は、2SDで89.3%(25/28)、1SDで92.6%(25/27)、1SIDで75.0%(9/12)、対照区で100%(27/27)であった。それぞれの区における総細胞数に対する生存細胞数は、2SDで78.5%、1SDで89.6%、1SIDで85.2%、対照区で98.4%であった。

(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]

プルランはデンプンを原料とした天然の中性多糖であり、水溶性である。これを使用して胚をガラス化すれば、加温時に基材が溶解するため、ストロー内での希釈ができ、直接移植に利用できる可能性がある。そこで、本試験では、プルランフィルムを用いてガラス化保存した牛体外生産胚を3種の希釈法を用いて加温し加温後の生存性を検討した。

#### [成果の内容・特徴]

- 1 図1のとおり、超急速ガラス化し、3種の希釈加温法を検討した。対照区はガラス化しない胚とした。生存率では、ストロー内一段階希釈(1SID)は二段階希釈と比較して有意差は認められなかったが、対照区と比較して有意に低かった。透明帯脱出率では、1SIDは他の3区と比較して有意差はなかった(表1)。
- 2 また、1SIDは、総細胞数、生存細胞数、死滅細胞、総細胞数に対する死滅細胞数の割合のそれぞれにおいて、他の区と有意な差は認められなかった(表2)。

#### [成果の活用面・留意点]

特になし

[具体的データ]

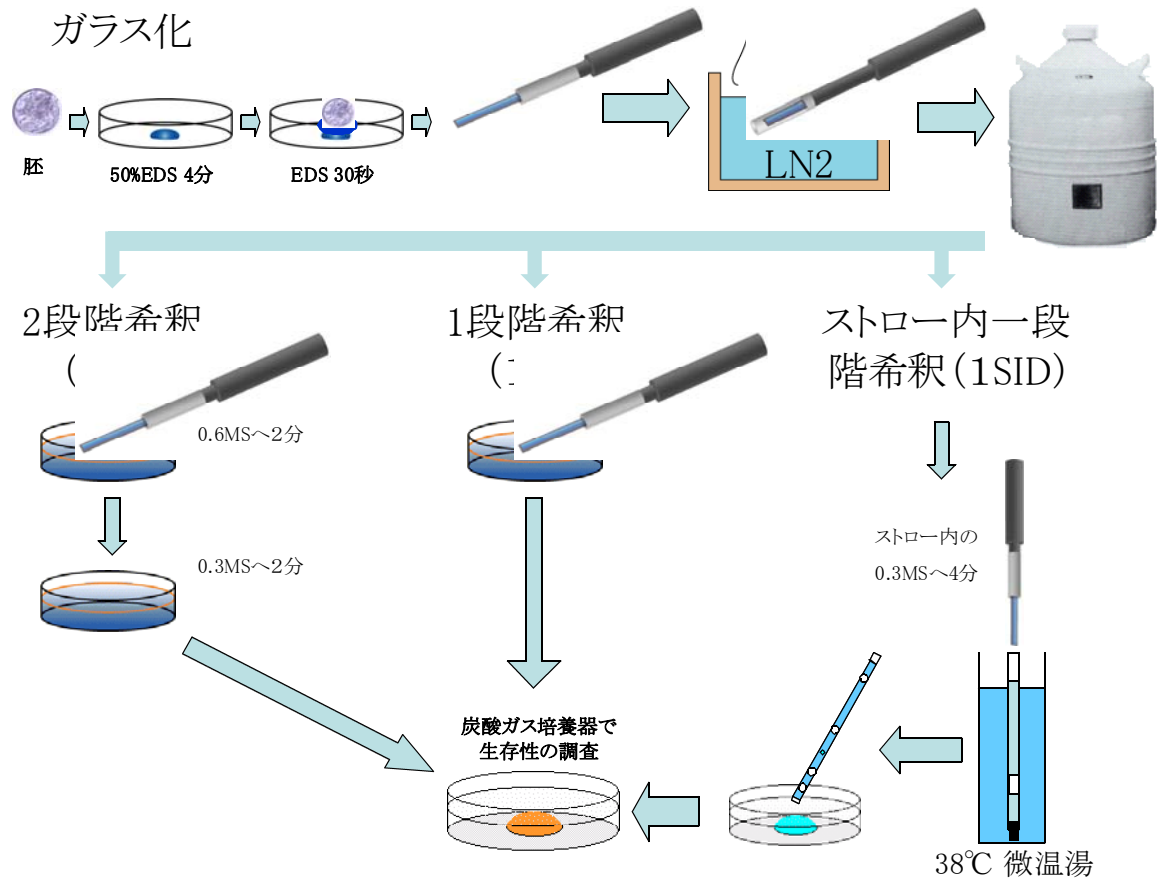


図1 試験方法

表1 超低温保存した胚の保存方法別生存率と脱出率

試験区	例数	生存胚数	生存率	脱出胚 盤胞数	透明帯 脱出率
二段階希釈(2SD)	28	25	89.3% <sup>ab</sup>	13	46.4% <sup>a</sup>
一段階希釈(1SD)	27	25	92.6% <sup>ab</sup>	20	74.1% <sup>b</sup>
ストロー内一段階希釈(1SID)	12	9	75.0% <sup>a</sup>	6	50.0% <sup>ab</sup>
非ガラス化胚(対照区)	27	27	100.0% <sup>b</sup>	18	66.7% <sup>ab</sup>

表2 ガラス化保存前後の呼吸量と生存細胞の割合

試験区	例数	呼吸量 ( $\times 10^{-14}$ mol s <sup>-1</sup> )		細胞数	生存 細胞数	死滅 細胞数	生存細胞数/ 総細胞数 (%)
		ガラス化前	加温後				
二段階希釈(2SD)	5	1.50 ± 0.15	1.58 ± 0.42	134.4	106.0	28.4 <sup>a</sup>	78.5 <sup>a</sup>
一段階希釈(1SD)	15	1.50 ± 0.15	1.30 ± 0.11	108.5	96.7	11.8 <sup>b</sup>	89.6 <sup>ab</sup>
ストロー内一段階希釈(1SID)	13	1.50 ± 0.21	1.29 ± 0.17	116.2	99.8	16.5 <sup>ab</sup>	85.2 <sup>ab</sup>
非ガラス化胚(対照区)	9	1.41 ± 0.16	-	112.1	110.2	5.6 <sup>b</sup>	98.4 <sup>b</sup>

[資料名] 平成20年度試験研究成績書  
 [研究課題名] 胚移植を活用した優良牛の造成  
 [研究期間] 平成19～21年度  
 [研究者担当名] 坂上信忠、秋山清、高木優二

(共同研究：信州大学)