

通し番号	4 1 5 9
------	---------

分類番号	17-57-22-01
------	-------------

(成果情報名) 牛性判別胚のガラス化保存は30 融解や直接移植に対応できる
[要約] 野外で実用性の高い雌雄産み分け技術を構築するため、性判別胚のガラス化保存における融解操作について検討した。ガラス化保存した体外受精由来胚の融解後の生存性は、融解温度(20 及び30)及び融解後保持時間(5分間及び20分間)による差は認められなかった。また、ガラス化保存した性判別胚の移植後の受胎率は、融解温度20 では80%、直接移植法では50%であり、融解温度30 の直接移植法では50%であった。これらのことから、VSEDを耐凍剤としてガラス化保存した性判別胚のストロー内希釈法は直接移植及び30 融解に対応できる手法と考えられた。
(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]

性別判定胚の移植により牛の雌雄産み分けが可能となっている。この技術を野外で普及するためには、凍結保存された性判別胚を用いて高い受胎率を安定的に得ることと同時に庭先融解後に直接受胎牛へ移植可能な手法の確立が望まれている。

そこで、性判別胚のガラス化保存後の融解温度及び融解後の保持時間について検討した。

[成果の内容・特徴]

- 1 人工授精後7日目に採取した後期桑実胚から拡張胚盤胞を金属刃でバイオプシーし修復培養を行った性判別胚及び体外受精後8日目の胚盤胞を、25%エチレングリコール25%DM SO及び0.4%BSA添加修正PBS(以下、VSED)を耐凍剤に用いてガラス化保存した。
- 2 融解後の耐凍剤除去操作は、ストロー内でVSEDと希釈液を混合することにより行った。
- 3 体外受精由来胚における融解48時間後の生存率は20 融解で91.7%、30 融解で84.0%であった。
- 4 体外受精由来胚における融解48時間後の生存率は融解後5分間保持で65.2%、20分保持で66.7%であった。
- 5 20 融解における性判別胚の生存率はストロー内希釈法では100%であり、移植後の受胎率は80%であった。直接移植法において融解温度を30 とした場合の受胎率は50%であった。

[成果の活用面・留意点]

VSEDを用いたガラス化保存は耐凍剤平衡等の処理時間等が胚の生存性に影響を及ぼすため、手技の習熟が必要である。

[具体的データ]

表1 融解温度が生存性に及ぼす影響（体外受精胚）

融解温度	融解胚数	融解後1時間		融解後48時間	
		生存胚数	生存率	生存胚数	生存率
20	24	24	100.0%	22	91.7%
30	25	24	96.0%	21	84.0%

表2 融解後保持時間が生存性に及ぼす影響（体外受精胚）

保持時間	融解胚数	融解後1時間		融解後48時間	
		生存胚数	生存率	生存胚数	生存率
5分	23	22	95.7%	15	65.2%
20分	18	16	88.9%	12	66.7%

表3 融解方法及び融解温度が受胎性に及ぼす影響（性判別胚）

融解方法	融解温度	融解胚数	生存胚数	生存率	移植頭数	受胎頭数	受胎率
ストロー内希釈	20	5	5	100%	5	4	80.0%
直接移植	20	6			6	3	50.0%
直接移植	30	2			2	1	50.0%

[資料名] 平成17年度試験研究成績書（繁殖工学・乳牛・肉牛・飼料作物）

[研究課題名] 牛の雌雄産み分け技術の実用化試験

[研究期間] 平成10～17年度

[研究者担当名] 秋山 清・坂上信忠・仲澤慶紀