

通し番号	4069
------	------

分類番号	16・57・22・01
------	-------------

(成果情報名) ガラス化保存した牛性判別卵の融解操作	
[要約] 野外で実用性の高い牛の雌雄産み分け技術を構築するため、性判別卵のガラス化保存について耐凍剤除去操作及び融解温度が生存性や受胎性に及ぼす影響を検討した。バイオプシー後3～4時間の修復培養を行った後にVSEDを用いてガラス化保存した性判別卵の融解後の生存率は、段階希釈法、ストロー内希釈法ともに高率であり、移植後の受胎率は、段階希釈法、ストロー内希釈法、直接移植法ともに同等であった。また、融解温度を35とした場合の受胎率は、常法(融解温度20)と遜色ない結果であった。これらのことから、VSEDでガラス化保存した性判別卵のストロー内希釈法は直接移植に対応できる手法と考えられた。	
(実施機関・部名) 神奈川県畜産研究所 畜産工学部	連絡先 046-238-4056

[背景・ねらい]

性別判定された受精卵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卵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卵牛へ移植可能な手法の確立が望まれている。

そこで、性判別卵のガラス化保存後の耐凍剤除去操作及び融解温度について検討した。

[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の受精卵を金属刃でバイオプシーし修復培養を行った後に25%エチレングリコール25%DMSO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、段階希釈法では低濃度の溶液に段階的に卵を移し換えて耐凍剤の除去を行い、ストロー内希釈法及び直接移植法ではストロー内でVSEDと希釈液を混合することにより耐凍剤の希釈除去を行った。
- 3 融解後の生存率及び移植後の受胎率は、段階希釈法で80.0%及び50.0%、ストロー内希釈法で100%及び58.3%であり、直接移植法の受胎率は66.7%であった。
- 4 融解温度を20及び35とした場合の生存率は、100%及び71.4%であり、35融解後の受胎率は57.1%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受精卵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]

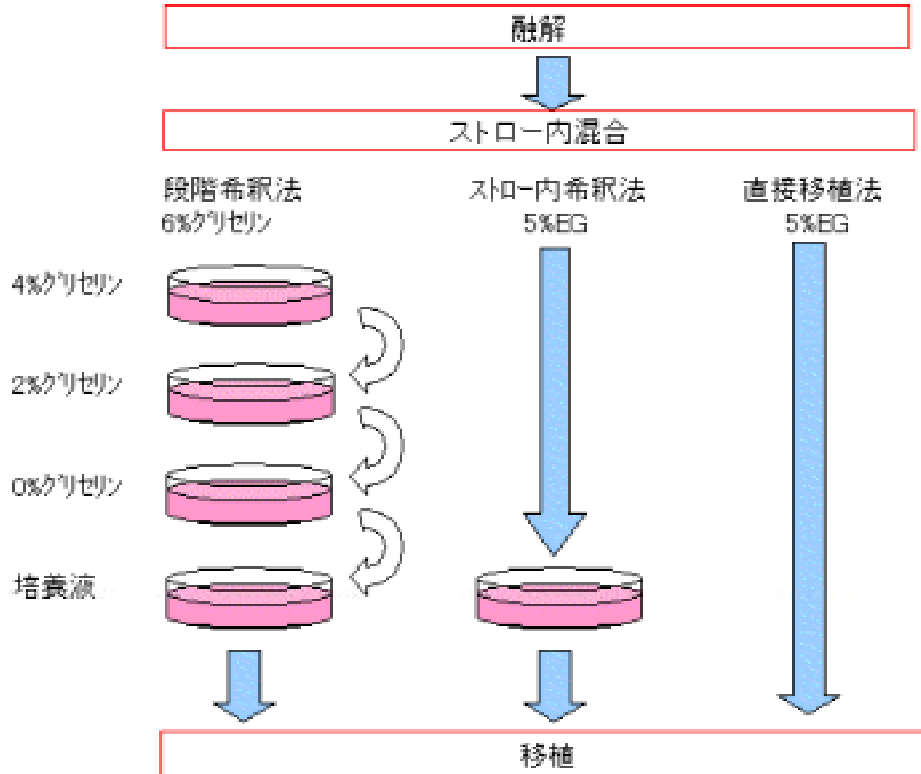


図1 耐凍剤除去操作

表1 耐凍剤除去方法別の移植成績

方法	融解卵数	生存卵数	生存率 (%)	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
段階希釈法	10	8	80.0	6	3	50.0
ストロー内希釈法	13	13	100	12	7	58.3
直接移植法	-	-	-	3	2	66.7

表2 融解温度別の生存性

融解温度	融解卵数	生存卵数		
		1時間後 (%)	24時間後 (%)	48時間後 (%)
20	9	9 (100)	9 (100)	9 (100)
35	7	5 (71.4)	5 (71.4)	5 (71.4)

表3 35 融解後の移植成績

融解温度	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
35	7	4	57.1

[資料名] 平成16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16年度

[研究者担当名] 秋山清・坂上信忠・仲澤慶紀・益田富男