

通し番号	
------	--

分類番号	15・57・22・07
------	-------------

(成果情報名) 牛の性別別ガラス化保存受精卵の耐凍剤除去操作	
[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、受精卵の性別判定方法、性別別卵のガラス化保存後の耐凍剤除去操作について検討した。LAMP法及びPCR法による性別判定率は90.0%及び100%であり、判定までの所要時間はLAMP法が短時間であった。性別別卵のガラス化保存後の生存率は、ステップワイズ法、ワンステップ法ともに100%であり、受胎率は66.7%及び42.9%であった。いずれの耐凍剤除去操作も融解後の生存性及び受胎性が高く、実用性の高い手法と考えられた。	
(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、正確で迅速な性別判定と凍結保存された性別別卵で高い受胎率を安定的に確保することが必要である。

[成果の内容・特徴]

- 1 受精卵の性別判定率は、LAMP法で90.0%、PCR法で100%であり、判定までの所要時間は、LAMP法がPCR法に比べて短時間であった。
- 2 ガラス化保存の耐凍剤は25%エチレングリコール25%DMSO及び0.4%BSA添加修正PBS (VSED) を使い、プラスチックストローへ充填し、液体窒素中に浸漬し保存した。ストロー内構成は、ステップワイズ法 (図1) ではVSED層を6%グリセリン10%シュークロース0.3%BSA添加PBS (6%グリセリン) で、ワンステップ法 (図2) では5%エチレングリコールと0.15Mシュークロース及び20%子牛血清添加修正PBS (EGS) で挟んで充填した。
- 3 耐凍剤除去操作は、ステップワイズ法ではストロー内の各液層を混合した後に段階的に行い、ワンステップ法ではストロー内の各液層を混合して一段階で行った。
- 4 ステップワイズ法、ワンステップ法ともに融解後の生存性が高く、同時期の無処置受精卵と比べて遜色ない受胎率が得られた。

[成果の活用面・留意点]

- 1 ガラス化保存の耐凍剤は高濃度であるため、処理時間及び処理温度を厳密に管理することが必要である。
- 2 耐凍剤濃度の低下による脱ガラス化は受精卵の生存性低下を招くので、操作の習熟が必要である。

[具体的データ]

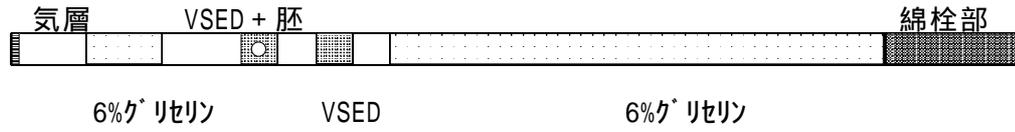


図1 ステップワイズ法のストロー内構成

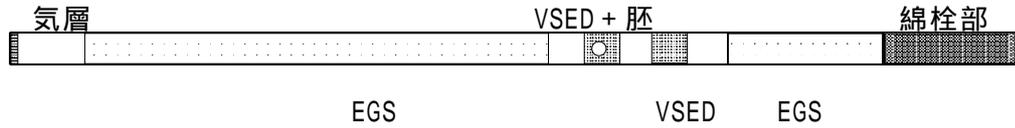


図2 ワンステップ法のストロー内構成

表1 切断後の移植用卵の生存性

供試卵数	生存卵数	生存率
27個	27個	100%

表2 性別判定結果

判定方法	供試卵数	不明	判定率
LAMP法	20個	12個	60.0%
PCR法	7個	2個	28.6%
		6個	100.0%
		2個	0.0%

表3 ガラス化保存後の移植用卵の生存性

保存方法	融解卵数	生存卵数	生存率
ステップワイズ法	9個	9個	100%
ワンステップ法	7個	7個	100%

表4 ガラス化保存後の移植用卵の受胎性と産子の性別の一致率

保存方法	移植頭数	受胎頭数	不受胎頭数	受胎率	生産頭数*	性別一致率*
ステップワイズ法	9頭	6頭	3頭	66.7%	0頭	-
ワンステップ法	7頭	3頭	4頭	42.9%	2頭	100%

*平成16年3月31日現在

[資料名] 平成15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
性判別受精卵の移植試験

[研究期間] 平成10～16年度

[研究者担当名] 秋山清・坂上信忠・仲澤慶紀・岸井誠男