

通し番号	記入不要
------	------

分類番号	24-57-21-12
------	-------------

(成果情報名) 牛の性判別胚を直接移植するための凍結保存方法	
[要約] 性判別胚を融解後に耐凍剤の希釈操作を行わず受胚牛に直接移植できる凍結保存方法について検討した。10%グリセリンと0.25Mシュークロースを含む凍結溶液を用いた10GS区及び性判別10GS区の受胎率は良好であったが、5%グリセリンと0.1Mシュークロースを含む凍結溶液を用いた5GS区及び性判別5GS区の受胎率は低率であった。このことから、凍結保存した性判別胚を融解後に無希釈で受胚牛に直接移植するためには10%グリセリンと0.25Mシュークロースを含む凍結溶液が適すと考えられた。	
(実施機関・部名) 農業技術センター畜産技術所	連絡先 046-238-4056

[背景・ねらい]

牛の雌雄産み分け技術を普及するためには、性判別胚の超低温保存技術が不可欠であり、簡易な操作で安定した受胎率の得られる保存方法が求められる。そこで、融解後に耐凍剤の希釈操作を行わず受胚牛に直接移植できる凍結保存方法について検討する。

[成果の内容・特徴]

- 1 ホルスタイン種及び黒毛和種雌牛から人工授精後7日目に採取した無処置胚または性判別のために金属刃でバイオブシーした性判別胚を用いた。
- 2 胚は平衡液で10分間平衡した後に凍結溶液と共にストロー内に充填した。ストローはプログラムフリーザーで冷却し、 -6°C または -4°C で植氷し、 -25°C まで毎分 0.33°C の速度で冷却した後に液体窒素内に保存した。
10GS区と10GS性判別区では平衡液に10%グリセリン液、凍結溶液に10%グリセリン・0.25Mシュークロース液、希釈液に0.25Mシュークロース液を用い、5GS区と5GS性判別区では平衡液に5%グリセリン液、凍結溶液に5%グリセリン・0.1Mシュークロース液、希釈液は0.1Mシュークロース液を用いた(表1)。
- 3 無処置胚を用いた10GS区及び5GS区の受胎率は65.0%及び35.7%であり、性判別胚を用いた性判別10GS区及び性判別5GS区では46.2%及び25.0%であった(表2)。
- 4 10GS区および性判別10GS区は、Aランク胚、Bランク胚ともに良好な受胎率であった(表3)。

[成果の活用面・留意点]

- 1 供試胚の発育ステージは胚盤胞以上が中心である。

2 基礎溶液は子牛血清 20%を添加した HEPES 緩衝 TCM199 を用いた。

[具体的データ]

表1 試験区の概要

試験区	供試胚	凍結溶液		シュクロース液 濃度	植氷 温度
		グリセリン濃度	シュクロース濃度		
10GS区	無処置胚	10%	0.25M	0.25M	-6℃
5GS区	無処置胚	5%	0.1M	0.1M	-4℃
性判別10GS区	性判別胚	10%	0.25M	0.25M	-6℃
性判別5GS区	性判別胚	5%	0.1M	0.1M	-4℃

表2 移植成績

試験区	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
10GS区	20	13	65.0
5GS区	14	5	35.7
性判別10GS区	13	6	46.2
性判別5GS区	12	3	25.0

表3 供試胚のランク別移植成績

試験区	Aランク			Bランク		
	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率 (%)	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率 (%)
10GS区	11	6	54.5	9	7	77.8
5GS区	9	4	44.4	5	1	20.0
性判別10GS区	9	4	44.4	4	2	50.0
性判別5GS区	6	1	16.7	6	2	33.3

表4 供試胚の発育ステージ別移植成績

試験区	後期桑実胚			初期胚盤胞			胚盤胞			拡張胚盤胞		
	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率 (%)									
10GS区	1	1	100.0	3	3	100.0	14	8	57.1	2	1	50.0
5GS区				1	0	0.0	13	5	38.5			
性判別10GS区				1	1	100.0	12	5	41.7			
性判別5GS区	1	1	100.0				6	2	33.3	5	0	0.0

[資料名] 平成 24 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

(5) 性判別凍結胚の無希釈移植法の検討

[研究期間] 平成 21～24 年度

[研究者担当名] 秋山清、坂上信忠