

通し番号	4 3 3 5
------	---------

分類番号	19-57-22-10
------	-------------

(成果情報名) ガラス化保存した性判別胚の希釈液の比較
[要約] 庭先融解に対応可能なガラス化保存法を確立するためにストロー内に充填する希釈液について検討した。EGSまたは0.3Mシュークローズ液 (SUC) を用いてストロー内希釈した性判別胚の受胎率はEGS区及びSUC区が60.0%及び58.3%であり、EGS直接区及びSUC直接区は57.1%及び33.3%であった。また、移植操作時間による受胎率の差は認められなかった。
(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]

胚のガラス化保存は、冷却後に細胞内外に氷晶形成を起こさないことから、従来の緩慢凍結法に比べて高い受胎率が得られるが、凍結胚の利用の主流となっている庭先融解による直接移植へ対応できることが望まれる。そこで、ガラス化保存胚のストロー内希釈に用いる希釈液の組成と移植操作時間が受胎性に及ぼす影響について検討した。

[成果の内容・特徴]

- 1 人工授精後7日目に採取し金属刃でバイオプシーした胚を、25%エチレングリコール25%DMSO及び0.4%BSA添加修正PBSでガラス化保存した。
- 2 加温後の耐凍剤除去操作は、ストロー内でガラス化液と希釈液を混合することにより行った (図1)。
- 3 ストロー内に充填した希釈液 (5%エチレングリコール0.15Mシュークローズ及び20%子牛血清添加修正PBS : EGS、または0.3Mシュークローズ及び20%子牛血清添加修正PBS : SUC) の影響を検討したところ、胚の生存性確認後に移植したEGS区及びSUC区の受胎率は60.0%及び58.3%であり、胚をストローから取り出すことなく直ちに受胎牛に移植したEGS直接区及びSUC直接区の受胎率は57.1%及び33.3%であった (表1)。
- 4 移植操作時間は2.5~10分の範囲であり、著しく延長した例は認められなかった。通常の移植操作時間の範囲では受胎率に対する影響は少ないものと考えられる (表2)。

[成果の活用面・留意点]

- 1 ガラス化保存は耐凍剤平衡等の処理時間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]

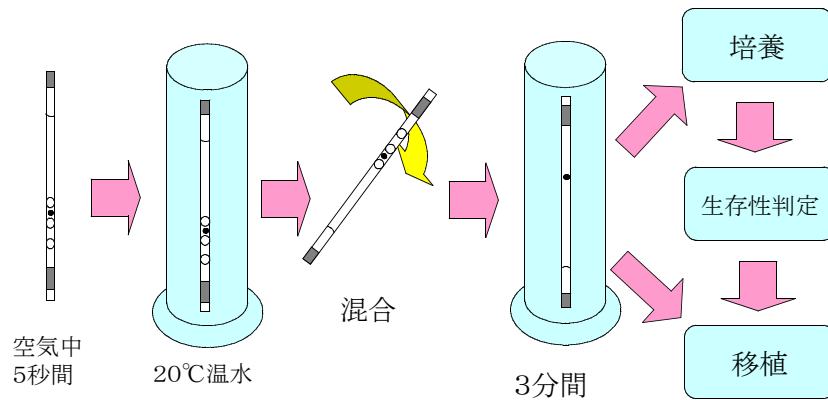


図1 ガラス化保存胚の加温方法

表1 希釈液及び移植方法が受胎性に及ぼす影響

試験区	加温胚数 (a)	生存胚数 (b)	生存率 (b/a,%)	移植頭数	受胎頭数 (c)	受胎率 (c/a,%)
EGS区	5	5	100.0	5	3	60.0
SUC区	12	9	75.0	9	7	58.3
EGS直接区	7	-	-	7	4	57.1
SUC直接区	3	-	-	3	1	33.3

表2 移植操作時間が受胎率に及ぼす影響

移植操作時間	EGS区及びSUC区				EGS直接区				SUC直接区			
	平均 (分)	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率 (%)	平均 (分)	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率 (%)	平均 (分)	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率 (%)
2.5～5分	4.0	11	7	63.6	3.6	5	3	60.0	5.0	2	0	0.0
5～10分	7.3	3	3	100.0	5.8	2	1	50.0	5.5	1	1	100.0

[資料名] 平成19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検討
 [研究期間] 平成10～20年度
 [研究者担当名] 秋山 清・坂上信忠