

通し番号	4 2 3 0
------	---------

分類番号	18-57-22-01
------	-------------

(成果情報名) 加温後の保持時間の延長によりガラス化保存胚の生存性は低下する
[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加温及び耐凍剤除去操作について検討した。加温後の保持時間が延長すると、胚の生存率及び透明帯脱出率は有意に低下した。また、ストロー内に充填した希釈液の種類により、胚の生存率及び透明帯脱出率に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可能であることが望まれる。そこで、ガラス化保存胚の加温後の保持時間及び希釈液が胚の生存性に及ぼす影響について検討した。

#### [成果の内容・特徴]

- 1 体外受精後8日目の胚盤胞を、25%エチレングリコール25%DMSO及び0.4%BSA添加修正PBSをガラス化液としてガラス化保存した。
- 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。
- 3 加温後に38.5 での保持時間の影響を検討したところ、胚の生存率は保持時間5分で有意に低下し、透明帯脱出率は保持時間40分で有意に低下した。(表1)
- 4 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シュークロース及び20%子牛血清添加修正PBS、または0.2Mシュークロース及び20%子牛血清添加修正PBS)の影響を検討したところ、胚の生存率及び透明帯脱出率に差は認められなかった。(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 ]

表1 希釈後の保持時間が生存性に及ぼす影響

保持時間	供試胚数	生存胚数	生存率(%)	脱出胚盤胞数	透明帯脱出率(%)
0分	38	35	92.1 <sup>a</sup>	19	50.0 <sup>A</sup>
5分	30	22	73.3 <sup>b</sup>	16	53.3 <sup>A</sup>
20分	34	24	70.6 <sup>b</sup>	13	38.2 <sup>AB</sup>
40分	26	16	61.5 <sup>b</sup>	2	7.7 <sup>B</sup>

異符号間に有意差あり(a,b:p<0.05, A,B:p<0.01)

表2 希釈液が胚の生存性に及ぼす影響

希釈液	供試胚数	生存胚数	生存率(%)	脱出胚盤胞数	透明帯脱出率(%)
EGS	38	35	92.1	19	50.0
SUC	38	35	92.1	19	50.0

EGS:5%エチレングリコール0.15Mシュークロース20%子牛血清添加修正PBS

SUC:0.2Mシュークロース20%子牛血清添加修正PBS

[資料名] 平成18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・仲澤慶紀