
[成果情報名] 牛体外受精胚のFV法を用いた超急速ガラス化保存による生存率の向上
[要約] 牛体外受精胚の保存にFV法(Fukuoka Vitriification Method)を用いると融解後の生存率の低下を防ぎ、ガラス化液にGESXを使用することで融解後の発育が飛躍的に向上する。

[キーワード] 牛、胚、ガラス化、生存率

[担当部署] 家畜部・畜産工学チーム

[連絡先] 092-925-5232

[対象作物] 肉用牛・乳用牛

[専門項目] バイテク

[成果分類] 新技術

[背景・ねらい]

福岡県で生産している牛胚のほとんどは、受胎牛の発情周期に合わせて凍結胚として移植しているが、体外培養系で生産した体外受精胚を緩慢冷却によって凍結保存した場合、融解24時間後の生存率は80%に達していない。そのため、移植による受胎率も自ずと低い傾向にあり、体内受精胚と比べ産子生産性が劣る。

そこで、保存した体外受精胚の融解後の生存性を高める目的で、本県独自で開発したFV法で体外受精胚のガラス化法を検討する。

(要望機関名 : 畜産課(H10))

[成果の内容・特徴]

- 1 . 牛胚を保存する場合、ガラス化は緩慢冷却と比較して、ガラス化液への平衡および希釈のステップ数は多いが、保存作業時間が短くてすむ。また、高価なプログラムフリーザを用いないでよいため、経済的である(表1)。
- 2 . 牛体外受精胚を長期間保存する場合、FV法でガラス化すると、緩慢冷却法と比較して生存率の低下を防ぐことができる(図1)。
- 3 . 牛体外受精胚を無血清ガラス化液GESXを使いFV法で超急速ガラス化すると、緩慢冷却法と比較して、胚へのダメージや生存率低下が認められず、融解後の発育性が飛躍的に向上する(図1~3, 写真1)。

[成果の活用面・留意点]

- 1 . 生産した牛胚を保存する場合に、高い生存率を維持したまま簡易に保存できる技術として胚移植機関で利用できる。

[具体的データ]

表1 体外受精胚のガラス化または緩慢冷却法の作業ステップおよび所要時間（平成14年）

耐凍液	冷却方法	耐凍剤濃度	平衡段階	保存作業時間	希釈段階	供試胚数
GESX	FV(ガラス化)	40%	3ステップ	16分	3ステップ	77
mVSED	FV(ガラス化)	40%	2ステップ	9分	3ステップ	77
10ES	緩慢冷却	10%	1ステップ	100分	1ステップ	79

- 注) 1. GESX組成：20% グリセロール 20% イソペンタリコール 0.3M シュクロース 0.3M キシロース
3% ホリイソペンタリコール デルベッコリ酸緩衝液
2. mVSED組成：20% ジメチルホルムジド 20% イソペンタリコール 20% 非働化子牛血清 TCM199
3. 10ES組成：10% イソペンタリコール 0.1M シュクロース 20% 非働化子牛血清 デルベッコリ酸緩衝液
4. 供試胚：拡張胚盤胞期胚（体外受精7，または8日目胚）

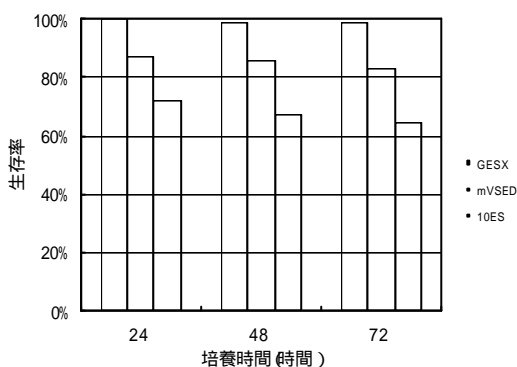


図1 融解胚の生存率（平成14年）

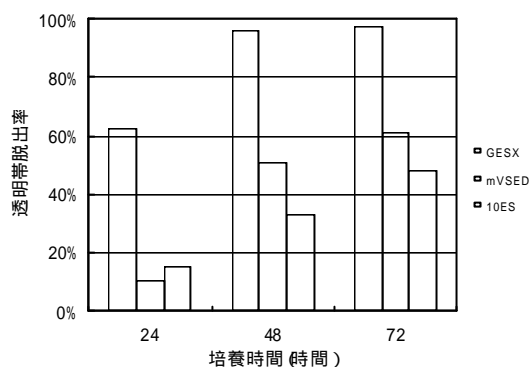


図2 融解胚の透明帯脱出率（平成14年）

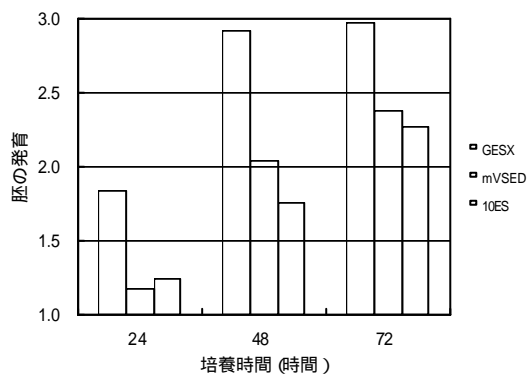


図3 融解後生存胚の発育（平成14年）

- 注) 胚の発育1：拡張胚盤胞期
2：脱出中胚盤胞期
3：脱出胚盤胞期

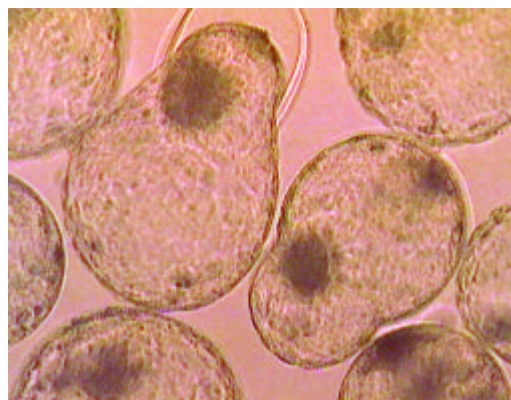


写真1 融解24時間後のFV+GESX胚（平成14年）
60%以上が透明帯脱出し、形態も良好である。

[その他]

研究課題名：高能力乳牛の作出技術
 予算区分：県特（福岡スーパー乳牛大量作出技術開発事業）
 研究期間：平成14年度（平成13～16年）
 研究担当者：笠正二郎、森美幸、上田修二
 発表論文等：平成14年度畜産関係試験成績書