
[成果情報名] 融解操作が簡易なストロー内ガラス化・希釈法による牛性判別胚の生存性
[要約] ストロー内への封入法および融解法を改良した簡易なストロー内希釈法で牛性判別胚をガラス化することによって、良好な生存性と受胎性が得られる。

[キーワード] 牛、性判別胚、ガラス化、ストロー内希釈

[担当部署] 家畜部・畜産工学チーム

[連絡先] 092-925-5232

[対象作目] 乳用牛・肉用牛 [専門項目] バイテク [成果分類] 技術改良

[背景・ねらい]

牛性判別胚は、緩慢凍結より最少容量で超急速ガラス化すると生存性が向上し（平成 15 年度農業関係試験研究の成果）、家畜診療所や人工授精所などでの利用は可能となったが、滅菌が困難な液体窒素に胚を直接接触させることや農家の庭先での融解操作に問題点が残った。

そこで、性判別胚を液体窒素に接触させないストロー内ガラス化・希釈法を改良し、より農家の庭先での融解操作が簡易となる同法でガラス化した性判別胚の生存性について検討する。

（要望機関名：畜産課(H10)）

[成果の内容・特徴]

- 1．前平衡後の性判別胚をガラス化液（VSED）に浸漬後、2 層の空気層を挟んだ希釈液と共に 0.25ml 容のストローに封入し、液体窒素内でガラス化する。融解は、液体窒素から取り出したストローを 2 層の空気層を残すように微温水に投入して行い、ストローを振ることによってガラス化液層と希釈液層を混和させ、再度ストローを微温水内で静置し希釈を行う（図 1）。これにより、綿栓部側に空気層を 1 層押すことが可能となる。
- 2．性判別胚と共にストローに封入するガラス化液量を従来の 10 μ l から 5 μ l と半量にしても、同等の生存率が得られる（表 1）。
- 3．融解・希釈時の温水の温度を従来の 20 から 35 にすると、培養後の生存率が低下する（表 2）。
- 4．ストロー内で希釈した胚の融解後の生存率と移植後の受胎率は、従来の 4 段階希釈法と同等である（表 3）。

[成果の活用面・留意点]

- 1．性判別胚の他、従来の凍結法では融解後の生存性が低い分割胚や細胞操作胚の保存法として活用できる。
- 2．移植成績は、融解後生存性を確認して再封入後移植したものである。

[具体的データ]

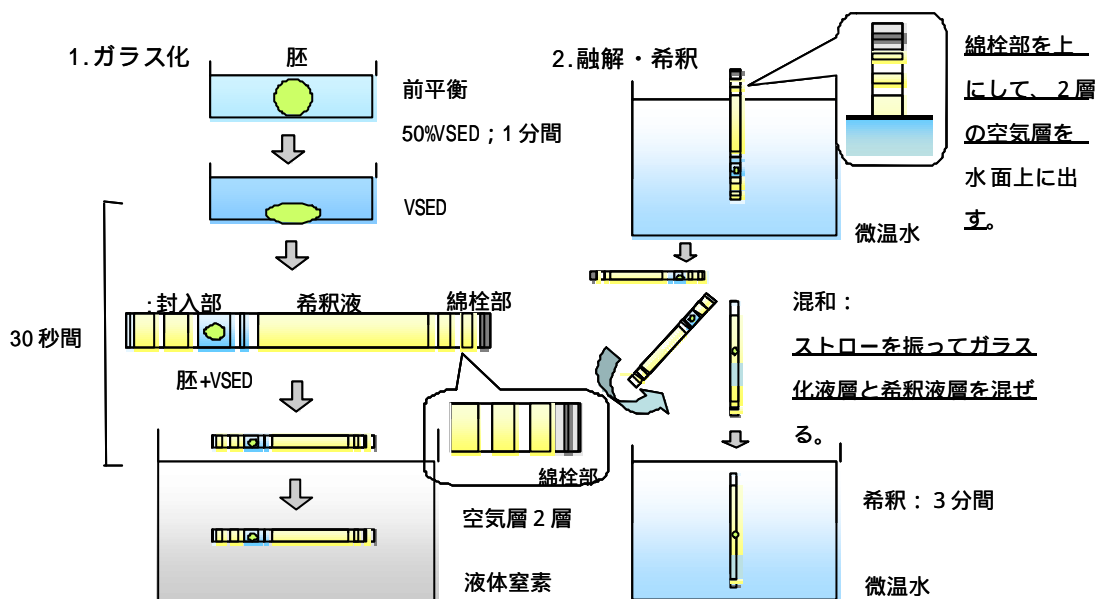


図1 ストロー内希釈法によるガラス化保存

表1 胚と共に封入するガラス化液量が融解後の生存性に及ぼす影響 (平成15年)

液量 (μ l)	供試 胚数	生存胚数(%)	
		24h	48h
5	18	16(89)	15(83)
10(従来法)	18	15(83)	13(72)

注) 1. 融解: 20 微温水

2. 希釈: ストロー内を混和後、同温度の微温水で3分間垂直に保持

3. 生存胚: 培養後胞胚腔の再形成

表2 融解・希釈温度が融解後の生存性に及ぼす影響 (平成15年)

温度 ()	供試 胚数	生存胚数(%)	
		24h	48h
20(従来法)	15	13(87)	14(93)
35	12	8(67)	6(50)

注) 1. ガラス化液量: 5 μ l

2. 希釈: 各温度で融解後、ストロー内を混和し、同温度の微温水で3分間垂直に保持

3. $p < 0.05$ (χ^2 検定)

表3 移植成績 (平成15年)

希釈法	供試胚数	回収胚数(%)	生存胚数(%)	移植頭数	受胎頭数(%)
ストロー	20	20(100)	20(100)	15	6(40)
4段階(従来法)	20	20(100)	18(89)	14	6(43)

注) 1. 従来法: ガラス化は、ストロー内希釈法と同じ。融解後、シャーレに回収した胚を4段階で希釈。

2. 3-4時間の培養で胞胚腔の再形成を確認した胚を受胎牛に1個移植

[その他]

研究課題名: 乳牛胚の大量生産技術の確立

予算区分: 経常

研究期間: 平成15年度(平成12~15年)

研究担当者: 上田修二、笠正二郎、森美幸

発表論文等: 平成15年度畜産関係試験成績書