

---

[成果情報名] 透明帯破断による牛体外胚凍結融解後の生存率向上

[要約] 性判別バイオプシー用の金属刃により簡易に牛体外胚の透明帯を破断開口でき、緩慢凍結・融解後の生存性が向上する。

[キーワード] 金属刃、透明帯、破断、牛、体外胚、凍結、生存率

[担当部署] 家畜部・家畜繁殖チーム

[連絡先] 092-925-5232

[対象作目] 肉用牛・乳牛

[専門項目] バイテク

[成果分類] 技術改良

---

[背景・ねらい]

胚移植は酪農家における黒毛和種の子牛生産に利用されているが、牛体外胚は凍結融解後の生存性が低く、体内胚に比べて移植後の受胎率が低い傾向にある。

ヒトの不妊治療では、透明帯から脱出が困難な胚について、透明帯を切開開口後に移植することにより着床率を改善している。

そこで、牛体外胚の透明帯を開口する方法としてより簡易な破断による開口法を検証するとともに、透明帯を破断開口した牛体外胚の緩慢凍結・融解後の生存性や移植後の受胎率に及ぼす効果を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 性判別バイオプシー用の金属刃を用い、胚の真上から金属刃で押さえて透明帯を破断することにより、片側のマイクロマニピュレータ操作で簡易に胚の透明帯を開口することができる（図1）。
2. 体外胚の透明帯を破断開口することにより、緩慢凍結・融解後の生存率および透明帯からの脱出率が向上する（表1）。
3. 透明帯を破断開口後に緩慢凍結した体外胚は、2胚移植時の双子率、1回移植当たりの産子数が多い傾向にある（表2）。

[成果の活用面・留意点]

1. 体外受精胚供給機関（胚の性判別実施機関）において、凍結保存胚の生存率向上技術として活用する。
2. 胚細胞部分が収縮して破断しにくい場合には、端の透明帯部分を従来法により切開開口する。
3. 透明帯を破断開口した胚の2胚移植時には双子が産まれる可能性があるため、未経産牛への移植や分娩管理等に留意が必要である。

[具体的データ]

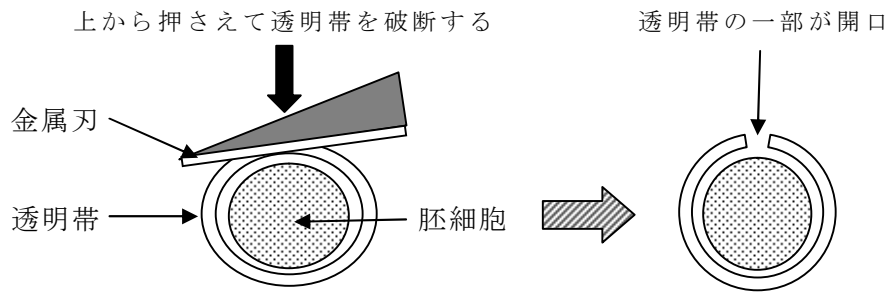


図1 金属刃を用いた透明帯破断法

注) PBS液中で胚をシャーレ底に固着させて実施。

表1 透明帯を破断した体外胚凍結融解後の生存性 (平成20～21年)

透明帯	供試数	生存数	生存率	脱出数	脱出率
破断	114	111	97.4%	96	84.2%
対照	66	54	81.8%	45	68.2%
$\chi^2$ 検定			**		*

- 注) 1. 耐凍剤：10%エチレングリコール+0.1Mスクロース  
 2. 凍結法：プログラムフリーザーによる緩慢凍結  
 3. 生存：融解後形態が回復、脱出：融解後脱出胚盤胞まで発育  
 4.  $\chi^2$ 検定 \*：P<0.05、\*\*：P<0.01

表2 透明帯を破断した凍結牛体外胚の2胚移植成績 (平成20～22年)

透明帯	移植数	受胎数	受胎率	分娩数	双子数	双子率	産子数	産子/ET
破断	44	21	47.7%	15	4	26.7%	19	0.43
対照	29	13	44.8%	10	1	10.0%	11	0.38
$\chi^2$ 検定			ns			ns		

- 注) 1. 県内移植機関により移植 (ダイレクト法)。  
 2. 産子/ET：1回移植当たりの産子数  
 3.  $\chi^2$ 検定 ns：有意差なし

[その他]

研究課題名：胚操作技術を活用した牛胚生産技術および受胎率向上技術

予算区分：経常

研究期間：平成22年度 (平成20～22年)

研究担当者：磯崎良寛、上田修二、森美幸、笠正二郎