

[ 年度 ] 平成20年度和歌山県農林水産総合技術センター研究成果情報

[ 成果情報名 ] 直接移植を想定した超急速ガラス化保存したウシ体外受精胚の生存性  
および受胎性

[ 要約 ] ウシ体外受精胚の超急速ガラス化保存法について検討した。その結果、超急速ガラス化法は対照の緩慢凍結法と加温融解後の胚の生存性は同等であったが、透明帯脱出率が良好であった。さらに超急速ガラス化保存・加温後の胚を4頭の受胎牛に移植したところ、2頭の産子が得られた。

[ キーワード ] ウシ体外受精胚、ガラス化

[ 担当機関名 ] 畜産試験場 大家畜部

[ 連絡先 ] 0739-55-2430

[ 部会名 ] 畜産部会

[ 分類 ] 研究

[ 背景・ねらい ]

超急速ガラス化保存法は氷晶の形成を抑制することにより、高い生存性が得られる胚の保存法であるが、直接移植法が確立されていないため、現場普及へ至っていない。そこで、ガラス化保存胚の現場普及を目的に、生体卵子吸引-体外受精(OPU-IVF)技術により作出したウシ体外受精胚を、直接移植を想定した超急速ガラス化保存法で保存し、加温・融解後の生存性および受胎性を調査した。

[ 成果の内容・特徴 ]

1. 超急速ガラス化(ガラス化区)にはF式法(笠ら、2006)を用い、ガラス化液の組成は20% EG, 20% Gly, 0.3M Suc, 0.3M Xly, 3% PEGを添加した20%CS加m-PBSとした。培養試験の対照区には緩慢凍結法(ダイレクト法)を用いた。
2. 加温融解後の胚の生存率はガラス化区と対照区との間に有意差は認められなかった(表1)。
3. 加温融解後の胚の透明帯脱出率は、融解後72時間でガラス化区が対照区に比べ有意に高かった(表2)。
4. 超急速ガラス化・加温融解後のウシ体外受精胚を4頭の受胎牛に直接移植したところ、2頭が受胎し、2頭の産子が得られた(表3)。

[ 成果の活用面・留意点 ]

1. F式法におけるガラス化では、約5%の割合で胚の紛失が認められ、現場普及にあたっては技術の安定化、簡易化が必要であると思われる。

[ 具体的データ ]

表 1 . 保存法の違いがウシ体外受精胚の加温・融解後の生存率に及ぼす影響

保存法	供試 胚数	生存胚数 (%)					
		培養時間 (h)					
		24		48		72	
ガラス化区	31	27	(79.8 ± 8.3)	23	(75.6 ± 7.4)	23	(75.6 ± 7.4)
対照区	25	18	(74.7 ± 12.7)	16	(66.9 ± 6.6)	16	(66.9 ± 6.6)

表 2 . 保存法の違いがウシ体外受精胚の加温・融解後の透明帯脱出率に及ぼす影響

保存法	供試 胚数	透明帯脱出胚数 (%)					
		培養時間 (h)					
		24		48		72	
ガラス化区	31	3	(6.4 ± 4.4)	14	(33.1 ± 14.3)	19	(57.1 ± 6.6) <sup>a</sup>
対照区	25	0	(0.0 ± 0.0)	7	(23.7 ± 7.7)	8	(26.2 ± 10.2) <sup>b</sup>

a-b: P<0.05

表 3 . ウシ体外受精胚の移植成績

保存法	移植頭数	受胎頭数	流産頭数	産子頭数
ガラス化区	4	2	0	2
対照区	3	1	1	0

[ その他 ]

研究課題名：バイオテクノロジーによる熊野牛増産

予算区分：県単

研究期間：平成18～20年

研究担当者：福原順子

発表論文等：和歌山県農林水産総合技術センター研究報告第10号