

[成果情報名]性判別済み牛受精卵の緩慢凍結保存および直接移植技術

[要約]性判別済み牛受精卵を 5%グリセリンを耐凍剤に用いた凍結液で緩慢凍結保存すると、10%エチレングリコールを耐凍剤に用いた従来法で保存したものよりも高く無処理受精卵と同等の受胎率が得られる。

[担当]酪農試・乳肉用牛科・鈴木希伊

[分類]技術・普及

[課題の要請元]

畜産課

[背景・ねらい]

飼養目的に応じて出生子牛の性別を人為的に支配する技術は、経済効果が大きく飼養農家からも強く望まれているところであるが、性判別済み受精卵の実用化のためには、これを凍結保存して安定的に供給する事が必要であり、一方遺伝子診断のため細胞塊サンプルを採取した受精卵を凍結保存しこれらを現地融解・直接移植する技術については受胎率が安定しない事から普及が進まない現状にある。このため性判別を実施した受精卵の受胎率をより高く安定させる事を目的に技術検討をおこなった。

[成果の内容・特徴]

1. 良好な発育をした牛受精卵の 1/3-1/4 程度をサンプルとして採取し、これを培養液 20%牛胎児血清加 TCM199 培地、気相 38.5℃・5%CO₂-5%O₂-90%N₂ で 4-5 時間修復培養した後、5%グリセリン法 (0.1M シュクロース加 5%グリセリン/20%子牛血清加 TCM199 を凍結媒液として、-4℃のメタノールバス中で 1 分保持後植氷して 9 分保持、2 次冷却速度-0.33℃/分・最終到達温度-25℃) で緩慢凍結した性判別済み牛受精卵を、現地融解し受精卵牛子宮内に直接注入する時の受胎率は 43.8%(7/16)であり、0.1M シュクロース加 1.8M エチレングリコール/20%子牛血清加 m-PBS を凍結媒液とした従来法の受胎率 24.1%(7/29)に比較して高い受胎率とすることができる。(表 1、表 2)

[成果の活用上の留意点]

1. 凍結保存受精卵ストローは、6~10 秒エアソーイングの後 30℃の微温湯中に 20 秒投入して融解する。
2. 受胎率を低下させるおそれがあるため、受精卵ストロー融解後 5 分間以内に移植を完了すること。

[期待される効果]

1. 県有供卵牛より採取した性判別済み受精卵の利用を促進し、普及させる事ができる。

[具体的データ]

表1 方法別凍結保存手技の詳細

	5%グリセリン法	従来法
耐凍剤	0.1M Suc + 5% Gly	0.1M Suc + 1.8M EG
凍結媒液基本液	TCM199培地	m-PBS
添加物	20%子牛血清	
植氷条件	-4°Cメタノールハース1+9分保持	-7°Cメタノールハース2+10分保持
2次冷却速度	-0.33°C/分	-0.3°C/分
最終到達温度	-25°C	-30°C

*Gly:グリセリン Suc:しょ糖 m-PBS:ヒールビン酸ナトリウムカリウム緩衝液
EG:エチレングリコール

表2 方法別性別別済み牛受精卵の受胎状況

	受卵牛産歴	移植数	受胎	不受胎	受胎率
5%グリセリン法	経産牛	6	3	3	50.0%
	未経産牛	10	4	6	40.0%
	計	16	7	9	43.8%
従来法	経産牛	19	4	15	21.1%
	未経産牛	10	3	7	30.0%
	計	29	7	22	24.1%

[その他]

研究課題名：牛の人工妊娠技術実用化事業

予算区分：県単

研究期間：1984年度～

研究担当者：鈴木希伊、神藤 学、土橋宏司