牛体外受精胚ダイレクト移植用凍結液への糖およびタンパクの添加効果

[要約]<u>牛体外受精胚</u>をダイレクト移植用に緩慢冷却して<u>凍結保存</u>する場合には、凍 結液に<u>糖</u>および<u>牛血清アルブミン</u>を添加すると、融解後の胚の生存性が良好となる。

| 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 | 技術改良 |

「背景・ねらい)

牛の胚移植技術が普及定着するには、農家現場で簡易に融解・移植できる受胎率の高い胚の保存技術が不可欠である。このような背景から、過去に融解後そのまま移植できるダイレクト法が開発された。その後、高い浸透圧の耐凍剤から胚を保護する目的で凍結液に糖やタンパク等を添加する改良が試みられ、種々のダイレクト法が現場段階で利用されている。しかし、それらの保存・融解手法の試験は単独に行われ、融解試験や移植試験を含めた一連の技術として、凍結液に添加する物質など詳細な部分の比較検討がされていない。そこで、体外受精胚を用いて凍結液に添加する糖やタンパクを比較することで、牛体外受精胚においてもダメージの少ない凍結液を検討し、標準的なダイレクト移植用凍結液を調製する。

「成果の内容・特徴]

- 1.凍結液に糖類を添加して体外受精胚をダイレクト移植用に緩慢冷却(図1)すると、 融解後の胚の生存性が向上する傾向が見られる(表1、図2、3、4)。
- 2.体外胚のダイレクト移植用凍結液に添加するタンパクは、子牛血清より牛血清アルブミンが、融解後の胚の生存性が高い傾向が見られる(表1、図2、3、4)。

「成果の活用面・留意点]

1.牛胚のダイレクト移植を行う胚移植機関で参考資料として利用できる。

[具体的データ]

ダイレクト移植用凍結液に添加する各種糖およびタンパクと浸透圧(平成14年)

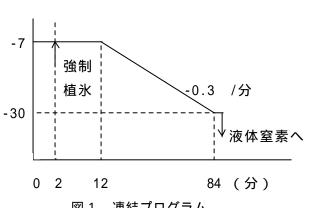
| 試験区 | 供試胚数 | 添加糖 | 添加タンパク | 浸透圧(mOsm) |
|-----|------|---------------|------------|----------------|
| SUC | 48 | 0.1M/L シュクロース | 20% C S | $2,325 \pm 46$ |
| TRE | 35 | 0.1M/L トレハロース | 20% C S | $2,324 \pm 23$ |
| C S | 41 | - | 20% C S | $2,199 \pm 18$ |
| BSA | 44 | - | 4mg/ml BSA | $2,205 \pm 18$ |

注)耐凍剤:10% エチレングリコール 基材:ダルベッコリン酸緩衝液

BSA:牛血清アルプミン(F-V)、CS:非働化子牛血清 凍結液平衡時間:10~15分

供試胚:拡張胚盤胞期胚(体外受精7、または8日目胚)

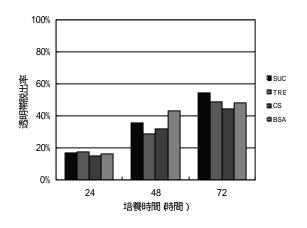
100%

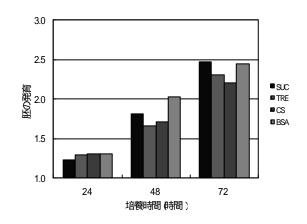


80% ■ SUC 60% ■ TRE ■ CS 40% **■** BSA 20% 0% 24 48 72 培養時間(時間)

図1 凍結プログラム

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

図4 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

[その他]

研究課題名:受胎率の高い胚保存技術の確立 予 算 区 分:国庫助成(生産振興総合対策) 研究期間:平成14年度(平成14~16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