

牛胚をダイレクト移植できる超急速ガラス化保存用具の開発

山形県農業総合研究センター畜産試験場

研究のねらい

本県畜産経営において、緩慢凍結法による凍結保存の胚利用が主流となっているが、その受胎率は40%程度に低迷している。一方、牛胚の凍結融解後の生存性の高い方法として超急速ガラス化保存法（細胞を超急速に冷却しガラス状に固化させる凍結方法：従来品クライオトップ用具）は知られていたが、野外での実用化は困難であった。

そこで、超急速ガラス化保存された牛胚を農家庭先で簡単にダイレクト移植できる実用性の高い保存用具及びそれを用いた凍結胚の製造・移植方法を開発した。

研究の成果

- ① 開発した保存用具（以下 保存用具）の特徴は、専用の保管容器を必要とせずに市販の0.25ml移植用ストローを利用できる。また、その先端部はガラス化液を含んだ胚（0.5 μl以下）を載せて、超急速にガラス化できる構造・形状をしている。さらに、液体窒素内に長期保存が可能である。保存用具を用いた超急速ガラス化法の作業工程は下図のとおりである（図1）。



- ② 保存用具を用いた保存胚は、慣行の緩慢凍結法に比べ、有意に融解後の生存率が高く、超急速ガラス化保存法のクライオトップ用具に比べ、操作性・安全性に優れ、簡単に農家庭先でダイレクト移植ができる。受胎率は50%以上と高い（表1）。

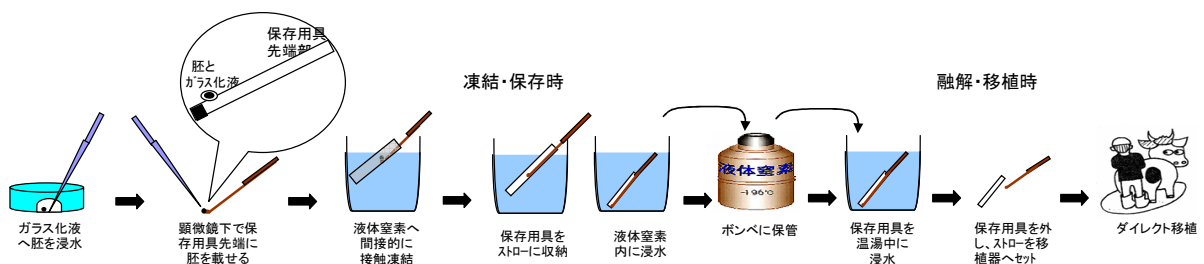


図1 超急速ガラス化保存法（凍結・融解）の作業工程

表1 超急速ガラス化保存法の検討（生存性、操作性、受胎性）

処理区	融解胚数	生存率(%)		操作時間 (分)/胚	細菌汚染 可能性	胚移植頭数	妊娠鑑定状況(頭)		受胎率 (%)	移植者別受胎率(%)	
		24h後	48h後				受胎	不受胎		経験多い	経験少ない
緩慢凍結法	26	61.9 ^a	54.4 ^a	109	有	-	-	-	-	-	-
クライオトップ用具	23	95.8 ^b	91.7 ^b	25	有	-	-	-	-	-	-
開発した保存用具	25	96.4 ^b	88.7 ^b	11	無	55	30	25	54.5	48.6	66.7

※a-b間に有意差あり(p<0.01)

操作時間は1胚当りのガラス化平衡+ガラス化保存+加温融解に要する作業時間を示す。

細菌汚染可能性は、ガラス化保存工程において、胚を液体窒素に直接接触させる操作あったものを可能性ありとした。

移植者の経験は年間延べ20頭以下を経験少ないとした。