

[成果情報名]ウシ受精卵を効率的に凍結処理できる超急速ガラス化保存技術

[要約]超急速ガラス化保存技術において、平衡液処理時間を9分まで延長でき、ウシ受精卵の凍結保存の作業効率を大きく向上させることができる。

[担当]山梨県畜産酪農技術センター・乳肉用牛科・田村洋次

[分類]技術・参考

[課題の要請元]

畜産課

[背景・ねらい]

後継牛や甲州牛生産に体外受精卵を活用するため、体外受精卵を安定して生産・供給できる技術が求められている。しかし、従来のガラス化処理方法は受精卵を平衡液に3分浸漬(①平衡液処理)し、ガラス液へ1分浸漬(②ガラス化液処理)した後に、ガラス化器具へ移し液体窒素に投入して凍結(③凍結処理)する方法(表1)であるが、受精卵を複数同時処理できず、1個ずつの処理であるため、凍結作業に多くの時間を要する。そこで、ガラス化処理の効率化のため、受精卵を複数同時処理できる技術を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 平衡液処理時間を従来の3分から9分及び15分に延長しガラス化保存処理したところ、融解後24時間における体外受精卵の生存率に差はみられない(図1)。一方、融解後72時間における透明帯脱出率において15分は3分及び9分には比べ低かったが、3分と9分に差はみられない(図2)。
2. 平衡液処理時間を従来の3分から9分へ延長しても生存性に差はないため、3分～9分の平衡処理時間の中で、複数の受精卵を同時に平衡液へ浸漬し、順次ガラス化処理を行うことで、1作業での受精卵の複数同時処理が可能である(表2)。

[成果の活用上の留意点]

1. 平衡液処理時間の延長により受精卵の処理効率が大きく向上したが、ガラス化液の処理時間は従来法と変わらず1分と短いため、ピペット操作等の受精卵の取扱いについては十分に習熟しておく必要がある。
2. 本成果は表1及び2の組成の処理液を用いたものであるため、異なる組成の処理液についてはさらなる検討の必要がある。

[期待される効果]

廃用される優良雌牛(供卵牛)から生産した体外受精卵を新たな超急速ガラス化保存技術で効率的に処理することで、血統登録可能で高い受胎率が期待できる体外受精卵を多数供給することが可能となり、県内乳肉用牛の改良増殖及び甲州牛の増頭がより一層図られる。

[具体的データ]

表1. ガラス化処理方法（従来法）

方法	処理工程	処理液の組成	処理時間
従来法	①平衡液処理	7.5%EG+7.5%DMSO+20%CS加D-PBS	<u>3分</u>
	②ガラス化液処理	15%EG+15%DMSO+0.5MSuc+20%CS加D-PBS	1分
	③凍結処理	ガラス化器具へ移し液体窒素へ投入	

表2. ガラス化処理方法（改良法）

方法	処理工程	処理液の組成	処理時間
改良法	①平衡液処理	7.5%EG+7.5%DMSO+20%CS加D-PBS	<u>3~9分</u>
	②ガラス化液処理	15%EG+15%DMSO+0.5MSuc+20%CS加D-PBS	1分
	③凍結処理	ガラス化器具へ移し液体窒素へ投入	

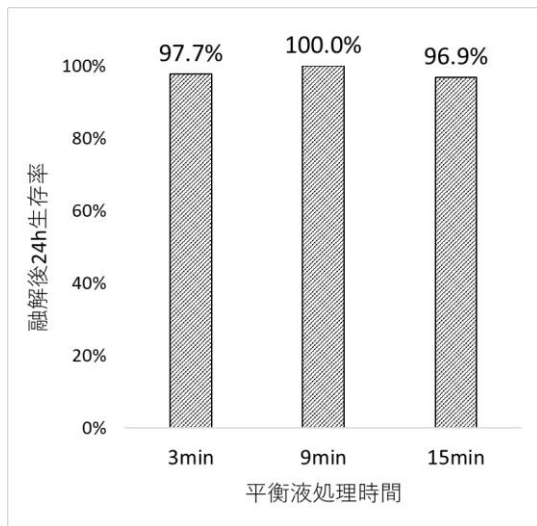


図 1. 各平衡液処理時間の融解後 24h 生存率

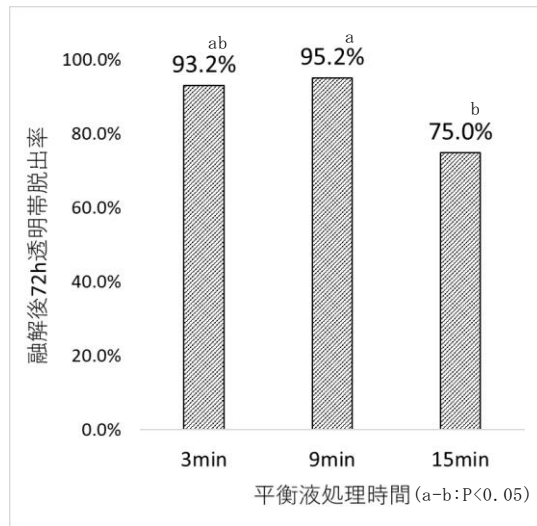


図 2. 各平衡液処理時間の融解後 72h 透明帯脱出率

[その他]

研究課題名：牛体外受精卵の高度生産技術の確立

予算区分：県単（重点化）

研究期間：2018～2020 年度

研究担当者：田村洋次、白井雄介、辻乃莉美、菊島一人、神藤学