

8 ウシバイオプシー胚の超低温保存法と受胎性

ねらいと成果

受精卵移植技術の進歩とPCR技術の普及により、ウシの雌雄産み分けが可能になった。バイオプシーによる雌雄判別後の新鮮胚移植では約50%の受胎率があり、実用可能な段階になっている。しかし、胚の凍結方法として現在広く普及しているダイレクト法では、バイオプシーによって胚の一部に損傷を受けた雌雄判別胚では、十分な受胎率が得られていない。そのため、バイオプシー胚の凍結方法として、凍結傷害がより少ないガラス化保存法及び、それを改良した超急速ガラス化法が開発された。そこで、ガラス化保存法の一つとして普及しているVSEDガラス化保存法（VSED法）と、当センターで開発したゲル・ローディング・チップ超急速ガラス化保存法（GL-Tip法）を用いて、融解後バイオプシー胚の生存性および受胎性を調査し、バイオプシー胚に適した凍結方法を検討した。その結果、GL-Tip法はVSED法よりも受胎率が高く、新鮮胚移植と同程度の受胎率が得られたことから、バイオプシー胚の凍結方法として適していると考えられる。

内容

人工授精を0日として、6.5～8日に生体より回収された胚のうち、A、A'、Bランク胚を試験に供した。ガラス化および加温方法はVSED法とGL-Tip法（図）を用いた。VSED法は0.25mlのストローを直接、GL-Tip法ではチップを保存用の鞘に入れ液体窒素タンク中に保存した。融解後の胚は培養液中で短時間培養後、胚の形態とランクを調査し、胚の形態の正常なものを移植に供した。

その結果、融解後の生存胚率は、GL-Tip区に比べてVSED区が高く、紛失胚数も少なかったが、移植成績では、GL-Tip区がVSED区よりも受胎率が高く、新鮮胚移植と同程度であった（表1）。採胚日と受胎率

の関係では、両区とも7.0日目回収胚の受胎率が高い傾向がみられ、VSED区では8日目回収胚の受胎率が低く、GL-Tip区でも低い傾向であった（表2）。

以上の結果からバイオプシー胚の凍結では、7.0日目回収胚をGL-Tip法で超急速ガラス化することにより高い受胎率が期待できることが明らかになった。

普及上の注意事項

簡易化を優先させるために必要な手順を省くことは、受胎率を低下させる原因になるので行ってはいけない。

岩木 史之（部長（生工））

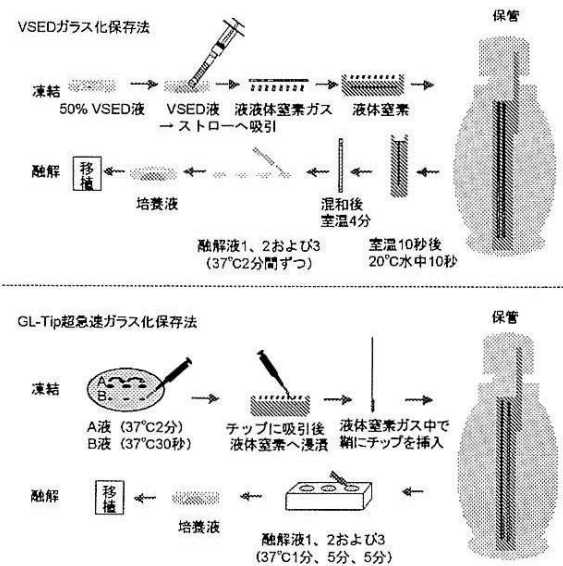


図 胚の凍結および融解方法

表1 融解後バイオプシー胚の生存性および移植成績

区分	融解胚数	生存胚数	死滅胚数	無胚	紛失破損	生存胚率(%)	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
VSED区	350	330	11	3	6	96.8	320	119	37.2 ^b
GL-Tip区	151	138	6	2	5	95.8	130	61	46.9 ^{ab}
新鮮胚							142	73	51.4 ^a

^{a, b} 異符号間に有意差：(P<0.05)

表2 採胚日と受胎率

採胚日	区分	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
6.5	V	67	23	34.3 ^b
	G	40	17	42.5 ^b
7.0	V	155	64	41.2 ^b
	G	60	37	61.6 ^a
7.5	V	63	23	36.5 ^b
	G	21	5	23.8 ^b
8.0	V	35	9	25.7 ^b
	G	9	2	22.2 ^b

V:VSED区、 G:GL-Tip区

^{a, b} 異符号間に有意差：(P<0.05)