

## 〔技術のページ〕

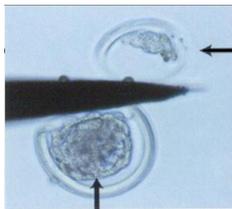
# 受精卵の新しい凍結方法とその有用性について

(クライオトップを用いた超急速ガラス化保存法の庭先融解の可能性)

岡山県総合畜産センター 大家畜部受精卵供給科 小田原 春菜

受精卵移植技術のメリットは高能力牛の産子を多数確保できる、受卵牛を効率的に活用できるなど様々ありますが、希望の性の子牛が得られると言うのは、特に乳牛において重要なのではないのでしょうか。

総合畜産センターでは、酪農家さんの牛を採卵して持ち込んでもらった受精卵の性判別や、センター繫養エリート牛の性判別受精卵の販売を行っています。



性判別用サンプル

移植用受精卵

また、採卵で多くの受精卵が採れた場合や受卵牛が揃わなかった場合などには受精卵を凍結保存する必要があります。

しかし、凍結するにあたり、性判別卵の場合、受精卵の一部を切断（カット）しているため、凍結時のダメージを少なくし、新鮮卵に近い受胎率を確保したいところです。

このように、受胎率が高い凍結技術の開発が望まれている中、総合畜産センターでは、新しい凍結方法とその融解方法の研究を行っているため、その概要を紹介します。

### 1. 新しい凍結技術

近年、融解後の受精卵の生存率が高い凍結方法としてクライオトップを用いた超急速ガラス化法と言う技術が開発されてきました。この超急速ガラス化法とは、図1のようなクライオトップと言われる道具を用いて凍結する方法です。



図1 クライオトップ

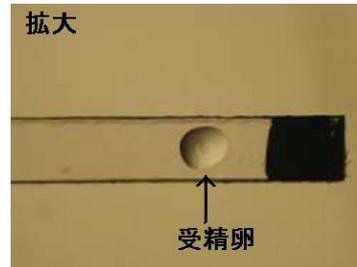


図2 クライオトップ先端

クライオトップの先端は図2のようにシート状になっていて、そのシート上に最小量のガラス化液（耐凍剤を含む凍結用の液）とともに受精卵を乗せ、液体窒素にそのまま漬けてキャップをして保存します。この方法では受精卵の周りの液量が少ないため、冷却速度が速くなり、従来のストロー内に受精卵を詰めて凍結する方法（ガラス化法）に比べて生存性が高いと言われています。特に、性判別した受精卵は、凍結ダメージの少ないこの超急速ガラス化法が向いていると考えられます。

しかし、この方法の欠点は図3のようにシャーレ内融解が一般的で、実験室での作業が必要なことです。このため、農家の庭先で融解して直接移植することが難しく、利便性に欠け、生存性は高いにもかかわらず普及が進んでいない現状にあります。



図3 従来の融解方法（シャーレ内融解）

## 2. センターでの取り組み

そこで、私たちは、超急速ガラス化法で凍結した受精卵の庭先融解法の可能性について次のように検討しました。

### ○試験方法 1

図4のように移植用ストローに融解液を充填し、受精卵が融解液に浸かるようにクライオトップを挿入し、融解しました。

受精卵には性判別卵を用いました。



図4 庭先融解法

移植の際には、この融解液中に受精卵が数分間保持されることになるので、融解液が受精卵の生存性に与える影響を調査するため、ストロー内の融解液中に受精卵を5分、15分または30分間保持した後、ストローから取り出し、培養してその生存性を比較しました。

### ○試験結果 1

3区間の生存率に有意な差は認められず、融解から30分以内に受精卵をストローから取り出せば、生存性に影響がないことが分かりました(表1)。

表1 融解液中の保持時間と生存性

試験区	融解卵数	生存卵数	生存率
5分	29	23	79.3%
15分	29	26	89.7%
30分	30	24	80.0%

また、有意な差はないものの、15分区で最も生存性が高かったため、これを踏まえて試験2を行いました。

### ○試験方法 2

試験1と同様の方法で実際に庭先でストロー内融解し、生存を確認することなく、直接移植して、受胎率を調査しました。

受精卵には、性判別卵を、受卵牛にはホルスタイン種、未經産牛を用いました。

### ○試験結果 2

庭先融解・直接移植では受胎率60.0%という結果が得られました。従来のように実験室でシャーレ内融解し、生存を確認後、移植した場合は受胎率66.7%、実験室内でストロー内融解し、一度取り出して、生存を確認後、移植した場合、受胎率56.3%でした。

表2 移植成績

移植方法	移植頭数	受胎頭数	受胎率
直接移植	20	12	60.0%
実験室内融解			
シャーレ内融解	15	10	66.7%
ストロー内融解	16	9	56.3%

これらの結果から、従来のシャーレ内融解の方が若干受胎率は高いものの有意な差はなく、直接移植でも従来の方法と同等の成績が得られ、庭先融解・直接移植が可能であることが伺えました。

## 3. 今後の課題

超急速ガラス化法の庭先融解・直接移植がフィールドで可能となれば、従来のように実験室内で融解する煩雑さもなくなり、普及につながると考えられます。

また、今まで直接移植していたダイレクト法に置き変われば、受胎率の向上が期待できるかもしれません。

今後は、直接移植頭数を増やし、受胎率・流産率なども検討していきたいと考えています。