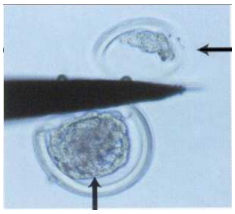
〔技術のページ〕
ガラス化保存した性判別受精卵の直接移植について

岡山県農林水産総合センター畜産研究所
改良技術研究室　　中原　仁



近年、性判別受精卵の利用は、牛群改良の効率化並びに計画的な後継牛生産につながる技術として普及が進んできています。岡山県でも県下全体で移植される乳用牛受精卵の70%程度が性判別された雌受精卵で占められるまでになっており、性判別卵の需要が高まっています。

畜産研究所でも、酪農家のみなさんの要望に応えるため採卵して持ち込んでもらった受精卵の性判別や、センター繋養エリート牛の性判別雌受精卵の販売を積極的に推進しています。

しかし、性判別受精卵は上の写真のように性を判定するため２つに切断しているので凍結保存が難しく、通常の凍結方法とは異なるガラス化法で凍結されているのが現状です。ひとつにガラス化法と言っても様々な方法がありますが、畜産研究所ではクライオトップを用いたガラス化法が性判別受精卵の凍結に適していることを見出しましたのでこの方法を用いた試験に取り組んでいます。

そこで、クライオトップ法の特徴とその移植方法について研究を行っているので、その概要を紹介します。

１．クライオトップ法の特徴

クライオトップを用いたガラス化法は、図１のようなクライオトップと言われる特殊な道具を用いて凍結する方法で、一般的に受精卵の保存に利用されているストローを用いないのが特徴です。

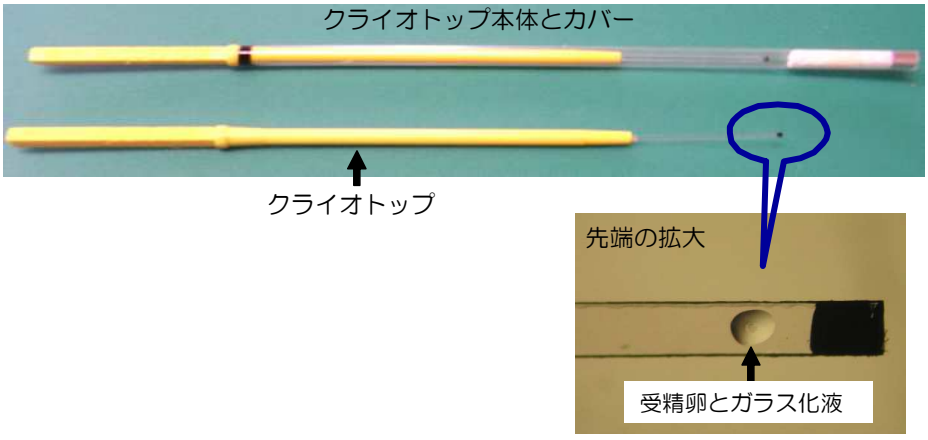


図１　クライオトップ

クライオトップの先端は図１のようにシート状になっていて、その上に最小量のガラス化液（高濃度の耐凍剤を含む溶液）とともに受精卵を乗せ、液体窒素にそのまま漬けて凍結保存し

ます。この方法では直接液体窒素に投入するため、冷却速度が速く、従来のストローを用いて凍結する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、凍結によるダメージを受けやすい性判別や体外受精した受精卵に適した凍結方法であると言えます。

図２　シャーレ内での融解方法

しかし、この方法は移植に必要なストローを用いないため図２のようにシャーレ内で一度融解し、ストローに詰め直す作業が必要なため、農家の庭先で直接移植することが難しく、利便性に欠けている点が問題とされています。このため、生存性が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。

２．直接移植法の検討

そこで、私たちは、クライオトップを用いてガラス化保存した性判別受精卵の利便性を高めるため、庭先融解・直接移植の方法を検討しました。

１）希釈時間の検討

これまで実験室内で融解する場合には、図２のように38℃の融解液中で最低５分間浸漬すると高い生存性が得られると言われていました。しかし、外気温の影響を受けやすい庭先で融解する場合、５分間38℃の温湯を維持し続けることは非常に困難です。そこで、外気温による温度の影響を少なくするため融解液に浸漬する時間を短くした場合の生存性を調査しました。

図３　庭先融解法

融解方法は、庭先での融解を想定して図３のようにストロー内の融解液中にクライオトップを挿入し保持する方法で行った後、ストローから受精卵を取り出し、培養しました。

その結果、融解液へ浸漬する時間を30秒にまで短縮しても受精卵の生存性には影響がないことがわかりました（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分区	36	30	83.3%
2分区	38	33	86.8%
30秒区	37	32	86.5%

２）直接移植による受胎性

１）の試験結果を参考に図４のような小型の魔法瓶を用いて実際に庭先で 30 秒間ストロー内融解し、生存を確認することなく、直接移植を実施し受胎性を調査しました。

その結果、この方法による直接移植での受胎率は 71.4%でした。従来のように実験室で融解し、生存を確認後、移植した場合の受胎率は 58.6%、性判別受精卵の新鮮卵移植による受胎率は 62.6%であり、いずれの移植方法においても安定した受胎率が得られることがわかりました。このことから、クライオトップを用いてガラス化保存した性判別受精卵の直接移植が可能となりました。

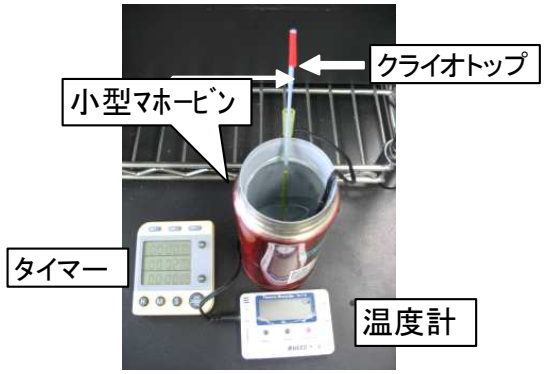


図４　小型の魔法瓶での融解方法

表２　移植成績　　頭、%

移植方法	移植頭数	受胎頭数	受胎率
直接移植	21	15	71.4
実験室内融解	29	17	58.6
新鮮卵移植	107	67	62.6

３．今後の方向性

ガラス化法の庭先融解・直接移植は、通常のダイレクト法と異なる融解手順となるため、今後は融解マニュアルを作成してフィールドでの普及につなげていきたいと考えています。

性判別受精卵の直接移植が可能となれば利便性が向上し、性判別受精卵の普及促進につながることを期待しています。