

## **[成果情報名]アシストハッチング(AHA)処理による凍結受精卵の孵化促進技術**

**[要約]**受精卵を凍結する前に透明帯をあらかじめ切開しておくことで、融解後の受精卵の孵化率を向上させることができる。

**[担当]**酪農試・乳肉用牛科・神藤 学

**[分類]**技術・参考

---

### **[課題の要請元]**

畜産課・部門別農業代表者

### **[背景・ねらい]**

受精卵の凍結保存後の受胎性を向上させるため、透明帯の切開により受精卵の孵化着床を補助するアシストハッチング（AHA）処理技術について検討する。

### **[成果の内容・特徴]**

1. 体外受精胚の凍結融解後の孵化率（透明帯脱出胚/生存胚）は透明帯を切開しない無処理区で 28.6%であるが、透明帯を切開することで孵化率は 70.4%（スリット切開区）および 66.0%（十字切開区）となり、孵化率を大きく向上させることができる（表 1）。
2. 切開方法（開口面積）の違いによる孵化率に有意な差はみられず、1 カ所切開するだけの簡易なスリット切開法でも、十分な孵化促進効果を得ることができる（表 1、図 1）。

### **[成果の活用上の留意点]**

1. 透明帯の切開は、受精卵を緩慢凍結法（耐凍剤：1.8M エチレングリコールおよび 0.1M シュウクロース）で凍結を行う前に実施する。
2. 透明帯の切開は、マイクロピペット（ホールド型とニードル型）を用い、マイクロマニピュレーター操作により切開する（図 1）。
3. 孵化に有効な開口面積を確保するため、スリット切開法では透明帯外周の 1/3～1/4 を 1 カ所切開し、十字切開法では切り口を 90 度重ねて 2 カ所切開する（図 2）。

### **[期待される効果]**

1. AHA 処理により、一般的な緩慢凍結-ダイレクト移植法では受胎率が低いといわれる体外受精胚の受胎率の向上が期待できる。
2. 同様に、受胎率が低いため凍結利用が難しかった体内受精の低ランク胚にも AHA 処理技術を応用することで、受胎率の向上が期待できる。
3. AHA 処理を施した受精卵のフィールド段階での受胎率を検証し、有効性が確認されれば、酪農試験場から県内供給している受精卵の生産技術として活用が期待できる。

[具体的データ]

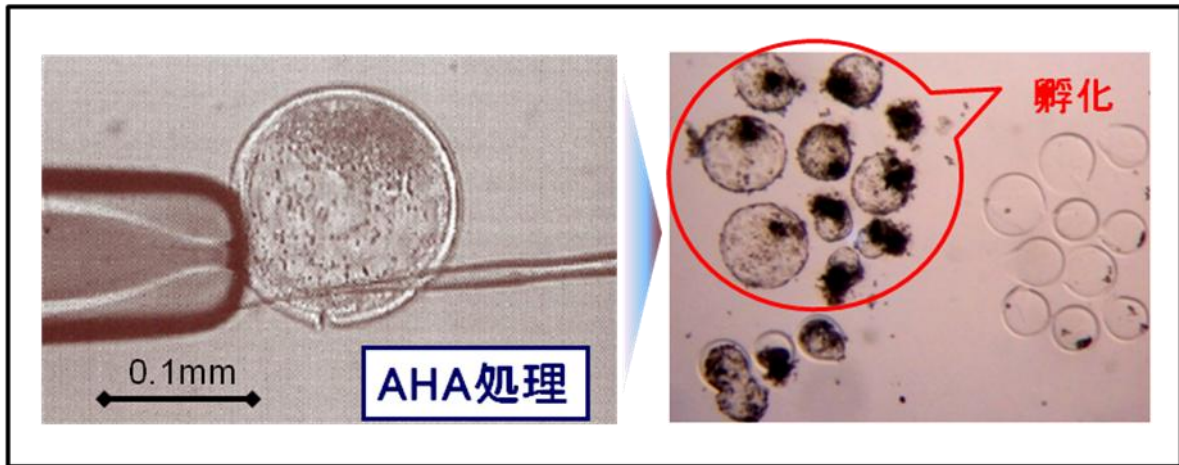


図1. 透明帯切開(AHA)処理による凍結受精卵の孵化促進技術

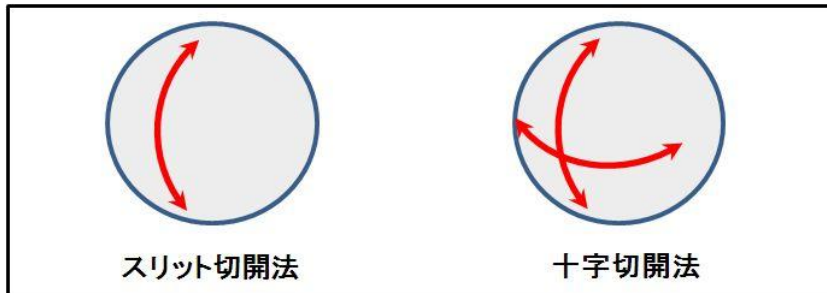


図2. 透明帯の切開方法

表1. 透明帯切開した受精卵(体外受精胚)の凍結保存後の生存率と孵化率

	供試 胚数	生存 胚数 (24h)	脱出 胚数 (72h)	生存胚率 (%)	生存胚あたりの 脱出胚率[孵化率] (%)
無処理区	58	42	12	72.4 a*	28.6 A**
スリット切開区	58	54	38	93.1 b	70.4 B
十字切開区	58	50	33	86.2 ab	66.0 B

供試胚: 当场慣行法による体外受精胚を使用  
凍結法: 1.8Mエチレングリコール+0.1Mシュクロースを用いた緩慢凍結

\* ab異符号間に5%水準で有意差あり  
\*\* AB異符号間に1%水準で有意差あり

[その他]

研究課題名: 牛受精卵の生産効率の改善と低品質卵の活用技術の確立

予算区分: 県単 (重点化)

研究期間: 2012~2014 年度

研究担当者: 神藤 学、土橋宏司、鈴木希伊