

[成果情報名]超急速ガラス化保存した受精卵の直接移植技術

[要約]新たに開発したガラス化器具とストローを用いることで、超急速ガラス化保存した受精卵でもストロー内に封入して保存し、そのまま温湯で融解希釈して直接移植できる。

[担当]山梨県畜産酪農技術センター・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]

超急速ガラス化保存法は高い生存性や受胎率が報告されているが、融解や耐凍剤の希釈作業を顕微鏡下で行う必要があるため、農家現場では利用が難しい。そこで、超急速ガラス化保存した受精卵を、ガラス化器具ごとあらかじめ希釈液と一緒にストロー内に封入して保存・融解希釈・直接移植する技術を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 開発した器具の特徴

- (1) ガラス化器具の構造: ストロー(受精卵凍結移植用 PVC 製 0.25ml)を加熱引延した支持体を作成し、先端部にクライオループ(極少量のガラス化液と受精卵を保持する部品)を取り付け、中間部にステンレス管をはめた構造とする(図1)。
- (2) ステンレス管: 液体窒素で保管中に浮き上がり防止用のオモリ(図3-④)及びストロー開封時にガラス化器具を切断防止するガード(図4-②)として機能する。
- (3) ストローの構造: 開口部方向のストロー先端側壁にシリコンチューブをはめた脱気孔を設ける。また、ガラス化器具を収容する開口部側の空気層に加え、従来の凍結法よりも空気層の数や容積を増やして希釈液を充填する(図2)。
- (4) シリコンチューブ: 脱気孔にはめたシリコンチューブが圧力弁(図4-①)として機能するため、冷却保存時は密封を保ち、加温融解時は内部圧力を放出する。

2. ガラス化保存方法

- (1) ストローを冷却すると空気層が収縮し、希釈液が綿栓部へ移動する(図3-①)。
- (2) ガラス化器具は、受精卵のガラス化後(図3-②)にストロー内へ挿入し、支持体の末端部とストローの開口部を熱シールすることで、ストロー内部に固定及び密封する(図3-③)。

3. 融解希釈・移植方法

- (1) ストローを38℃の温湯内に投入して加温すると空気層が膨張し、融解した希釈液層がガラス化器具側へ移動し、受精卵と混合する(図4-①)。
- (2) ガラス化器具を取り出すため、ステンレス管部でストローを切断し(図4-②)、そのまま移植器にセットして牛に移植する(図4-③)。

4. 本技術を用いて体外受精卵を超急速ガラス化保存およびストロー内融解しても、融解後の生存性は顕微鏡下での融解法と差はなく、従来のストローを使った凍結法と比べて良好な成績が得られる(図5)。

[成果の活用上の留意点]

開発したガラス化器具およびストローは、ハンドメイドによる試作品のため、各種の部品の精度や耐久性等について向上させる必要がある。

[期待される効果]

超急速ガラス化保存した受精卵でも農家で利用することが可能となり、体外受精卵等の従来の凍結法では受胎率が低いため、凍結利用が難しかった受精卵の活用が期待される。

[具体的データ]

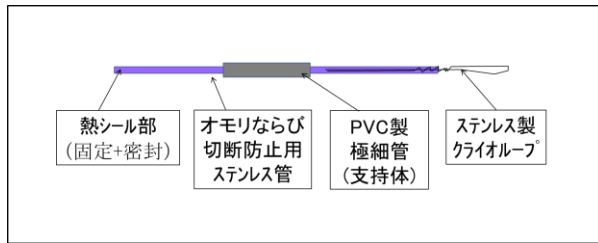


図1. 開発したガラス化器具の構造

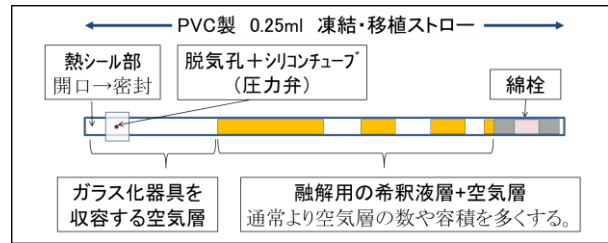


図2. 開発したストローの構造

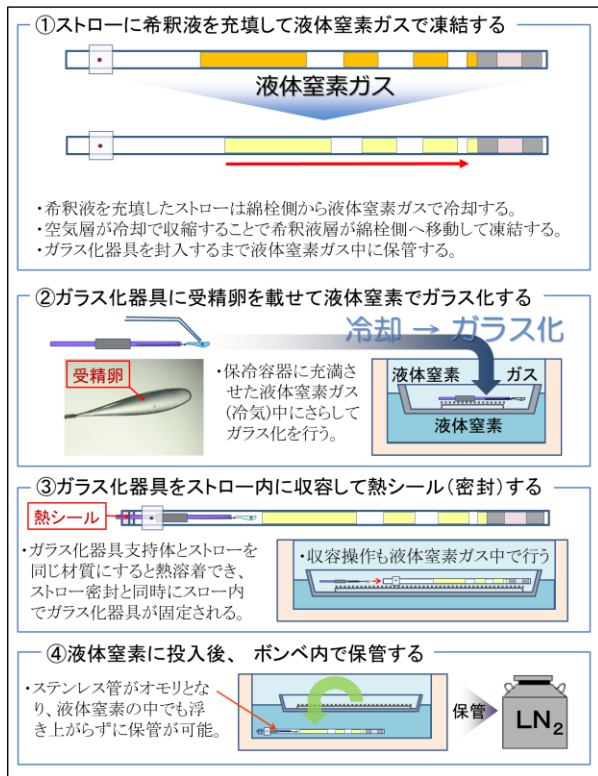


図3. 開発した器具のガラス化保存方法

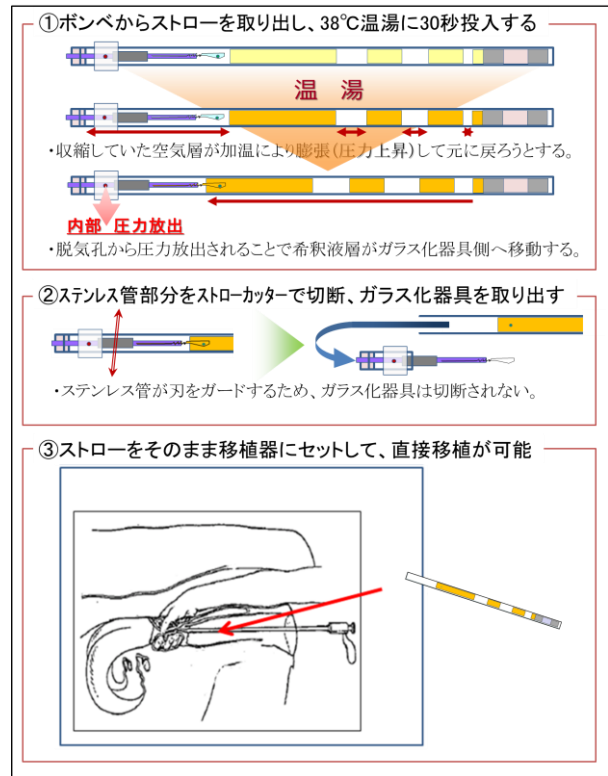


図4. 開発した器具の融解希釈・移植方法

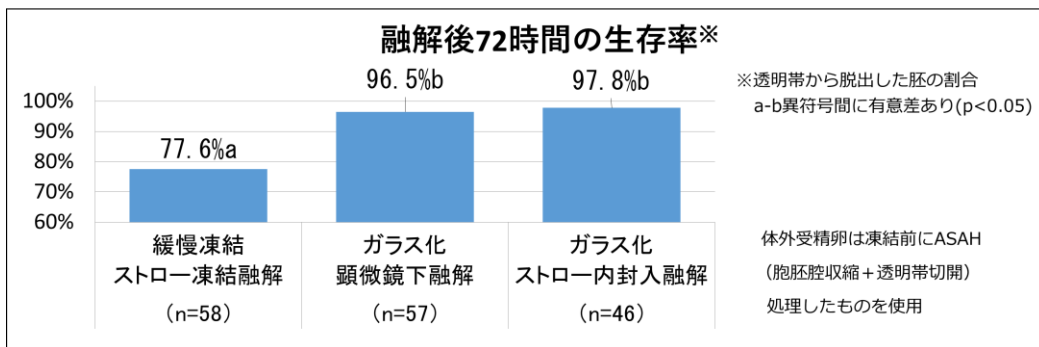


図5. 体外受精卵の凍結保存後の生存成績

[その他]

研究課題名：体外受精卵を活用した乳用牛の繁殖成績向上技術の確立

予算区分：県単（重点化）

研究期間：2015～2017年度

研究担当者：神藤 学、辻乃莉美、田村洋次、内田雄祐、土橋宏司

発表論文等：ガラス化した哺乳動物胚の保存および融解、希釈、移植用ストローとその使用方法・特許第 6734524 号(2020)