

通し番号	4 8 4 9
------	---------

分類番号	28-5C-21-22
------	-------------

牛胚凍結前にP糖蛋白質増強剤添加培地で培養すると移植後の受胎率が向上する

[要約] 胚細胞の生体防御や代謝機能を維持するP糖蛋白質増強剤を添加した培地で牛胚を培養し、凍結保存後に移植して受胎率に与える効果を検討する。体内生産胚を用いて、P糖蛋白質増強剤であるフォルスコリン、リファンピシンを添加した培養液で3～4時間培養後に凍結保存し、移植すると、有意差はないものの試験区で受胎率は62.5%と対照区(38.9%)と比較して高い数値である。

畜産技術センター・企画指導部・企画研究課

連絡先 046-238-4056

#### [背景・ねらい]

牛胚移植技術の受胎率はここ数年40%前後で推移し全国的に伸び悩んでいる。特に本県では凍結保存胚の移植が大部分を占めるため、凍結保存胚の受胎率向上が重要な課題と考えられる。近年、胚細胞の生体防御や代謝機能を担うP糖蛋白質の増強が、牛胚の凍結融解後の生存性を向上させることが報告されている。そこで、P糖蛋白質増強剤を添加した培地で前処理した牛胚を凍結保存し、生産現場で直接移植を行い、受胎率に与える効果を検討する。

#### [成果の内容・特徴]

- 1 黒毛和種牛に過剰排卵処理を行い人工授精後7日目に採取した体内生産胚を用いる。試験区の胚はP糖蛋白質増強剤添加培養液で3～4時間培養し、対照区の胚は採取後速やかに凍結保存する。
- 2 凍結保存は、培養後の胚を20%CSおよび10%グリセロールを含むHepes添加TCM199(平衡液)で15分間平衡し、平衡液に0.25Mスクロースを添加した凍結保存液に移して5分以内にストローに充填してプログラムフリーザーを用いて行う。ストロー内のカラムは4層とし、20%CS、0.25MスクロースおよびHepesを添加したTCM199(希釈液)で凍結保存液の層を挟む構成とする(図1)。黒毛和種牛に過剰排卵処理を行い人工授精後7日目に採取した体内生産胚を用いる。試験区の胚はP糖蛋白質増強剤添加培養液で3～4時間培養し、対照区の胚は採取後速やかに凍結保存する。
- 3 移植は、現場獣医師に依頼して、発情7日後に排卵側の卵巣に黄体を確認した生産者の所有する牛に行う。受胎牛の内訳は、ホルスタイン種経産牛が全体の78.6%である。
- 4 移植試験の受胎率は試験区で62.5%(5/8頭)と対照区の38.9%(7/18頭)より高い数値である。
- 5 H27～28年度の全体の移植試験の受胎率は試験区42.9%(9/21頭)と対照区(33.3% [16/48頭])より高い数値である。

[ 成果の活用面・留意点 ]

1 特になし。

[ 具体的データ ]

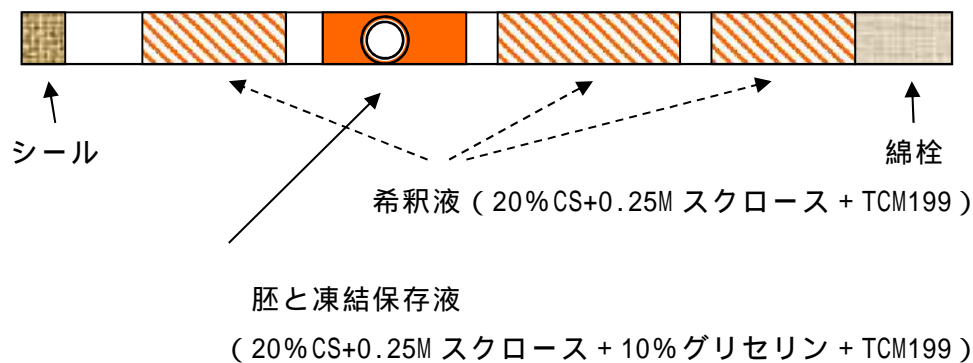


図 1 移植試験に用いたストローの構成

表 1 P 糖蛋白増強剤添加培地で培養後に凍結保存した胚の移植成績

区	年度	移植頭数	受胎頭数	不受胎頭数	受胎率 (%)
試験区	合計	21	9	12	42.9
	H27	13	4	9	30.8
	H28	8	5	3	62.5
対照区	合計	48	16	32	33.3
	H27	30	9	21	30.0
	H28	18	7	11	38.9

[ 資料名 ] 平成28年度試験研究成績書

[ 研究課題名 ] 受胎率向上に向けた胚移植技術の開発

[ 研究内容名 ] P 糖蛋白質増強による凍結に強い胚生産技術の開発

[ 研究期間 ] 平成 27 ~ 28 年度

[ 研究者担当名 ] 坂上信忠、山本和明、橋村慎二、折原健太郎