通し番号 48

4886

分類番号

29-5C-21-13

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5時 間培養後に凍結保存すると、有意差はないものの試験区で受胎率は42.1%と対照区 (36.7%)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。

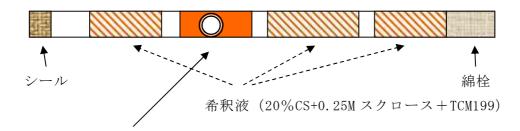
#### 「成果の内容・特徴〕

- 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糖蛋白増強剤添加培養液で5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 糖蛋白増強剤添加培養液で 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。受胚牛の内訳は、ホルスタイン種経産牛が全体の90.8% (148 頭/16 3 頭・3 年間の合計) である。
- 4 移植試験の受胎率は試験区で 42.1% (8/19 頭)と対照区の 36.7% (29/79 頭)より 高い数値である。試験区で産子が得られる(図2)。

#### 「成果の活用面・留意点]

1 特になし。

# [具体的データ]



胚と凍結保存液 (20%CS+0.25M スクロース+10% グリセリン+TCM199)

## 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	受胎頭数	不受胎頭	妊否不明	受胎率
		数		数		(%)
試験区(5時間区)	H29	1 9	8	1 1	0	42. 1
試験区(3時間区)	H27-8	6 5	1 9	4 6	0	29. 2
対照区(0時間区)	H27-8	7 9	2 9	5 0	0	36. 7



図2 試験区(5時間区)で生まれた産子

[資料名] 平成29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 27~29 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