

ガラス化保存の溶液を簡略化してもウシ胚は生存する

福島県農業総合センター 畜産研究所
平成19年度農業総合センター試験成績概要

1 部門名

畜産 - 肉用牛 - 畜産繁殖
分類コード 07-02-38000000

2 担当者

小林準

3 要旨

ウシ体内由来胚の超低温保存について、10%程度の耐凍剤を用いたダイレクト保存法は手技も簡単で最も普及しているが、専用の機械と有機溶媒が必要である。ガラス化保存法は胚の扱いに慣れない技術者では難しいが、液体窒素があればどこでも利用できる。今回、扱いやすい簡易的なガラス化保存・希釈用溶液について検討した。

- (1) 溶質にはエチレングリコール(EG)、シュクロース(Suc)、ポリエチレングリコール(PEG)、溶媒はm-PBSを用いた。
- (2) ガラス化保存液に50%EG液(50%EG + 0.1%PEG)、平衡処理用に25%EG液(25%EG + 0.1%PEG)、ストロー内希釈液にシュクロース液(0.3mol/l Suc + 0.1%PEG)を作成し、濾過滅菌して-20℃の冷凍庫で保存した。
- (3) 上記の溶液は、胚の保存時に融解してそのまま使用した。
- (4) ガラス化保存液にはIshimoriら⁽¹⁾が報告したVSED液(25%EG + 25%DMSO、基礎溶液0.4%BSA添加m-PBS)も用いた。胚の保存時には平衡処理用の50%VSED液を作成して使用した。
- (5) ガラス化胚を加温・ストロー内希釈後、培養を行った。平衡処理した場合、Bランク胚は50%EG液で発育胚率100%(11/11)、脱出胚率90.9%(10/11)、VSEDで発育胚率100%(5/5)、脱出胚率80%(4/5)であった。Cランク胚は50%EG液で発育胚率71.4%(5/7)、脱出胚率57.1%(3/7)であった。よって、シュクロース液は希釈液としても十分、使用に耐えるものと考えられた。
- (6) 平衡処理を省略した場合、Bランク胚で発育胚率90%(9/10)、脱出胚率80%(8/10)、Cランク胚で発育胚率・脱出胚率ともに37.5%(3/8)であった。最終濃度の溶液に投入可能であれば胚は生存することがわかったが、発育にかかった時間は平衡処理したものに劣る結果であった。

4 その他の資料等

- (1) H.Ishimori,Y.Miki,M.Kishi,K.Saeki,N.Seike and H.Kainuma: VITRIFICATION OF BOVINE EMBRYOS.THERIOGENOLOGY,37,228 (1992).