

直接移植が可能な性判別凍結卵の開発

太田久由

(畜産技術科)

【要 約】 バイオプシー卵のガラス化保存後の生存性は、希釈法の違いによる差はみられなかった。Aランク卵率は希釈液1を用いると従来法よりも良好な成績が得られる。

【目 的】

性判別のために卵細胞の一部を切り取った受精卵（バイオプシー卵）の長期保存は、ガラス化法が改良され、生存率が向上しつつある。そこで昨年度までの共同試験で有効性が認められたガラス化保存液と手法を用い、今年度はガラス化保存後の希釈処理液について比較検討する。また、ガラス化保存→希釈処理の手法を従来の緩慢凍結保存と比較し、その有効性について明らかにする。

【方 法】

試験1：体外受精(F1種)後7および8日目の胚盤胞～拡張胚盤胞期の栄養膜細胞を10%程度切り取り、3～6時間培養後、胞胚腔の再形成が良好なものをを用いた。ガラス化保存後のバイオプシー卵は3種類の異なる希釈液（表1）を用いて定法により希釈した。

試験2：試験1で成績の良かったガラス化保存→希釈処理の手法を従来の緩慢凍結保存法と比較した。試験1、2ともに培養開始から24、48時間目の生存率と移植に適した卵率（Aランク卵率）について調査した。

【成果の概要】

- 1) 試験1：生存率は24時間目と48時間目ともにすべての希釈液において同率で、7日目の希釈液1が100% (24/24)、希釈液2が93.1% (27/29)、希釈液3が92.9% (26/28)であった。体外受精8日目は同様に100% (9/9)、100% (8/8)、83.3% (5/6)であった(図1)。希釈液1の7日目、8日目の生存率はともに100%でもっとも良好であったが、各希釈液間に有意差は認められなかった。Aランク卵率は体外受精7日目の培養24時間で78.6%～82.8%、培養48時間で86.2%～92.9%と各希釈液間に有意差は認められなかったが、すべての希釈液で48時間目にAランク卵率が高くなる傾向にあった。体外受精8日目は希釈液1のみ培養時間の延長により66.7%から100%に改善された(図2)。
- 2) 試験2：試験1でもっとも成績の良い希釈液1を用いた。生存率は体外受精7日目、8日目とも希釈液1を用いたガラス化保存が従来法よりも高くなる傾向にあったが、有意差は認められなかった(図3)。Aランク卵率も高い傾向にあり、体外受精8日目卵の培養48時間目において従来法50% (3/6)に対し、希釈液1が100% (9/9)で、有意差が認められた。
- 3) まとめ：バイオプシー卵保存後の生存性は、希釈液1が高い傾向にあるが有意差は見られない。Aランク卵率は体外受精8日目卵において希釈液1を用いることにより、従来法よりも有意に改善できる。

表 1 希积液組成

希积液 1	0.5M スクロース	20% 新生仔牛血清	ダルベッコ PBS	供試卵数 33	
希积液 2	0.5M スクロース	5% エチレンジグリコール	20% 新生仔牛血清	ダルベッコ PBS	供試卵数 37
希积液 3	0.25M スクロース	5% エチレンジグリコール	20% 新生仔牛血清	ダルベッコ PBS	供試卵数 34

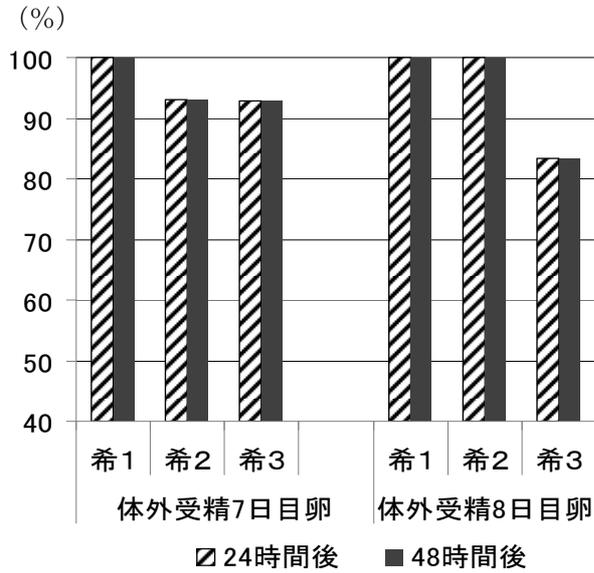


図 1 培養 48 時間までの生存率

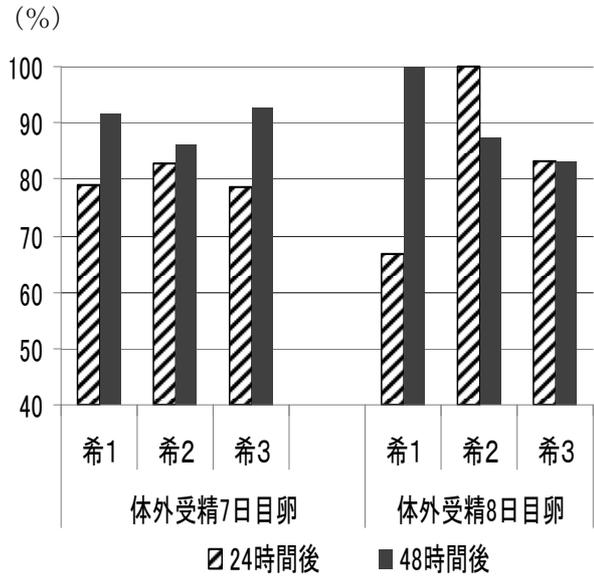


図 2 培養 48 時間までの A ランク卵率

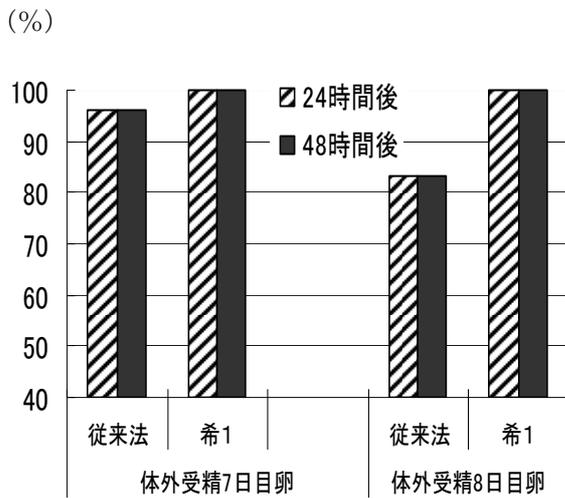


図 3 従来法とガラス化 (希积液 1) の培養 48 時間までの生存率

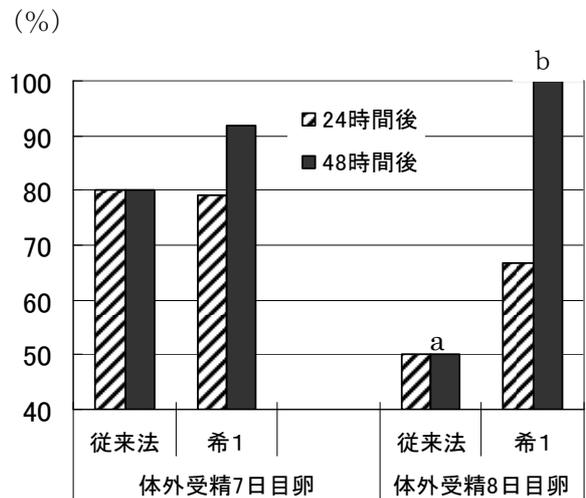


図 4 従来法とガラス化 (希积液 1) の培養 48 時間までの A ランク卵率

a,b 異符号間に有意差あり (P < 0.05)

希 1 … 希积液 1 希 2 … 希积液 2 希 3 … 希积液 3