

[成果情報名] ガラス化保存胚をダイレクト移植できる新たな胚保存・融解器具

[要約] 受胎率の高いガラス化保存胚をダイレクト移植できる、新たな胚保存・融解器具を開発する。開発器具により、市販のガラス化保存器具と同等の胚生存率と移植受胎率（60%以上）を実現する。

[キーワード] ガラス化、ダイレクト移植、体外受精、融解器具

[担当] 育種繁殖研究部

[代表連絡先] 電話 0824-74-0332

[研究所名] 広島県立総合技術研究所畜産技術センター

[分類] 普及成果情報

[背景・ねらい]

広島県では、和牛胚を乳用牛に1,500個移植することによる900頭の和牛生産を目標とし、胚移植での受胎率60%以上の達成と民間移植師による胚移植の県内普及を推進している。ガラス化保存法は緩慢凍結法に比べて高い受胎率が期待できるが、融解後に顕微鏡下でストローに詰め替える必要があり、畜産農家の庭先でダイレクト移植できない課題がある。そこで、ガラス化保存胚を畜産農家の庭先で移植可能な保存・融解器具を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. ストロー内にガラス化胚と融解液を封入し、ガラス化胚が位置するストロー周囲に保冷器を装着する器具を開発する。本器具により、融解液加温中も胚のガラス化状態が維持でき、加温した融解液にガラス化胚を押込むことで急速な融解が可能である（図1）。
2. 融解時にガラス化胚の生存性を高く維持するには、急速に加温する必要がある。ストロー内融解液を十分な温度（35℃）まで温めるには15秒必要であることから、胚の保冷状態を15秒以上維持できる機能が必要である。保冷器に液体窒素を貯留する構造にすることで、-196℃を35秒間維持できる。また、35℃まで加温した融解液に胚載置部を押し込んでガラス化胚を浸漬することにより、胚を急速に融解できる（図2）。
3. 開発器具を用いて体外受精胚のガラス化保存・ストロー内融解試験を実施し、融解後の胚の生存率を緩慢凍結法（0.9Mエチレングリコール、0.8Mプロピレングリコール及び0.1Mスクロース）及び市販のガラス化保存器具（クライオトップ）による方法と比較すると、培養24時間後の生存率は、開発器具が緩慢凍結した胚よりも有意に高く（96.3% vs 84.3%）、融解胚の総細胞数は多い（136.4個 vs 116.5）。市販のガラス化器具とは、生存率および細胞数ともに同等の成績である（表1）。
4. 試作器具を用いて保存した体外受精胚（和牛胚）をホルスタイン種未経産牛へ移植する。開発当初の保冷効果が低い試作器1および2では受胎率が低いが、保冷効果を高めた開発器具では受胎率60%（9頭受胎/15頭移植）を達成している（表2）。

[普及のための参考情報]

1. 普及対象：胚生産者、獣医師、胚移植師および酪農家・和牛繁殖農家
2. 普及予定地域・普及予定面積・普及台数等：全国の胚生産団体などへの普及を目指す。国内10万件/年の胚移植のうち、10%シェアの1万件/年の普及と年間30億円の経済効果を見込む。2019年2月からミサワ医科工業株式会社が製品「ビトラン-7」（税込770円）および融解器具「ストローハンガー」（税込1,320円）（図1）を販売している。
3. その他：大規模酪農家においてビトラン-7、緩慢凍結およびクライオトップを用いた100頭規模の移植試験を実施しており、受胎率は47.7%（ビトラン-7）、31.0%（緩慢凍結）および59.3%（クライオトップ）である。また、融解作業を図解で分かりやすく示した「ビトラン-7融解マニュアル」を作成している。

[具体的データ]

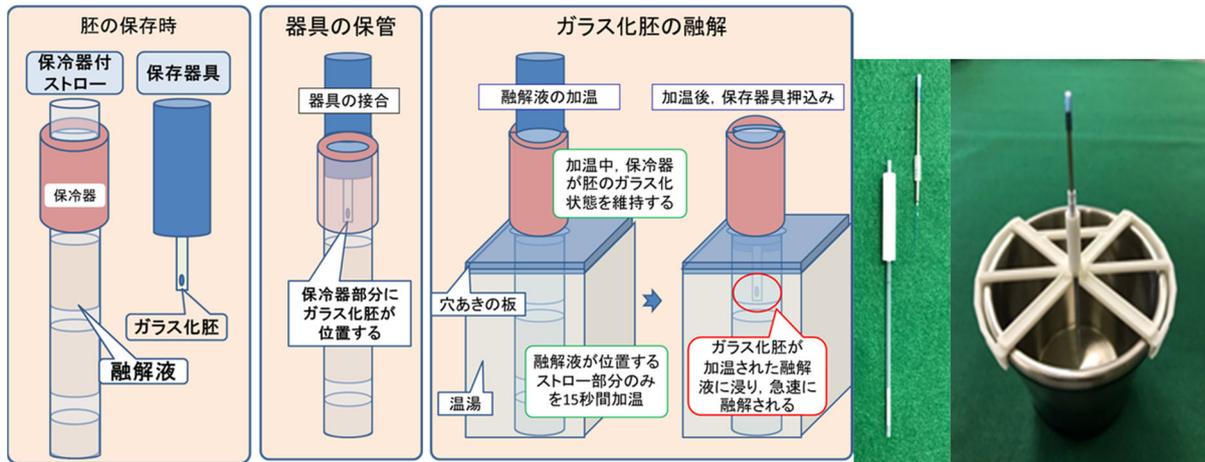


図1 ビトラン-7の模式図とストローハンガー

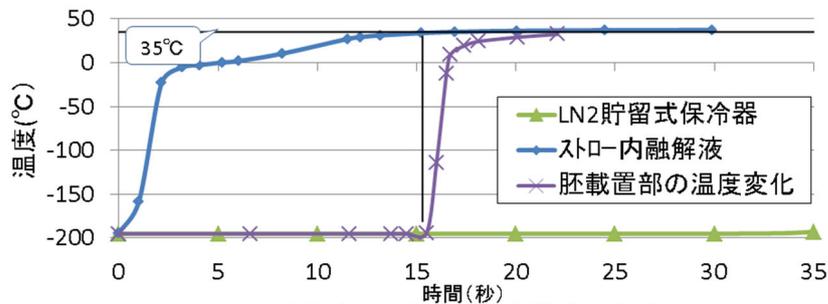


図2 融解液温度および保冷器内温度変化

表1 保存・融解した胚の培養後の生存性と培養24時間後の総細胞数

	供試胚数	生存数 (%)		孵化数 (%)	細胞 カウント胚	総細胞数
		24h後	48h後	48h後		
ビトラン -7	54	52 ^a (96.3)	50 (92.6)	34 (68.0)	25	136.4 ± 5.8 ^a
クライオ トップ	63	61 ^a (96.8)	59 (93.7)	38 (64.4)	18	132.1 ± 4.8 ^a
緩慢凍結	121	102 ^b (84.3)			70	116.5 ± 5.0 ^b

^{ab} 異符号間に有意差あり (p<0.05)

表2 器具を用いた保存胚の移植試験

使用器具	保冷効果 (-196°C維持時間)	移植 頭数	受胎 頭数	受胎率
試作器1 (開発初期)	6秒	11	0	0%
試作器2 (改良形)	16秒	12	2	16.7%
ビトラン-7	35秒	15	9	60.0%
クライオトップ		12	7	58.3%

(日高健雅、福本豊)

[その他]

予算区分：県単

研究期間：：2014～2017年度

研究担当者：日高健雅、福本豊、今井昭、森本和秀

発表論文等：日高ら「ガラス化保存された生殖細胞の融解用器具および融解方法」特許第6238186号(2017年11月10日)