

生存性の高い牛受精卵の凍結技術

1 はじめに

優良な後継牛作りに受精卵の凍結・移植技術はきわめて重要です。受精卵の品質は凍結方法（凍結保護剤の有無や凍結速度）により影響を受けるため、より生存率の高い凍結方法が求められています。近年、従来型のアルコールを用いたフリーザーと比較して、小型で温度調節に優れたドライタイプフリーザーが開発され、これを用いた凍結方法が期待されています。

2 生存率が高く効率的な牛受精卵の凍結方法

そこで、受精卵の融解・移植時の作業が簡易なダイレクト法における、以下の3項目について比較検討しました。

- ・ 耐凍剤として使用するエチレングリコールの濃度（1.5M と 1.8M で比較）
- ・ 凍結保護剤として添加する 0.1M スクロースの有無
- ・ 冷却速度（ $-0.3^{\circ}\text{C}/\text{分}$ と $-0.6^{\circ}\text{C}/\text{分}$ で比較）

材料には牛体外受精卵を使用し、ドライタイプフリーザーを用いた凍結・融解試験を行い、24 時間後、48 時間後の生存率を調査しました。

試験の結果、耐凍剤として 1.8M エチレングリコール、凍結保護剤として 0.1M スクロースを使用し、 $-0.6^{\circ}\text{C}/\text{分}$ の速度で凍結することで、融解後の生存率を高く維持できると思われました（表 1）。

表 1 耐凍剤、凍結保護剤および冷却速度の違いによる凍結・融解試験成績

	区	供試卵数	生存数 (%)	
			24時間後	48時間後
エチレングリコール濃度	1.5M	17	11 (64.7)	10 (58.8)
	1.8M	16	11 (68.8)	11 (68.8)
スクロース添加	有	16	11 (68.8)	11 (68.8)
	無	20	14 (70.0)	14 (70.0)
冷却速度($^{\circ}\text{C}/\text{分}$)	-0.3	16	11 (68.8)	11 (68.8)
	-0.6	17	16 (94.1)	16 (94.1)

また、この条件で凍結した受精卵の方が、従来型のアルコールフリーザーを用いて凍結した受精卵よりも融解後 48 時間の生存率が約 10%高い結果となりました（表 2）。

これらのことから、生存率が高く効率的な凍結方法として、図 1 のような方法が考えられました。

表2 フリーザーの違いによる凍結・融解試験成績

フリーザー タイプ	凍結速度	供試卵数	生存数 (%)	
			24時間後	48時間後
アルコール タイプ	-0.3°C/分	56	38 (68)	28 (50)
	-0.6°C/分	55	41 (75)	33 (60)
ドライタイプ	-0.3°C/分	65	41 (63)	35 (54)
	-0.6°C/分	67	54 (81)	47 (70)

* 耐凍剤に1.8Mエチレングリコール、凍結保護剤に0.1Mスクロースを用いた結果

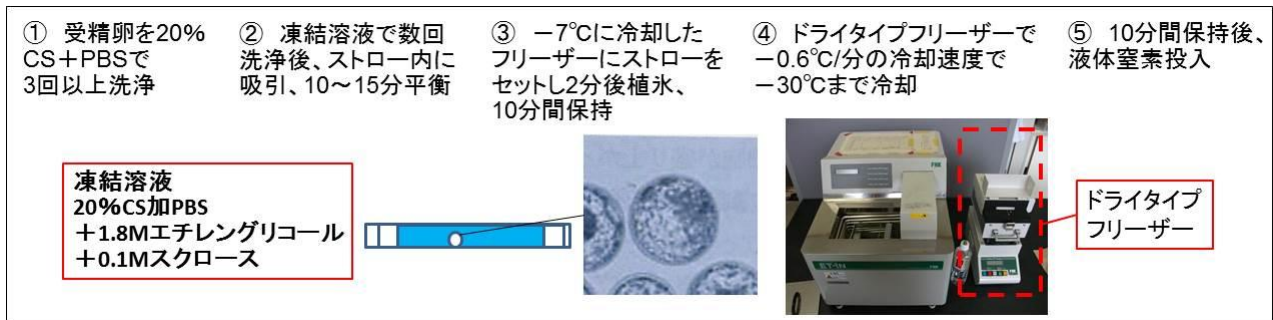


図1 凍結方法

3 技術の効果およびコスト

これまでは、凍結時の受精卵へのダメージを極力抑えるため、-0.3°C/分で冷却することが良いとされてきましたが、今回の試験では、48時間後の生存率は-0.6°C/分の方が高い結果となりました。この結果、受精卵移植による受胎率の向上が期待できます。更に、凍結にかかる時間を約40分短縮することができ、作業時間の効率化につながります。また、ドライタイプフリーザーは小型・軽量で持ち運びに便利なことから、農家の庭先などフリーザーのない現場での活用も可能です（図2）。



図2 技術の効果と活用のイメージ

(畜試 若狭牛ブランド化研究 G 堀川明彦)

[その他]

研究課題名：受精卵移植を活用した病気に強い乳牛の効率的な生産技術の確立

研究期間：2010～2013

研究担当者：堀川明彦・小林崇之・近藤守人