

研究レポート No.821 岩手県農業研究センター

パーコール濃度 15% の PBS 溶液による胚の品質評価

【1 成果の概要】

(1) パーコール濃度 15% の PBS 溶液を用い、比重を測定して品質を評価することで、凍結融解後の生存性が高い胚を選別することができます。

胚の評価方法

- ア パーコール濃度 15% の PBS 溶液を 3ml 小シャーレ (FALCON[35]1008) に入れる。
 イ 発育ステージが後期桑実胚から初期胚盤胞の Code 1 胚を溶液表面に静置する。
 ウ 3 分以内にシャーレ底面まで沈降したものをパーコール分画 15% 以上と判定する。
 エ 判定後の胚は PBS 等の保存液で洗浄後、凍結に供する。

(2) 発育ステージが収縮桑実胚から初期胚盤胞で、パーコール分画 15% 以上の Code 1 胚は、凍結融解後の生存率が 78.5%、凍結胚移植による受胎率は 88.9% とそれぞれ高くなりました (表 1, 2)。

表 1 Code 1 胚のパーコール分画別生存率

	≤11%	12%	13%	14%	15%≤	合計
収縮桑実胚～ 初期胚盤胞			2/3 (66.7)	4/6 (66.7)	11/14 (78.5)	17/23 (73.9)
胚盤胞～ 拡張胚盤胞	2/2 (100)	5/5 (100)	4/5 (80)	0/1 (0)	1/1 (100)	12/14 (85.7)
計	2/2 (100)	5/5 (100)	6/8 (75)	4/7 (57.1)	12/15 (80)	29/37 (78.4)

上段：生存胚数/供試胚数 下段：生存率 (%)

表 2 凍結胚移植成績

発育ステージ	収縮桑実胚～初期胚盤胞			胚盤胞～拡張胚盤胞			
	パーコール分画	移植頭数	受胎頭数	受胎率	移植頭数	受胎頭数	受胎率
15%≤		9	8	88.9 a	0	0	0
<15%		11	1	9.1 b	10	4	40.0
合計		20	9	45.0	10	4	40.0

*a, b 異符号間に有意差あり (P<0.05)

【2 留意事項】

- (1) パーコール濃度 15% の PBS 溶液は、パーコール (GE ヘルスケア・ジャパン) を生理食塩水で 90%(v/v) に希釈した溶液と D-PBS にヘパリン (0.5 単位/ml) と牛血清アルブミン (3mg/ml) を添加し濾過滅菌した溶液を 1:5 の割合で混合し、十分に転倒混和して作成します。
 (2) 凍結方法は 1.8M エチレングリコールと 0.1M シュークロスを耐凍剤としたダイレクト法としました。融解方法は液体窒素から取り出したストローを 8 秒間エアソーイング後、30℃ の微温湯に 20 秒浸漬して行います。

担当研究室 畜産研究所 家畜育種研究室

〒020-0605 滝沢市砂込 737-1 TEL. 019-688-7315 FAX. 019-688-4327