通し番号	４６３７

分類番号	24-57-21-27

凍結前に呼吸量が高い胚は、低い胚より受胎率が高い数値である

［要約］　呼吸量を測定した牛胚を､プログラムフリーザーを用いて凍結保存し、Code２の胚は､融解後に再度呼吸量を測定し５%炭酸ガス濃度下で培養し､胞胚腔の再形成により生存性を調査した。その結果、生存率は 71.4%で、その呼吸量（0.80）は、凍結保存前の呼吸量（0.98）と比較して有意に低かった。Code１の胚は、ホルスタイン種又は黒毛和種牛に直接移植を行ったところ､凍結保存前の呼吸量が 1.3 以上の胚の受胎率は 45.5%で、1.3 未満の胚の受胎率 32.0%と有意な差は認められないものの高い数値であった。

神奈川県農業技術センター・畜産技術所　　連絡先　046-238-4056

［背景・ねらい］

胚の品質を的確に評価することは、胚の選抜や移植後の受胎率の向上に極めて重要である。これまで呼吸量を指標とした胚の客観的な品質評価が可能であることが報告されているが、呼吸量を測定した胚を凍結保存し、融解後に移植し受胎性を検討した報告はない。そこで本試験では、胚の呼吸量を測定し、凍結融解後の生存性と受胎性を調査した。

［成果の内容・特徴］

1　黒毛和種牛から過剰排卵処理と人工授精後７日目に採取した胚盤胞（n=157）を用い、呼吸量（酸素消費量：$F\times10^{14}$ /mol s^{-1}）を呼吸量測定装置で測定した。呼吸量を測定した胚は、20%子牛血清、10%グリセロール含む Hepes 添加 TCM199（平衡液）で 15 分間平衡し、平衡液に 0.25M スクロースを添加した凍結液に移して５分以内にストローに充填してプログラムフリーザーを用いて凍結保存した。

2　試験１　国際胚移植学会の品質基準による Code２の胚（n=35）について、融解後に再度呼吸量を測定し､20%牛胎子血清および 0.1mM β メルカプトエタノール添加 TCM199 で 48 時間､５％炭酸ガス濃度下で培養し生存性を調査したところ､融解 48 時間後の生存率は 71.4%（25/35）で、その呼吸量（0.80±0.06）は､凍結保存前の呼吸量（0.98±0.06）と比較して有意に低かった(図１)。融解後に生存と判定した胚の融解直後の呼吸量（0.91±0.06）は、死滅と判定した胚の呼吸量（0.54±0.08）と比較して有意に高かった（表１）。

3　試験２　Code１の胚（n=122）を融解後に、発情後７～８日目のホルスタイン種又は黒毛和種牛に直接移植したところ､凍結保存前の呼吸量が 1.3 以上の胚の受胎率は 45.5%であり､1.3 未満の胚の受胎率 32.0%と比べて有意な差は認められないものの高い数値であった（図２）。

［具体的データ］

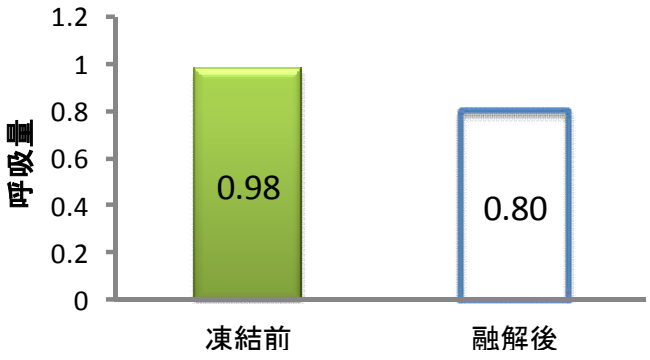

図１　Code２胚の凍結保存前後の呼吸量の比較

表１　Code２胚の凍結融解後の生死別呼吸量

融解後の生存性＊	胚数	融解直後の呼吸量（平均±標準誤差）
生　存　胚	２５	0.91±0.06 [a]
死　滅　胚	１０	0.54±0.08 [b]
合　　計	３５	0.80±0.06

[a,b]:異符号間に有意差あり（P<0.05）

＊：培養 48 時間後

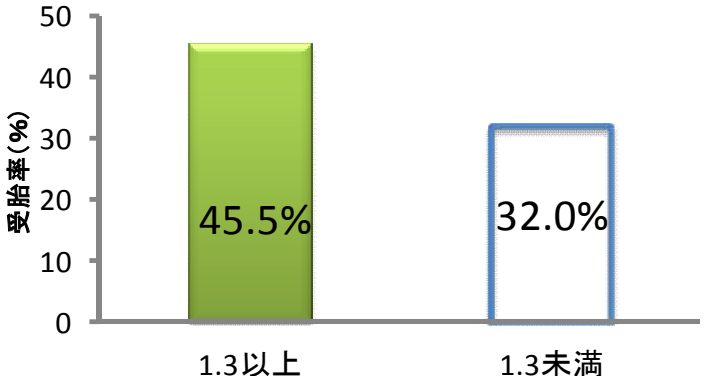

図２　呼吸量を測定した Code１胚の凍結保存後の受胎率

［資料名］　平成 24 年度　試験研究成績書

［研究課題名］　受胎率向上技術の開発

［研究期間］　平成 24 年度

［研究者担当名］　坂上信忠、秋山 清