

通し番号	4 2 7 3
------	---------

分類番号	18-57-22-15
------	-------------

(成果情報名) 胚の呼吸量を測定することで培養液や凍結方法を評価できる
[要約] 走査型電気化学顕微鏡を用い、牛胚の呼吸量を測ることで培養液や凍結液の評価について検討した。(1)上皮成長因子(EGF)を成熟培養液に100ng/ml 及び500ng/ml 添加した区と無添加の対照区で、発生した胚盤胞の呼吸量を比較したところ、EGF 添加区の発生率は対照区より高く、呼吸量も高い傾向にあった。(2)ダイレクトトランスファー法と、ガラス化法で胚の低温保存前と融解・加温後の呼吸量を比較したところ、融解・加温後の呼吸量は、ガラス化法が高く、生存細胞の割合もガラス化法の方が高かった。(3)胚の移植前の呼吸量と受胎率を調査したところ、平均値より高い呼吸量を示す胚の受胎率が、低い呼吸量の胚の受胎率を上回った。
(実施機関・部名) 神奈川県畜産技術センター 畜産工学部 連絡先 046-238-4056

[背景・ねらい]

牛胚の品質評価法は、主に細胞の色調、明るさ、細胞間の結合、変性細胞の割合等により行われているため、観察者の主観に依るところが大きく、客観的な品質評価法の確立が望まれている。そこで本研究では、体外受精由来胚を用いて(1)培養液の違いにおける呼吸量と発生率の関係を調査し、(2)2つの超低温保存方法を用いてその保存前、融解・加温後の呼吸量を比較することで凍結液の評価が可能か検討した。さらに昨年度に引き続き、体内受精由来胚を用いて(3)呼吸量と受胎率との関係について調査した。

[成果の内容・特徴]

- 1 上皮成長因子(EGF)を成熟培養液に100ng/ml 添加した区(EGF100区)及び500ng/ml 添加した区(EGF500区)と無添加の対照区で、発生した胚盤胞の呼吸量を比較したところ、EGF 100区、EGF500区の発生率は対照区より高く、呼吸量も高い傾向にあった(表1)。
- 2 細胞外に氷晶を形成する凍結方法であるダイレクトトランスファー法と、氷晶を形成しないガラス化法で胚の低温保存前と融解・加温後の呼吸量を比較したところ、融解・加温後の呼吸量は、ガラス化法が高く、生存細胞の割合もガラス化法の方が高かった(図1)。
- 3 胚の移植前の呼吸量と受胎率を調査したところ、平均値より高い呼吸量を示す胚の受胎率が、低い呼吸量の胚の受胎率を上回った(表2)。

[成果の活用面・留意点]

特になし

[具体的データ]

表1 各試験区における胚盤胞発生率と呼吸量の比較

	試行回数	分割率 (% ± SEM)	胚盤胞発生率 (% ± SEM)		7日目の呼吸量 (例数) (× 10 ⁻¹⁴ mol /s)
			7日目	8日目	
対照区	4	76.8 ± 3.6	23.1 ± 1.8	40.1 ± 4.0	0.80 ± 0.06 (21)
EGF100ng/mL	4	80.6 ± 7.4	30.5 ± 1.7 **	43.3 ± 5.8	1.00 ± 0.10 (24)
EGF500ng/mL	4	74.1 ± 8.8	30.5 ± 2.8	48.7 ± 3.9	1.60 ± 0.39 * (25)

** : 対照区と比較して有意差あり (P<0.05)

* : 対照区と比較して高い傾向 (P=0.07)

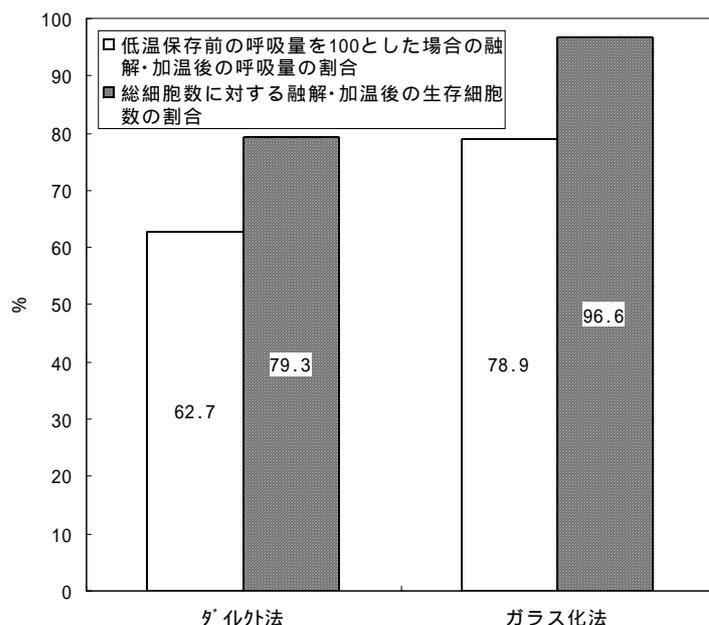


図1 ダルト法とガラス化法で低温保存した場合の保存前の呼吸量と融解・加温後の呼吸量と生存細胞数の比較

表2 発育ステージ毎の平均呼吸量で分類した胚の受胎率

発育ステージ	例数	基準呼吸量	受胎率 (%)	
			基準以下	基準以上
後期桑実胚	5	0.5	0/1(0)	1/4(25)
初期胚盤胞	9	0.7	0/3(0)	3/6(50)
胚盤胞	14	1.1	1/5(20)	6/9(67)

基準呼吸量 : H17年度試験における各ステージの平均値

[資料名] 平成18年度試験研究成績書(繁殖工学・乳牛・肉牛・飼料作物)

[研究課題名] 牛胚の呼吸量測定による培養液や凍結液の評価

[研究期間] 平成18年度

[研究者担当名] 坂上信忠・秋山 清・仲澤慶紀