

通し番号	4 1 9 2
------	---------

分類番号	17-57-22-09
------	-------------

(成果情報名) 呼吸量の測定により牛体内受精卵(胚)の客観的品質評価法が可能
<p>[要約] 顕微鏡下で胚の客観的な品質評価法を確立するために、電気化学顕微鏡を用いて牛体内受精胚の呼吸量の測定を行った。</p> <p>その結果、DAY7に採取した胚の呼吸量は発育段階が進み、品質ランクが高まるに応じて増加したことから、呼吸量は胚の品質判定の客観的評価法になりうると考えられた。さらに、凍結保存後の呼吸量を測定したところ、融解後に形態の良好な胚においても呼吸量が$1.0 \times 10^{-14} \text{mol s}^{-1}$以下のものでは融解48時間後の生存は認められなかった。また、呼吸量を測定した胚を受胎牛に移植したところ、呼吸量が$1.0 \times 10^{-14} \text{mol s}^{-1}$以上の胚の受胎率は、50% (2/4)であった。</p> <p>このことから、胚の呼吸量を測定することで胚を客観的に評価でき、呼吸量を指標として胚を選別することにより、受胎率が向上する可能性が示唆された。</p>
(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]

胚の品質評価は主に形態観察により行われるため、観察者の主観的判断によるものであるが、受胎率向上のためには胚の品質を正確に評価することが重要である。最近では電気化学顕微鏡(SECM)を用いることで牛胚の呼吸量を測定し、呼吸量を指標とした客観的評価が可能という報告があるが、体内受精胚の報告は少ない。そこで本研究では、1)SECMを用いて体内から採取した牛胚の呼吸量を測定し、2)呼吸量と形態学的評価との関連を調査し、さらに3)呼吸量と受胎率との関係を調査した。

[成果の内容・特徴]

- 1 胚の呼吸量は、胚に微小電極を近づけ、電極に -0.6V の電圧をかけ、測定液に溶解している酸素ガスが還元されて電子を放出する際と、微小電極を胚の近くから遠ざけて(約 $160\mu\text{m}$)電流値を測定し、その測定値の差から計算式によって算出した(図1)。
- 2 胚の呼吸量は発育段階が進み品質ランクが高まるに応じて増加し、胚盤胞ではBランクと比較してAランクの呼吸量は高い傾向にあった(図2)。
- 3 凍結保存後の呼吸量を測定したところ、呼吸量が $1.0 \times 10^{-14} \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$ 以下のものでは、融解48時間後の生存は認められなかった(表2)。
- 4 7個の胚の呼吸量を測定し受胎牛に移植したところ、呼吸量が $1.0 \times 10^{-14} \text{mol s}^{-1}$ 以下の胚の受胎率は0% (0/3)で、 $1.0 \times 10^{-14} \text{mol s}^{-1}$ 以上の胚の受胎率は50% (2/4)であった。

[成果の活用面・留意点]

1 今回の胚の凍結に使用した凍結保護物質は1.8Mエチレングリコール、0.1Mトレハロース、20%子牛血清添加D-PBSであり、他の手法では異なる可能性がある。

[具体的データ]

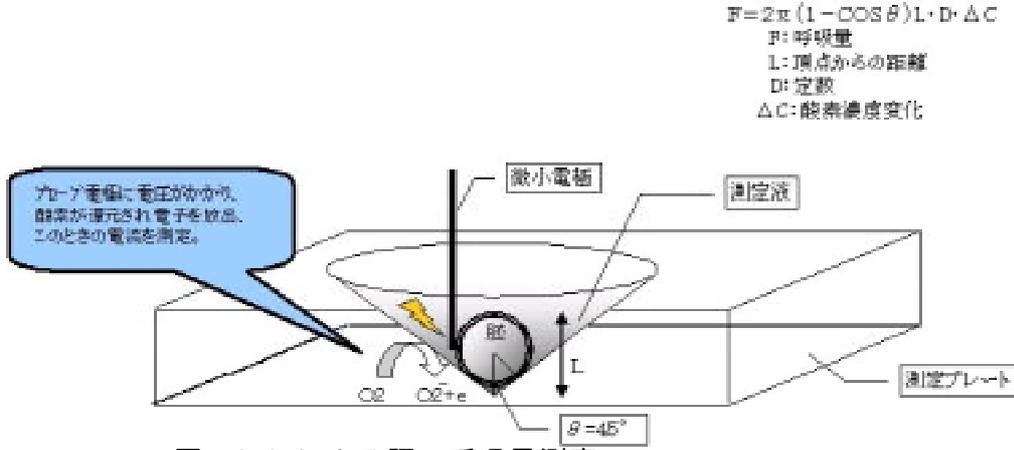


図1 SECMによる胚の呼吸量測定

表1 牛体内受精由来胚凍結保存前後の呼吸量とその後の生存性

凍 結 前		融 解 後			
胚の発育段階 及び品質	呼吸量 ($\times 10^{-14} \text{mol}^{-1}$)	胚の発育段階 及び品質	呼吸量 ($\times 10^{-14} \text{mol}^{-1}$)	24h後 腔形成	48h後 生存
CM A'	0.98 ±0.04	CM A'	0.54 ±0.10	×	×
EB A'	1.31 ±0.01	EB A'	0.25 ±0.11	×	×
EB B	1.21 ±0.22	EB B	0.63 ±0.02		×
BL A	1.39 ±0.43	BL A	1.59 ±0.01		
BL A	1.73 ±0.21	BL A	1.73 ±0.06		

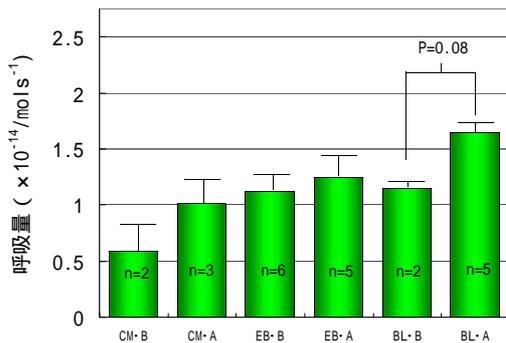


図2 体内受精由来胚の発育段階、品質別呼吸量

CM=後期桑実胚、EB=初期胚盤胞、BL=胚盤胞

表2 融解後の呼吸量と受胎性の関係

融解後の呼吸量 ($\times 10^{-14} \text{mol}^{-1}$)	融解後の胚の 発育段階と品質	妊否
0.14	CM D	-
0.78	EB B	-
0.82	EB B	-
1.02	CM B	-
1.24	EB B'	+
1.32	CM B	-
1.73	EX A	+

[資料名] 平成17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] 電気化学顕微鏡を用いた牛胚の呼吸量測定

[研究期間] 平成17年度

[研究者担当名] 坂上信忠