通し番号 5159

分類番号

R04-6B-21-10

精子細胞膜の安定化を目的とした細胞保護物質を添加した保存液は、ブタ液状精液の低温保存に効果が認められなかった

[要約] ブタ液状精液を流通管理が容易な 4  $\mathbb{C}$  で保存する技術を開発するため、精子細胞膜の安定化を目的とした細胞保護物質(トレハロース、不凍タンパク質)を用いた新規保存液を検討した。その結果、4  $\mathbb{C}$  保存 5 日目の精子生存指数及び精子生存率において、ブタ精子の低温障害の緩和に対する効果は認められなかった。

畜産技術センター・企画指導部・企画研究課

連絡先 046-238-4056

## [背景・ねらい]

ブタ液状精液を流通管理が容易な4℃で保存する技術を開発するため、精子細胞膜の安 定化を目的とした細胞保護物質を用いた新規保存液について検討する。

## 「成果の内容・特徴〕

- 1 モデナ液を保存液として 15  $\mathbb{C}$  で保存した対照区、モデナ液中のグルコースをトレハロース (TRE) で置換した 4 区及び不凍タンパク質 (AFP) を添加した保存液を用いた 3 区により、4  $\mathbb{C}$  でブタ液状精液を保存した(表 1)。
- 2 保存5日目の精子生存指数は試験区による差は認められなかった(表2)。
- 3 保存5日目の精子生存率は試験区による差は認められなかった(表3)。
- 4 モデナ液中グルコースの TRE への置換およびモデナ液への AFP の添加は、ブタ精子の低温障害の緩和に対する効果が認められなかった。

## [成果の活用面・留意点]

- 1 供試精液はランドレース種から採取した。
- 2 精液は 38℃に保温した保存液で精子濃度 1.0×10<sup>8</sup> 個/m1 となるように調整した。
- 3 38℃から4℃まで9時間で冷却するプログラムを用いた。

## [具体的データ]

表1 各試験区の細胞保護物質

試験区分	細胞保護物質	代替量*または最終濃度
対照区	なし	-
TRE25	トレハロース	25%
TRE50	(グルコースと代替)	50%
TRE75		75%
TRE100		100%
AFPO. 1	不凍タンパク質	$0.1\mu$ g/mL
AFP1		$1~\mu$ g/mL
AFP10		$10\mu\;\mathrm{g/mL}$

対照区:モデナ液、TRE:トレハロース、AFP:不凍タンパク質、\*:モル濃度換算.

表2 TRE又はAFP存在下における4℃保存時の精子生存指数

試験区分	day1	day5
対照区	$36.4 \pm 12.2$	$19.6 \pm 10.2$
TRE25	$35.7 \pm 19.0$	$15.4 \pm 11.8$
TRE50	$25.4 \pm 9.6$	$14.6 \pm 9.6$
TRE75	$20.7 \pm 8.3$	10.4 $\pm$ 8.8
TRE100	$17.7 \pm 5.5$	$5.7 \pm 1.9$
AFPO. 1	$32.7 \pm 17.0$	19. 5 $\pm$ 12. 7
AFP1	$32.9 \pm 14.2$	14.8 $\pm$ 8.7
AFP10	$31.4 \pm 14.6$	$20.0 \pm 8.0$

平均値±標準偏差. n=7.

対照区:モデナ液、TRE:トレハロース、AFP:不凍タンパク質.

表3 TRE又はAFP存在下における4℃保存時の精子生存率(%)

**	17 1- 1 1 1 7 2	= 11 14 4 114 4 114 1 (7 4 7
試験区分	day1	day5
対照区	92.7 $\pm$ 3.4	$80.0 \pm 3.7$
TRE25	89.3 $\pm$ 2.4	86. $7 \pm 4.4$
TRE50	87.0 $\pm$ 4.9	87. 2 $\pm$ 1. 4
TRE75	90.4 $\pm$ 2.8	84.8 $\pm$ 0.6
TRE100	$92.2 \pm 3.5$	80. $7 \pm 2.2$
AFP0. 1	$93.9 \pm 2.9$	85.8 ± 6.1
AFP1	92.5 $\pm$ 1.6	$85.2 \pm 3.8$
AFP10	$87.0 \pm 8.0$	84.6 $\pm$ 3.1

平均値±標準偏差. n=4.

対照区:モデナ液、TRE:トレハロース、AFP:不凍タンパク質.

[資料名] 令和4年度試験研究成績書

[研究課題名] (4) 豚液状精液の低温保存技術の検討

[研究内容名] (ア)低温保存に適した新規保存液の検討

[研究期間] 令和3~4年度

[研究者担当名] 中原祐輔、西田浩司、三角浩司¹、大西彰¹(¹日大)