

課題名	7 体外受精卵の大量作出		分類	③												
	(1) 牛卵胞卵子の体外受精におけるヘパリン添加が胚の発育率向上に及ぼす効果															
試験研究年次	1 ~ 3年 (継続)															
<p>I 目的</p> <p>受精培地へのヘパリン添加による胚の発育率向上と、精子濃度及び卵子-精子共培養時間が胚の発育に及ぼす影響を検討し、体外受精卵の大量作出技術の確立に役立てる。</p>																
<p>II 試験方法</p> <p>試験1 受精培地へのヘパリン添加と胚の発育</p> <p>1 試験区分</p> <table border="1" data-bbox="379 741 826 842"> <tr> <td>精液</td> <td>ヘパリンナトリウム</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">A, B, C</td> <td>添加 (+)¹⁾</td> </tr> <tr> <td>無添加 (-)</td> </tr> </table> <p>注) 1) 受精培地B0(Brackett & O-liphant)液に1ml当たり10μg添加</p> <p>2 卵子の成熟培養 (1) 培地 5%子牛血清添加TCM199 (2) 培養時間 20-24時間</p> <p>3 媒精 (1) 精子濃度 20\times10⁶/ml (2) 卵子-精子共培養 6時間</p> <p>4 胚の発生培養 (1) 培地 10%子牛血清添加TCM199 (2) 培養期間 10日間</p> <p>5 調査項目 分割率、胚盤胞期胚率</p> <p>試験2 媒精時の精子濃度と卵子-精子共培養時間</p> <p>1 試験区分</p> <table border="1" data-bbox="536 1081 1302 1187"> <tr> <td rowspan="3">精液</td> <td>精子濃度(/ml)</td> <td>共培養時間(h)</td> </tr> <tr> <td>10\times10⁶</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>20\times10⁶</td> <td>6</td> </tr> </table> <p>2 卵子の成熟培養及び胚の発生培養 「試験1」と同じ。</p> <p>3 媒精 (1) 処理条件 「1 試験区分」に示す。 (2) 培地 10μg/mlヘパリン添加B0液</p> <p>4 調査項目 分割率、胚盤胞期胚率</p>					精液	ヘパリンナトリウム	A, B, C	添加 (+) ¹⁾	無添加 (-)	精液	精子濃度(/ml)	共培養時間(h)	10 \times 10 ⁶	3	20 \times 10 ⁶	6
精液	ヘパリンナトリウム															
A, B, C	添加 (+) ¹⁾															
	無添加 (-)															
精液	精子濃度(/ml)	共培養時間(h)														
	10 \times 10 ⁶	3														
	20 \times 10 ⁶	6														
<p>III 主要成果の概要</p> <p>分割率及び胚盤胞への発育率は、受精培地にヘパリンを添加することによって向上することを明らかにした。</p> <p>1 体外成熟した卵胞卵子は、ヘパリンを添加した受精培地で精子濃度を調整した精子と媒精すると、分割率及び胚盤胞への発育率が添加しなかった場合に比べ向上する。</p> <p>2 無添加で発育率が低い種雄牛の精液は、ヘパリン添加の効果は顕著であるが、無添加でも比較的高い発育率を得る精液では効果が見られないことから、精液の個体差が考えられる。</p> <p>3 精子濃度及び卵子-精子共培養時間を、従来法(各々20\times10⁶/ml、6時間)の半分(各々10\times10⁶/ml、3時間)にしても、胚盤胞への発育率に大きな影響はない。</p>																

IV 主要成果の具体的データ

第1表 受精培地へのヘパリン添加と胚の発育

精液	ヘパリン	供試 卵子数	分割 胚数(%) ¹⁾	胚盤胞期 胚数(%) ²⁾
A	+	826	529(64.0)	194(23.5)
	-	118	59(50.0)	11(9.3)
B	+	978	483(49.4)	165(16.9)
	-	511	95(18.6)	38(7.0)
C	+	251	187(74.5)	35(13.9)
	- ³⁾	1268	786(62.0)	211(16.6)

注) ① ¹⁾ 分割率 = (分割胚数 ÷ 供試卵子数) × 100
 ② ²⁾ 胚盤胞期胚率 = (胚盤胞期胚数 ÷ 供試卵子数) × 100
 ③ ³⁾ 前培養3時間、卵子-精子共培養時間3時間(従来法)

第2表 凍精時の精子濃度と卵子-精子共培養時間

精液	精子濃度 (×10 ⁶ /ml)	共培養 時間(h)	供試 卵子数	分割 胚数(%) ¹⁾	胚盤胞期 胚数(%) ²⁾
C	10	3	820	451(55.0)	133(16.2)
	10	6	159	100(62.9)	33(20.8)
	20	3	532	359(67.5)	66(12.4)
	20	6	217	150(69.1)	29(13.4)
D	10	3	1108	688(62.1)	135(12.2)
	10	6	237	154(65.0)	29(12.2)
	20	3	459	314(68.4)	71(15.5)
	20	6	105	62(59.0)	17(16.2)

注) ① ¹⁾ 分割率 = (分割胚数 ÷ 供試卵子数) × 100
 ② ²⁾ 胚盤胞期胚率 = (胚盤胞期胚数 ÷ 供試卵子数) × 100

V 成果の評価と取扱上の留意点

- 1 体外受精研究の情報として活用できる。
- 2 供試する種雄牛の精液に適した精子濃度や、卵子-精子共培養時間は事前に調査する必要がある。

VI 今後の研究上の問題点

低精子濃度での体外受精が胚の発育率へ及ぼす影響

VII 資料名

- 1 第40回西日本畜産学会大会 講演要旨
- 2 第41回西日本畜産学会大会 講演要旨
- 3 元年度福岡県農業総合試験場畜産研究所 畜産関係試験成績書