

課題名	8 体外受精卵の大量作出	分類	③									
	(2) 牛卵胞卵子の体外成熟における酸素濃度の影響											
試験研究年次	1 ~ 3年 (継続)											
<p>I 目的</p> <p>牛卵胞卵子の体外成熟における酸素濃度の影響を検討し、胚の発育率を向上することにより、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>1 試験区分 (卵子の成熟培養時の酸素濃度)</p> <table border="1" data-bbox="386 703 1152 808"> <thead> <tr> <th></th> <th>試験区¹⁾</th> <th>対照区</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>酸素濃度 (%)</td> <td>2.5, 5.0, 10.0</td> <td>21.0²⁾</td> </tr> <tr> <td>炭酸ガス濃度 (%)</td> <td colspan="2">5.0</td> </tr> </tbody> </table> <p>注) ¹⁾ O₂-CO₂-N₂インキュベータを使用 ²⁾ CO₂インキュベータを使用し、5.0%炭酸ガス、95.0%空気に調整した際の酸素濃度</p> <p>2 卵子の成熟培養</p> <p>(1) 培地 5%子牛血清添加TCM199 (2) 気相条件 「1 試験区分」に示す。 (3) 培養時間 20-24時間</p> <p>3 媒 精</p> <p>(1) 培地 10 μg/mlアンピリン添加B0液 (2) 精子濃度 10 × 10⁶/ml (3) 卵子-精子共培養 3時間</p> <p>4 胚の発生培養</p> <p>(1) 培地 10%子牛血清添加TCM199 (2) 気相条件 5%炭酸ガス、95%空気 (3) 培養期間 10日間</p> <p>5 調査項目 精子侵入率、8細胞期胚率、胚盤胞期胚率</p>					試験区 ¹⁾	対照区	酸素濃度 (%)	2.5, 5.0, 10.0	21.0 ²⁾	炭酸ガス濃度 (%)	5.0	
	試験区 ¹⁾	対照区										
酸素濃度 (%)	2.5, 5.0, 10.0	21.0 ²⁾										
炭酸ガス濃度 (%)	5.0											
<p>III 主要成果の概要</p> <p>牛卵胞卵子の成熟培養時の酸素濃度を10%にすることにより、胚盤胞への発育率が向上することを明らかにした。</p> <p>1 各濃度間において精子侵入率には差は見られないが、酸素濃度5.0%以下では、多精子侵入が多く発生する傾向にある。</p> <p>2 8細胞期胚率は、酸素濃度5.0~21.0%の間では顕著な差はないが、胚盤胞期胚率は10.0%の場合に最高値を示していることから、卵子の成熟培養には10.0%の酸素濃度が適している。</p> <p>3 5%の酸素濃度は卵管内の酸素濃度に近いが、胚盤胞期胚率の向上は認められない。</p> <p>4 2.5%の酸素濃度は、卵子の成熟培養には不適當である。</p>												

IV 主要成果の具体的データ

第1表 酸素濃度と精子侵入率

酸素濃度 (%)	実験回数	供試卵子数	精子侵入	
			精子侵入卵子数 (%) ¹⁾	多精子侵入卵子数 (%) ²⁾
2.5	3	38	34(90)	13(34)
5.0	3	51	50(98)	21(41)
10.0	3	37	33(89)	4(11)
21.0	6	54	50(93)	8(16)

注) ① ¹⁾精子侵入率 = (精子侵入卵子数 ÷ 供試卵子数) × 100
 ② ²⁾多精子侵入率 = (多精子侵入卵子数 ÷ 精子侵入卵子数) × 100

第2表 酸素濃度と8細胞期胚率

酸素濃度 (%)	B D ¹⁾			B B ¹⁾		
	実験回数	供試卵子数	8細胞期胚数 (%) ²⁾	実験回数	供試卵子数	8細胞期胚数 (%) ²⁾
2.5	7	293	38(13.0)	4	142	24(16.9)
5.0	7	506	148(29.2)	10	1050	367(35.0)
10.0	9	793	275(34.7)	10	977	345(35.3)
21.0	5	430	151(35.1)	16	1251	331(26.5)

注) ① ¹⁾B Dは黒毛和種 × ホルスタイン種、B Bは黒毛和種 × 黒毛和種
 ② ²⁾8細胞期胚率 = (8細胞期胚数 ÷ 供試卵子数) × 100

第3表 酸素濃度と胚盤胞期胚率

酸素濃度 (%)	B D			B B		
	実験回数	供試卵子数	胚盤胞期胚数 (%) ¹⁾	実験回数	供試卵子数	胚盤胞期胚数 (%) ¹⁾
2.5	7	293	27(9.2)	4	142	9(6.3)
5.0	7	506	104(20.6)	10	1050	109(10.4)
10.0	9	793	227(28.6)	10	977	161(16.5)
21.0	5	430	86(20.0)	16	1251	149(11.9)

注) ¹⁾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
 体外受精研究の情報として活用できる。

VI 今後の研究上の問題点
 1 発生培養時の酸素濃度が胚の発育に及ぼす影響
 2 炭酸ガス濃度が卵子の成熟や胚の発育に及ぼす影響

VII 資料名
 第84回日本畜産学会大会 講演要旨