

豚胚の体外培養における発育ステージと培養液の影響

坂東弘光・山口俊彦 (長崎県畜産試験場)

Hiromitsu BANDO and Toshihiko YAMAGUTI: Effects of embryonic stage and medium on the *in vitro* culture of early pig embryos

従来より、豚初期胚の培養液として、比較的簡単な組成の無機塩類からなる液に牛血清アルブミン (BSA) や血清を添加したものが用いられてきたが^{1,2)}、胚盤胞の拡張や脱出には、種々のアミノ酸やビタミン類が含まれる合成培養液が優れていたとする報告³⁾もある。そこで豚胚の培養法の検討として、比較的簡単な組成の重炭酸緩衝液である修正BMOC-3と合成培養液のTC-199の2種の培養液を用い、胚の発育ステージごとに、その発育状況を比較、観察したので、その内容を報告する。

1. 材料及び方法

供試胚：5～7ヶ月齢の未発情の幼若雌豚に、PMSG1000IU投与し、その72時間後にhCG500IU処理をして発情を誘起し、その後24時間目に人工授精を行い、目的の発育ステージに合わせて卵管または子宮角をリン酸緩衝液 (PBS) により灌流して供試胚を採取した。

培養液：培養液は、修正BMOC-3とTC-199を用い、修正BMOC-3は、既報の組成から乳酸とピルビン酸を除いたものを用いた。なお、それぞれの培養液とも同一ロットの牛血清 (CS) を10%添加した。

培養条件：シャーレ内パラフィンオイル下で、温度39℃、気相は窒素90%、酸素5%、二酸化炭素5%、湿度飽和で行った。

2. 結果及び考察

培養開始時に1～4細胞期の発育ステージを示していた胚を培養した結果、修正BMOC-3とTC-199それぞれの区で、5～8細胞期へ、48.1%、17.9%、桑実期胚へ、33.3%、7.1%が発育し、修正BMOC-3が良好な発育率を示した ($p < 0.05$)。また、修正BMOC-3でのみ、胚盤胞以降への発育がみられた (第1表)。

第1表 1～4細胞期胚の発育

Treatment	n	No. of embryo (%)			
		5～8 cell	morulae	Blastocyst	h-Blastocyst
mBMOC-3	27	13(48.1)*	9(33.3)*	3(11.1)	3(11.1)
TC-199	23	5(17.9)	2(7.1)		

注) * $p < 0.05$

5～8細胞期胚の修正BMOC-3とTC-199のそれぞれの区での発育率は、胚盤胞期へは64.7%、40.0%、脱出胚盤胞へは17.6%、5.0%となり、1～4細胞期胚と同様、修正BMOC-3区が良好な発育を示す傾向にあった (第2表)。

第2表 5～8細胞期胚の発育

Treatment	n	No. of embryo (%)		
		morulae	Blastocyst	h-Blastocyst
mBMOC-3	17	14(82.4)	11(64.7)	3(17.6)
TC-199	20	16(80.0)	8(40.0)	1(5.0)

桑実期胚を培養した結果、修正BMOC-3、TC-199それぞれ、胚盤胞期へ60.7%、82.9%、脱出胚盤胞へ53.6%、77.1%と、桑実期以前の胚の培養結果とは異なり、TC-199が良好な成績 ($p < 0.05$) を示した (第3表)。

第3表 桑実期胚の発育

Treatment	n	No. of embryo (%)	
		Blastocyst	h-Blastocyst
mBMOC-3	28	17(60.7)*	15(53.6)*
TC-199	35	29(82.9)	27(77.1)

注) * $p < 0.05$

以上のように、豚初期胚の発育ステージの違いにより、有効な培養液が異なる可能性が示唆された。しかし、本試験で用いた培養液には、組成成分の違いのほか成分が不明確なBSAや血清といった要因も含まれることから、今後、このような問題も含めたうえで最適な培養系の検討を行う必要がある。また、発育した胚が正常であるかどうかの最終的な判定は、胚移植後の生存性によるため、培養胚の移植の検討も必要である。

引用文献

- 1) DAVIS, D. L. and B. N. DAY: *J. Anim. Sci.* **46**, 1043, 1978.
- 2) MENINO, Jr, A. R. and R. W. WRIGHT, Jr: *J. Anim. Sci.* **54**, 583, 1982.
- 3) STONE, B. A., P. QUINN. and R. F. SEAMARK: *Anim. Reprod. Sci.* **7**, 405, 1984.