

牛体外受精における複数の種雄牛の精子処理条件の検討

緒方喜代子・中嶋達彦・野田伸司・後藤孝一 (熊本県農業研究センター)

Kiyoko OGATA, Tatsuhiko NAKASHIMA, Sinji NODA and Kouichi GOTO :
Condition of Sperm Treatment of Several Bulls on in Vitro Fertilization

牛体外受精には安定した受精率を得るために一般に人工受精用の凍結精液を2-3本融解して用いられているが、種雄牛によって得られる受精率、処理条件は一定していない。浜野らは、テオフィリンをヘパリンと併用することで高い受精率を得、複数の種雄牛に適用できる方法を報告した¹⁾。そこで、複数の種雄牛の凍結精液を効率的にかつ簡素化した手法で体外受精に用い、安定した受精率を得る目的で、精子洗浄及び受精の場合へ添加するテオフィリンについて、それぞれの精子に対する処理条件を検討した。

1. 材料及び方法

卵子は屠場で処理された卵巣より採取されたものを精子は7頭の種雄牛の凍結精液を用いた。

実験1：1本の凍結ストローを用い、10mM, 20mM テオフィリン添加B液で精子洗浄後、牛血清アルブミン(1mg/ml)及びヘパリン(10mM)を含むB液で等量希釈し、一律に2ml(精子数:3.9~19.6*10⁶)に調整し受精率を検査した(第1表)。

実験2：実験1で用いた種雄牛のうち5頭の精子をさらに1/2倍, 1/10倍に希釈し同様に受精率を検査した(第1, 2図)。

実験3：実験1で用いた種雄牛のうち5頭の精子について、実験1と同様の手法で体外受精を行い、その後の

発生率を調べた。

2. 結果及び考察

実験1：テオフィリン10mMにおける受精率は81.3~100%, 20mMでは88.9~100%であった。

実験2：10mMにおける1/2希釈で受精率は73.9~100%, 1/10希釈で29.0~83.3%, 20mMで1/2希釈で87.0~94.4%, 1/10希釈で12.8%~91.3%であった。

実験3：10mMにおける各種雄牛の2細胞以上への分割率は67.0~87.8%, 胚盤胞へは6.8~20.4%であった。20mMでは2細胞以上へは69.8%~88.1%, 胚盤胞以上では9.4~16.8%であった。

これらのことから、通常用いられている凍結精液1本をテオフィリン20mM/mlで処理後、一律に2mlに希釈及びさらにその1/2濃度希釈まで精子数を調整することなしに用いたとき、高い受精率が得られたことから、今回の処理条件は広範囲の種雄牛、精子濃度で適用できることが示唆された。

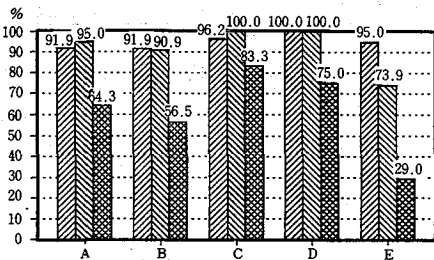
引用文献

- 1) 浜野晴三・桑山正成：東日本受精卵移植研究会 9, 1991.

第1表 テオフィリンの濃度が受精率に及ぼす影響

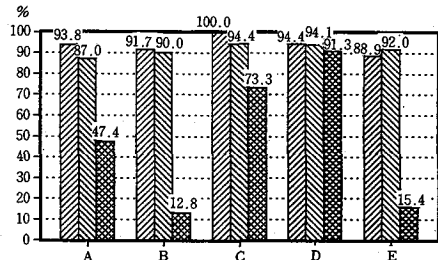
種雄牛	精子濃度	10mM/ml				20mM/ml			
		供試卵数	受精卵数	受精率%	正常受精率%	供試卵数	受精卵数	受精率%	正常受精率%
A	860	37	34	91.9	78.4	16	15	93.8	75.0
B	530	12	11	91.7	66.7	12	11	91.7	83.3
C	1580	26	25	96.2	69.2	15	15	100.0	86.7
D	1960	14	14	100.0	35.7	18	17	94.4	44.4
E	1900	20	19	95.0	90.0	18	16	88.9	77.8
F	470	16	13	81.3	75.0	13	13	100.0	76.9
G	390	20	19	95.0	95.0	15	14	93.3	93.3

注) 精子濃度: *10000個/ml



▨ 1倍 ▩ 0.5倍 ■ 0.1倍

第1図 各希釈倍率における受精率 (テオフィリン10mM)



▨ 1倍 ▩ 0.5倍 ■ 0.1倍

第2図 各希釈倍率における受精率 (テオフィリン20mM)