

## ウシ生体内卵胞吸引回収液での卵子保存時間が体外受精後の発生能に及ぼす影響

詫摩哲也<sup>1) 2)</sup>・○江副大輔<sup>1)</sup>・大坪利豪<sup>1)</sup>・一丸仁<sup>1)</sup>・黒川洋介<sup>1)</sup>・音井威重<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> 佐賀県畜産試験場、<sup>2)</sup> 山口大学大学院連合獣医学研究科)

### 【目的】

ウシの生体内卵胞吸引技術（以下、OPU）を利用した卵子回収により優良雌牛からの体外受精（以下、IVF）胚生産が飛躍的に向上している。

しかし OPU は超音波診断装置やそれに付随した吸引装置など特殊な機器を必要とし、またその作業においては高度な技術を必要とするため広域普及には至っていない。一方、家畜改良および増産を効果的に実施するには、1日の処理頭数を増やし、より多くの卵子を効率的に供していく必要がある。本試験では、OPU の1日処理頭数増加を目的として、OPU 終了から体外成熟培養処理までの時間が IVF 後の発生能に及ぼす影響を調査した。

### 【材料及び方法】

佐賀県畜産試験場に繋養する黒毛和種経産牛12頭を用いて3~4日間隔で OPU を実施した。吸引回収液（1卵巣あたり3~5ml）を卵巣毎に分け、検卵するまでの間、乳酸化リンゲル液を加えて総量を約45ml とし50ml 容のコニカルチューブ内に保存した（保存温度38℃）。

OPU 終了から体外成熟培養開始までの時間を卵巣毎に記録し、FSH および NBCS を添加した mTCM199中で22時間成熟培養を行った。なお、回収卵子は卵丘細胞の付着具合により6段階（G1~G6）に分類し、卵丘細胞および卵細胞質に顕微鏡下で異常の認められない G1-G4卵子を成熟培養に供した。IVF には同一種雄牛の同一ロットの凍結精液を使用し、媒精液中で6時間 IVF を行った。IVF 終了後、卵丘細胞や付着精子を除去し mSOFaa 中で体外発生培養を行った。

回収液保存時間を①区：30分以上2時間未満、②区：2時間以上3時間未満、③区：3時間以上4時間未満、④区：4時間以上5時間未満、⑤区：5時間以上7時間未満、⑥区：7時間以上9時間未満に区分して、分割率および発生率を調査し比較検討を行った。

### 【結果】

OPU 回収卵子に占める G1-G4卵子の割合は、回収液の保存時間によらず各試験区間で有意な差

が認められなかった（第1表）。しかし IVF 後の分割率においては①区が⑤区に比べ有意に高い結果であった。一方、発生率においては①区と比較して④区で、⑤区と比較して②③④区で、有意に高い発生率を示した（第2表）。また、分割した卵子に占める発生数の割合を比較したところ、①⑤⑥区が②③④区に比べ低下する傾向（ $p<0.1$ ）もしくは有意な低下（ $p<0.05$ ）が認められた（第1図）。

第1表 OPU 回収卵子の品質の比較

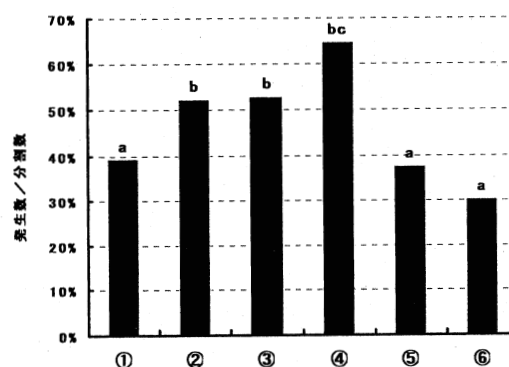
試験区分	卵巣数	回収卵子数	G1-G4* (率)
①	39	127	113 (89%)
②	67	228	199 (87%)
③	52	195	167 (86%)
④	15	45	43 (96%)
⑤	15	117	108 (92%)
⑥	8	32	28 (88%)

\* G1-G4:卵丘細胞および卵細胞質に顕微鏡下で異常がない

第2表 体外受精後の分割率および発生率の比較

試験区分	培養数	分割数(率)	発生数(率)
①	113	74 (65.5 <sup>a</sup> )	29 (25.7 <sup>ab</sup> )
②	199	121 (60.8)	63 (31.7 <sup>ac</sup> )
③	167	97 (58.1)	51 (30.5 <sup>ac</sup> )
④	43	28 (65.1)	18 (41.9 <sup>c</sup> )
⑤	108	56 (51.9 <sup>b</sup> )	21 (19.4 <sup>b</sup> )
⑥	28	20 (71.4)	6 (21.4)

\*同列異符号間に有意差あり (a, b, c;  $p<0.05$ )



第1図 分割数に占める発生数の割合の比較

\*異符号間に有意差あり (a-b;  $p<0.1$ , a-c;  $p<0.05$ )