

## CR1aa および $\beta$ メルカプトエタノール加 TCM199で培養された 牛体外受精胚の細胞数の変動変動

牛島 仁・田島敏夫・坂元克弥\*<sup>1</sup>・山下秀幸

江藤哲雄・石田和昭

Transition of cell number of bovine IVM/IVF embryos cultured  
in CR1aa and TCM199 containing  $\beta$ -mercaptoethanol

Hitoshi USHIJIMA, Toshio TAJIMA, Katsuya SAKAMOTO \*<sup>1</sup>, Hideyuki YAMASHITA

Tetsuo ETO and Kazuaki ISHIDA

### 目 的

演者らは第92回繁殖生物学会において、牛生体回収胚の細胞分裂がほぼ1日に1回起こるのに対して、IVF胚では体外成熟培養後4-5日目と8日目以降で発達遅延が起こることを報告した。この発達遅延は培養方法に起因すると考えられることから、より生存性の高い胚を体外で作出するには、培養法の改良が必要と考えられる。そこで、現在用いられている種々の培地が胚の体外発生に対してもたらす効果を日令別の細胞数の推移を調べることによって検討した。

### 方 法

常法に従って作出された体外受精胚の卵丘細胞をピペッティングによって完全に除去後、50-60個の胚を1ロットとして、38.5℃で3% CO<sub>2</sub>、97%空気、飽和水蒸気の条件下で1-10日間培養した。培養液には、①20%胎仔血清加 CR1aa (CR1)、②卵丘細胞を播種した5%胎仔血清加 TCM199 (Control)、および③ Control の培養液で6日間培養後、100  $\mu$ M  $\beta$ メルカプトエタノール添加の5%胎仔血清加 TCM199 (BME) を用いた。細胞数の計測には、胚に含まれる変性細胞の量が10%未満で、より発達段階が進んだ胚をロットあたり5%を限度として用い、変性・退行した胚は除外した。これらの胚を空気乾燥法を用いて固定、ギムザ染色後、その細胞数を計測するとともに、算出される分裂回数か

ら回帰式を求め、共分散分析による検定を行った。

### 結 果

体外受精胚の発生率は、各試験区間に有意差を認めなかった。CR1における日令と分裂回数の回帰は、Control の回帰 ( $y = 0.83x + 0.19$ ,  $n = 98$ ,  $r = 0.95$ ) との間に有意差を認めなかった。BMEにおける回帰の傾斜はCR1に比べて大きくなる傾向を認めたが、Control に比べて大きくなる傾向を認めたが、有意差には至らなかった。これに対し、BMEの傾斜はControl に比べ有意 ( $P < 0.01$ ) に大きくなった。このことから、BMEは体外培養後期における胚の発達遅延を緩和すると考えられる。

### 謝 辞

卵巣の採取にご協力いただいた(株)千葉県食肉公社職員、光町東陽食肉センター職員ならびに千葉県東総食肉衛生検査所職員に感謝いたします。

(第15回東日本受精卵移植技術研究会報、P16、2000)

\*<sup>1</sup> 現千葉県中央家畜保健衛生所

平成13年8月31日受付