

ラット射出精子の凍結保存

滝澤 明子¹, 中井 美智子¹, 猪俣 智夫², 柏崎 直巳¹, 紫野 正雄¹

麻布大学・¹動物繁殖学研究室, ²実験動物学研究室

【目 的】

一般的にラット精子は精巢上体尾部より採取するが、この方法では1個体からの採取に制限がある。本研究では同一個体から継続的に精子の採取が可能である射出精子を回収し、その凍結保存を試みた。

【方 法】

Wistar 系ラットを用いた。発情前期のメス(6-8週齢)とオス(12週齢)を同居させ、30分ごとにプラグの確認をおこなった。3個以上のプラグを確認後、直ちに子宮を摘出し、8%ラクトース、23%卵黄、1.4%OEPを含む凍結用培地で灌流し精子浮遊液を回収した。この浮遊液を15℃のインキュベータで30分間冷却した。その後4℃の冷蔵庫で30分間冷却し、0.25mlプラスチックストローに封入し、凍結した。液体窒素中で1週間以上保存後、38℃の温水中で融解し、1mlの培養液中に精子を浮遊させた。融解後、運動精子率、SYBE-14とPropidium iodideの二重蛍光染色に

より細胞膜のIntegrityを調べた。また偽妊娠を誘起した雌ラットの左右子宮角上部に50 μ l(注入総精子数: $3-7 \times 10^7/\text{ml}$)注入し、受精成績について調べた。採取直後の射出精子についてもこれと同様に調べた。

【結 果】

射出精子の採取直後の運動精子率は78.3%、細胞膜のIntegrity率は43.6%であった。採取直後の精子を偽妊娠誘起した雌ラットの子宮内注入した結果、4匹中4匹(100%)全ての雌が妊娠し24匹の産子を得た。凍結融解した射出精子の運動率は1.6%、細胞膜Integrity率は2.7%であった。また子宮内注入をおこなった結果、7匹中1匹(14.2%)が妊娠し、1匹の産子が得られた。以上の結果から、ラット射出精子を凍結保存することが可能であり、子宮内注入後産子へ発育する事が明らかになった。しかしながら、本研究のラット射出精液凍結保存法を遺伝資源バンキングなどへ応用するためにはさらなる改良が必要である。