

ブタにおける体外受精

永井 卓

独立行政法人 農業生物資源研究所
動物生命科学研究所 発生分化研究グループ

哺乳動物の体外受精に関する研究は、排卵直後の雌の子宮あるいは卵管に注入した精子が、すぐには卵子に侵入不可能であり、数時間雌生殖器内にとどまる間に生理学的ならびに機能的変化を受けはじめ、卵子に侵入可能となることを、それぞれウサギとラットにおいて発見した Chang (1951)¹⁾ と Austin (1951)²⁾ の実験を端緒として急速に発展した。Austin (1952)³⁾ は、このような精子に誘起される生理学的変化に対して capacitation (受精能獲得) と命名し、以来精子の受精能獲得に関する研究は、体外受精の研究と表裏一体となってすすめられてきた。ブタにおいては、Iritani *et al.* (1978)⁴⁾ が食肉処理場で採取した卵巣から回収した卵胞卵子を体外で成熟させ、摘出雌性生殖器内で前培養したブタ射出および精巣上体精子を加えて受精し、精子侵入卵子を得た。このことにより、体外でのブタ精子の受精能獲得が確認された。ついで、Nagai *et al.* (1984)⁵⁾ は、精巣上体尾部精子を高い精子濃度で前培養することによって、培養液のみによる精子の受精能獲得に成功した。

体外成熟卵子の体外受精による産子の生産に関しては、1989年に Mattioli *et al.*⁶⁾ が、未成熟卵母細胞を、卵胞細胞との共培養(振とう培養)によって体外で成熟させ、得られた成熟卵子の体外受精によって産子を得た。しかし、その培養方法は複雑で成功率が極めて低く、特に、受精後の雄性前核形成率の低さが問題であった。その後、Yoshida *et al.*⁷⁾ はシステインを多く含む Waymouth 培養液を用いて卵母細胞を培養すると、受精後の雄性前核形成が促進することを発見した。ついで、システインがグルタチオンの構成アミノ酸の一つであることに注目し、成熟培養液へ

のシステイン添加濃度と成熟卵子内のグルタチオン濃度の関係を調べたところ、成熟培養液中に添加したシステインの濃度依存的に卵子内のグルタチオン濃度が高くなり、同時に受精後の雄性前核形成率が高くなることを報告した⁸⁾。さらに、システインを含む比較的組成が単純な培養液を用いて成熟させたブタ体外成熟卵子の体外受精によって子豚の生産に成功した⁹⁾。

さらに、豚体外成熟・受精の発生培養についての研究がすすみ、Kikuchi *et al.*¹⁰⁾ は、システインを含む培養液を用いた低酸素濃度(5%)下での成熟培養によって得られた体外成熟卵子を用いて体外受精卵子の発生培養試験を行った。その結果、受精後48時間の発生培養液中へのグルコース添加により体外生産胚の品質が低下することを突き止め、代わりにピルビン酸塩および乳酸塩を添加することによって(受精後48時間から144時間はグルコース添加培養液を使用)効率的に高品質の胚盤胞期胚を得た。さらに、卵管上皮細胞と共培養した培養液(ピルビン酸塩および乳酸塩を含む)を用いて、体外受精卵子を48時間培養(その後、グルコース添加培養液)することによって得られた胚盤胞期胚を3頭の雌豚に移植したところ、全て受胎し、19頭の子ブタが生まれた。これにより、ブタ体外生産胚からの産子生産が確認され、今後、ヒト臓器移植用形質転換ブタ等の生産効率が高くなることが予想される。

文 献

- 1) Chang MC. 1951. *Nature (London)*, 168: 697-698.
- 2) Austin CR. 1951. *Aust. J. Sci. Res. Ser. (B)* 4: 581-596.
- 3) Austin CR. 1952. *Nature (London)*, 170: 326.

- 4) Iritani A, Niwa K, Imai H. 1978. *J Reprod Fert* 54: 379-383.
- 5) Nagai T, Niwa K, Iritani A. 1984. *J Reprod Fertil* 70: 271-275.
- 6) Mattioli M, Bacci G, Seren E. 1989. *Theriogenology* 31: 1201-1207.
- 7) Yoshida M. 1993. *Mol Reprod Dev* 35: 76-81.
- 8) Yoshida M, Ishigaki K, Nagai T, Chikyu M, Pursel VG. 1993. *Biol Reprod* 49: 89-94.
- 9) Yoshida M, Mizoguchi Y, Ishigaki K, Kojima T, Nagai T. 1993. *Theriogenology* 39: 1303-1311.
- 10) Kikuchi K, Onishi A, Kashiwazaki N, Iwamoto M, Noguchi J, Kaneko H, Akita T, Nagai T. 2002. *Biol Reprod* 66: 1033-1041.