

## 37. ラットの体外受精法に関する検討

実験動物センター

今 弘枝, 藤平篤志, 篠田元扶

【目的】日常業務時間内に実施可能なラットの体外受精スケジュールの検討を行った。

【方法】Day0 9:00 に5-7ヶ月齢の♂ Wistar-Imamichi ラットの精巣より精子を採取し, 300  $\mu$ l HTF 培地中 (精子濃度 1000 sperm/ $\mu$ l) で媒精開始まで前培養した。Day0 9:00, 11:00, 13:00 および 14:00 に, 予め PMSG および hCG で過排卵誘起した 11-13 週齢の♀ Wistar-Imamichi ラットの卵管膨大部より卵子-卵丘細胞塊を採取し, 前培養しておいた精子懸濁液中に投入して Day0 16:00 または Day1 9:00 まで媒精を行った。媒精終了後, 卵を回収して顕微鏡下で受精の状態を観察した後, 発生培地 mR1ECM に移し Day2 9:00 まで培養した。

【結果】Day0 16:00 媒精終了群では, 採卵時刻の違いに関わらず約 10% の卵で精子進入が認められたが, 残りは未受精であった。Day1 9:00 媒精終了群では, 50% 以上の卵が受精しており, その多くが前核期であった。Day1 9:00 媒精終了群において, 9:00 および 11:00 採卵群の受精率は 75% を上回ったが, 13:00 および 14:00 採卵群の受精率は 50% 台にとどまり, 有意な差が認められた。媒精終了後に mR1ECM 培地中で Day2 9:00 まで培養した結果, 各群とも媒精終了時に受精していたものの大部分が 2 細胞期胚に発生した。

【結論】卵ドナーに過排卵誘起した成熟ラットを用い, 9:00 に採精, 9:00-11:00 に採卵・媒精開始し, 翌日 9:00 まで媒精を行うことで, 日常業務時間内にラットの体外受精操作を実施できることが明らかになった。