

ハムスター卵子の成熟と受精卵にみられる卵表層の粘性の変化

平尾幸久 (和歌山県立医大・生物), 柳町隆造 (ハワイ大・解剖生殖生物)

Changes in the rigidity of egg cortex during the maturation and fertilization of hamster oocyte

YUKI-HISA HIRAO, RYUZO YANAGIMACHI

ゴールデンハムスターの未受精卵の核を抜き取る代わりに、二分することができれば、即ち有核卵片と無核卵片とに分けることができれば、卵内に侵入した精子頭の変化を誘起する要因についての解析に重要な手掛りが得られる。そこで我々は未受精卵を多量に二分する方法として Ficoll の密度勾配遠心法を用いた。この方法により卵の成熟と受精後の卵子の硬さの変化について詳しく解析した。Ficoll (MW. 400,000) は使用前に透析し、凍結乾燥した後、これを PBS で溶解して40%, 20%及び10%溶液を作った。ポリエチレンの遠心管(直径 0.9mm, 長さ80mm)の底に40% Ficoll 液を、次いで20%, 10%液を上積みし最上部に PBS を加えた四層の密度勾配を作った。遠心する際に色々な Stage の卵子を酵素で卵丘細胞及び透明帯を取除いて裸にした卵子を最上部の PBS 中に導入して 6,000r.p.m で 30 分遠心し、次いで 8,000r.p.m で 5 分間遠心した。

卵子の成熟はそれぞれ PMSG 及び HCG の注射によってコントロールした。同一遠心力で各 Stage の卵子 (GV, GVBD, I ry-Meta, II ry-Meta) を調べてみると、排卵直後の卵子 (II ry-Meta) が100%二分されるのに対して、卵子が若くなればなるほど二分され難く、その難易度は成熟のプロセスと一致した。ところが排卵後受精せずに 6~10時間輸卵管の中に止まっていると、二分される率は47~15%と減少し明らかに卵子は硬化し始めた。一方人工媒精後 6~10時間目の受精卵では、前者は精子頭が膨潤し後者では雄性前核の形成期に当るが、いずれも卵子は遠心で楕円形に引き延ばされるだけで決して二分されなかった。これは明らかに受精によって再び硬化し、受精前の卵子とは性質を異にすることを示している。

マウス卵試験管内受精と発生

山田 武, 湯川修身, 浅見行一, 中沢 透 (放医研・生物)

Cultivation of the *in vitro* fertilized mouse ova to blastocyst stage

TAKESHI YAMADA, OSAMI YUKAWA, KOUICHI ASAMI, TOHRU NAKAZAWA

哺乳類初期(着床前期)胚は放射線感受性高く、数十RのX線照射により死にいたる。近年、初期胚の試験管内培養法が発達した結果、この放射線感受性の解析が進み、発生段階の初期ほど高感受性であることが明らかになった。我々は、低線量、低線量率放射線、とくにトリチウム水β線の哺乳類初期胚におよぼす影響をみようとしたが、もっとも放射線感受性の高い1-細胞期(前核期)からの試験管内培養法は未だ確立していないことがわかった。

そこで、試験管内受精卵の発生について高率の成績の得られている豊田(北里大学)らの方法から出発し、一部改良を試みたところ好成绩が得られたので報告する。ホルモン処理により過排卵させた BC3F₁ (C3H/C57BL) ♀ マウス卵管膨大部より卵子をとり出し ICR ♂ マウス精巣上体尾部より採取した精子を、1時間37℃にて受精能獲得後、受精させた。受精能獲得および受精には豊田の培養液(豊田, 家畜繁殖誌 16: 147, 1971)に 10μM EDTA を加えたものを用いた。6時間後受精卵(受精率97%)を、やはり 10μM EDTA を加えた Kasai の培養液 (Kasai *et al.* Japan J. Anim. Reprod. 24: 19, 1978) にうつして胚盤胞期まで培養した。胚盤胞形成率65%であったものが EDTA 添加により、安定して95%以上の好成绩をあげられるようになった。この方法を用いてトリチウムβ線の影響を調べたところ2細胞期胚に比べ、前核期(1-細胞期)胚は非常に高感受性であることがわかった。

BC3F₁, ♀のみでなく, C3H, RFM 系マウス♀を用いても受精率は95%以上, 胚盤胞形成率60%以上の好成绩が得られた。ただし, ICR ♀の場合は4細胞期までは発生したが胚盤胞形成にはいたらなかった。