

20. ウシ凍結精液による人工授精技術の修正と高度化

農林水産研究指導センター畜産研究部・畜産技術室¹⁾

○後藤雅昭・佐藤邦雄・岡崎哲司¹⁾

【背景】

牛における受胎率低下の要因は、遺伝、飼養環境、雌牛の繁殖機能、あるいは人工授精の技術の良否など様々である。その中で凍結精液を用いた人工授精が前提となる牛の繁殖においては、①凍結精液の品質の改善、②精子機能性の保持、③それら精子の適切な人工授精法ができれば、受胎率を全体的に向上させる可能性がある。これまでの研究の結果、当研究部では、ブタ凍結精液技術開発の中で①～③を改善できる知見を得ている。今回、その知見をウシ凍結精液に応用することで、融解後も高い精子運動能力を有した凍結精液技術の開発を試みたので、その概要を報告する。

【試験方法】

(1) 季節変動が凍結融解後の精子の運動能力に及ぼす影響の検討

寿恵福、藤平茂及び隆茂 38 を供試牛とし、環境要因が作用しないようにそれぞれ牛の月齢を固定して解析を行った。精子運動パラメーターは CASA 運動解析装置にて、細胞膜は PI-SYBR14 を用いてフローサイトメトリーで解析した。先体膜正常率は FITC-PNA にて免疫染色し、蛍光顕微鏡下で正常先体数をカウントした。

(2) 融解液を封入した新規ストロー法の効果検証

精子と卵黄の凍結保存液の混合物をそのまま封入している従来法と、その混合物をストローの中心に位置し、融解液で挟み込む新規ストロー法について、融解後の精子の機能性を比較検討した。

【結果および考察】

(1) 季節変動が凍結融解後の精子の運動能力に及ぼす影響の検討

融解 3 時間後において、冬季に採精・作製された凍結精子(以下、冬季精子)が最も高い精子運動率、精子直進速度を示した。特に運動率では、夏季と比較して有意に高い値を示していた ($P<0.01$)。また、精子細胞膜および先体膜正常率においては、いずれの季節の凍結融解精子も有意な差は観察されなかったが、冬季精子の細胞膜は最も正常に細胞膜を保持していた。これらの結果から冬季精子が最も受精能力を保持していると推察された。

(2) 融解液を封入した新規ストロー法の効果検証

融解後の精子運動率は、従来法のそれが低下し始める 7 時間後でも新規ストロー法においては高い値を維持しており、20 時間経過しても若干の低下程度であった。また、精子直進速度においても、従来法では、3 時間後以降急激に低下したのに対し、新規ストロー法では 7 時間後以降でも高い値を示し、融解直後の運動パラメーターが持続していた。これは、融解液との混合によるグリセリン毒性の回避、従来法には高濃度で含有されていないグルコースなどの糖類、抗酸化剤や、受精能獲得抑制剤などの要因が正の作用を発揮させたと考えられた。