



ウシ血清アルブミン濃度がラット体外受精におよぼす影響

三宅, 正史
加藤, 征史郎

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 19(2):149-156

(Issue Date)

1991-01

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00200530>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00200530>



ウシ血清アルブミン濃度がラット体外受精におよぼす影響

三宅 正史*・細井 美彦**・内海 恭三**

加藤 征史郎*・入谷 明**

(平成2年8月10日受理)

EFFECTS OF CONCENTRATIONS OF BOVINE SERUM ALBUMIN ON IN VITRO FERTILIZATION IN RATS

Masashi MIYAKE, Yoshihiko HOSOI, Kyozeu UTSUMI,

Seishiro KATO and Akira IRITANI

Abstract

Effects of crystallized (cBSA) and essentially fatty acid-free bovine serum albumin (-FA-BSA) on in vitro fertilization in rats were examined. The optimum concentrations of cBSA and -FA-BSA for in vitro fertilization in rats were 1.0-8.0 and 1/2-2.0 mg/ml, respectively. The minimum concentration of BSA for sperm capacitation and penetration into zona pellucida in vitro was 1/8 mg/ml in the both cases. In a medium with insufficient BSA, the rates of eggs penetrated, undergoing fertilization and with pronuclei were decreased, suggesting that sperm penetration and/or pronuclear formation was delayed.

-FA-BSA was more effective than cBSA for sperm capacitation and fertilization in vitro in a medium containing BSA at a level of 1/8-2.0 mg/ml. However, more than 8.0 mg/ml of -FA-BSA showed a cytotoxic effect against spermatozoa, i.e. sperm motility was dramatically decreased and no egg was penetrated by a spermatozoon.

As BSA concentration was increased, pH value of a medium was decreased. It was less than 6.9 in a medium with 32.0 mg/ml of BSA. Adjustment of pH of a medium with 32.0 mg/ml of BSA to 7.4-7.6 improved rates of penetrated and undergoing fertilization eggs in one of three lots of cBSA, but not in others.

These results suggest that -FA-BSA has stronger ability of inducing sperm capacitation than cBSA in rats.

緒 言

種々の動物の血清は、その透析性成分と血清アルブミン分画の存在下において、不活化血清と同じように、ゴールデンハムスターの精巣上体精子の受精能獲得を誘起できることが、YANAGIMACHI (1970)²⁴⁾ によって明らかにされた。それ以来、哺乳動物の体外受精における血清アルブミンの重要性が明らかになり、とくにウシ血清アル

ブミン (BSA) は多くの哺乳動物の体外受精に用いられるようになった。その後、BSAは多くの哺乳動物精子の受精能獲得やアクロゾーム反応の誘起に必要なことが示されている^{13, 25)} が、モルモット精子は血清アルブミンを含まない単純な塩類溶液中でも、受精能獲得を起こすことが明らかにされている^{1, 2)}。ゴールデンハムスターでは、脂肪酸の含有率がcBSAより低いBSAが、cBSAより効果的にアクロゾーム反応を誘起できる^{10, 11)}。マウスでは、種々のアルブミンや結晶性BSA (cBSA) の濃度が、体外受精におよぼす影響について検討されている^{7, 16)}。

* 家畜繁殖学研究室

** 京都大学農学部畜産学科家畜繁殖学研究室

ラットにおいては、ウシ血清および卵白アルブミンの体外受精への影響が明らかにされ³⁾、cBSAがラットの体外受精に良好な結果をもたらすことが示されている。さらにBSAの有無が、ラットの体外受精に大きな影響を与えることも明らかになった^{3,15)}。しかし、ラットにおいては、これらのアルブミンの濃度や純度がどのように受精現象に影響するかについて、詳細な検討がなされていない。

本研究は、一般にラットの体外受精に用いられるcBSAの必要最低濃度ならびに適正濃度を明らかにするとともに、脂肪酸の含有率が低いBSAのラット体外受精における効果について、cBSAと比較検討することを目的として行った。

材料及び方法

自然の明暗条件下で飼育されたWistar系の21-26日齢の幼若雌ラットに、23:00-00:30の間に10-15iuのPMSGを注射し、その約48時間後に10-15iuのhCGを注射して過排卵誘起を行った。hCG注射の14-16時間後に動物を屠殺した。卵管を摘出し、プラスチックシャーレ内で、流動パラフィンで覆われたスポット状の培養液中にて前培養した精子懸濁液の横に、摘出した卵管を入れた。金属針を用いて、卵管膨大部から顆粒膜細胞に包まれた卵子を採取し、顆粒膜細胞-卵子塊を精子懸濁液中に導入して授精した^{14, 18)}。

培養液は、ウシ血清アルブミンを含まない修正Krebs-Ringer's Bicarbonate^{18, 23)} (以下mKRBと略記)を基本として、これに0, 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 および32.0 mg/mlの結晶性ウシ血清アルブミン (Crystallized and lyophilized bovine serum albumin, Sigma, 以下cBSAと略記)、あるいは低脂肪酸含有ウシ血清アルブミン (Essentially fatty acid-free bovine serum albumin, Sigma, 以下FA-BSAと略記)を加えた培養液内で精子の前培養ならびに授精を行った。

6カ月齢を越える体重450g以上の同系の成熟雄ラットの精巣上体尾部から採取した精巣上体精子塊を一滴、流動パラフィン下のBSAを含まない培養液中に入れ、15-20分炭酸ガス培養器内(37℃, 5%CO₂, 空気 95%, 湿潤)に静置した。精子の自然拡散を待って、原精子液を作成した。0.4mlずつプラスチックシャーレ内に入れ、流動パラフィンで覆った各濃度のBSAを含む培養液に、上記の原精子液を5-10μlずつ添加し、これらの精子浮遊液を5-5.5時間、炭酸ガス培養器内に静置して

前培養を行った。こうして作成された前培養後の精子浮遊液に、hCG注射の14-16時間後に卵管膨大部から、上記のようにして採取された顆粒膜細胞に包まれた卵子塊を加えて授精を行った。5-6時間炭酸ガス培養器内で培養後、卵子を取り出し、2.5% Glutaraldehydeを含むリン酸緩衝液(pH7.4)で短時間固定後、リン酸緩衝10%中性ホルマリン(pH 7.4)によって8-20時間、後固定した。固定した卵子は0.25% Aceto-lacmoidで染色後、精子の侵入の有無と卵子に侵入した精子頭部の状態を位相差顕微鏡下で観察した。授精時の精子濃度は $18-50 \times 10^4$ sperm/mlであった^{14, 18)}。

cBSAの添加による培養液のpHの変化を調べるために、培養液と同じ濃度(2.0mg/l)のフェノールレッドを含む0.1M-リン酸緩衝液を用いて、pH 6.8-8.0の範囲においてpH 0.1間隔の基準液を作り、培養液の色と比較することによって、精子の前培養終了時と培養終了時に各培養液のpHを調べた。なお一部の実験において、32.0 mg/mlのBSAを含む培養液のpHを1N-NaOHを用いて、7.4-7.6に補正してから精子の前培養ならびに受精実験に用いた。

結 果

種々の濃度のcBSA存在下における精子侵入卵率、受精途上卵率ならびに卵細胞質内に侵入した精子頭部の状態をTable 1に示した。cBSAの濃度が0.5-8.0 mg/mlの範囲では、受精途上卵率は、いずれのBSA濃度下においても90%を越える高い値が得られ、安定した結果であった。cBSAの濃度がこの範囲を越えた場合は、その増減にかかわらず、精子侵入卵率および受精途上卵率が低下し、1/16 mg/ml以下のcBSAしか含まない培養液中ではまったく精子侵入卵が観察されなかった。1.0-8.0mg/mlのcBSAを含む培養液中では、受精途上卵の95-100%の卵子において、卵細胞質内に侵入した精子頭部が、前核形成期にまで達していた。1/2 mg/mlの濃度区ではいくぶん精子侵入卵率、受精途上卵率の低下がみられるものの、なお受精途上卵の80%が前核形成期に達していた。これに対し、cBSA濃度が16 mg/ml以上ならびに1/4 mg/ml以下の区においては、受精途上卵率が低いだけでなく、前核形成卵の割合も低下した。とくに、1/4および1/8 mg/mlの低濃度のcBSAを含む区においては、受精途上卵率が約40%に低下しているだけでなく、これらの受精途上卵の90%以上が、受精後5-6時間に至っても膨化精子頭部を有しており、精子侵入あるいは前核形成の遅れが示唆された。

Table 1. Effect of concentration of crystallized bovine serum albumin (cBSA) on in vitro fertilization of rat eggs.

BSA concent- ration (mg/ml)	Number (%) of eggs				
	Exam- ined	Penet- rated	Undergoing fertilization		
			Total	With enlarged sperm head	With pro- nucleus
32.0	50	6 (12)	4 (8)	3 (75)	1 (25)
16.0	52	14 (27)	14 (27)	7 (50)	7 (50)
8.0	49	48 (98)	48 (98)	1 (2)	47 (98)
4.0	83	83 (100)	83 (100)	0 (0)	83 (100)
2.0	46	39 (85)	39 (85)	2 (5)	37 (95)
1.0	75	65 (87)	65 (87)	2 (3)	63 (97)
1/2	61	57 (93)	55 (90)	11 (20)	44 (80)
1/4	59	24 (41)	24 (41)	23 (96)	1 (4)
1/8	41	16 (39)	16 (39)	15 (94)	1 (6)
1/16	38	0 (0)	—	—	—
0	41	0 (0)	—	—	—

Table 2. Effect of concentration of essentially fatty acid-free bovine serum albumin (-FA-BSA) on in vitro fertilization of rat eggs.

BSA concent- ration (mg/ml)	Number (%) of eggs				
	Exam- ined	Penet- rated	Undergoing fertilization		
			Total	With enlarged sperm head	With pro- nucleus
8.0	14	1 (7)	0 (0)	—	—
4.0	45	14 (31)	13 (29)	5 (38)	8 (62)
2.0	18	18 (100)	18 (100)	0 (0)	18 (100)
1.0	36	36 (100)	36 (100)	0 (0)	36 (100)
1/2	49	49 (100)	49 (100)	0 (0)	49 (100)
1/4	50	41 (82)	41 (82)	22 (54)	19 (46)
1/8	24	23 (96)	23 (96)	18 (78)	5 (22)
1/16	37	0 (0)	0 (0)	—	—

-FA-BSAについて同様の実験を行った結果をTable 2に示す。-FA-BSAの濃度が1/4-2.0 mg/mlの培養液中では、80%を越える高い受精途上卵率が得られ、-FA-BSAはcBSAよりも低い濃度においても、ラットの体外受精に効果的であった。しかし1/4および1/8 mg/mlの区においては、cBSAと同様に膨化精子頭部を保有する卵子の割合が50%を越え、精子侵入または前核形成に遅れが認められた。一方、4.0 mg/mlを越える比較的高い濃度の-FA-BSAの存在下では、cBSAに比べ、著しく受精途上卵率が低下し、8.0 mg/ml以上の-FA-BSAを含む培養液中では、まったく受精途上卵が得られなかった。BSA無添加区では、精子の運動性の低下が著しかった。

多精子受精卵はcBSA、-FA-BSAともに受精途上卵率が高いBSA濃度区において、高かった (Fig.1)。一方1/4 mg/ml以下の低濃度BSAを含む培養液中では、いずれのBSAを用いた場合においても、Plate 1に示すような、卵子側の染色体が分散する異常卵が多く観察された (Fig.2)。このような異常卵は、1/2 mg/ml以上のBSAを含む培養液中で得られた受精卵には、ほとんど観察されなかった。

BSAの添加により、BSA濃度の増加にともなったpHの低下が認められたので、cBSA添加によるpHの変化についてTable 3に示した。高濃度のBSA添加により、pHがかなり低下することから、受精率の低下の原因として、pHの低下による可能性が考えられたので、1N-NaOHでpHを7.4-7.6に補正した培養液内で精子を前培養し、その後卵子を加えて授精を行った。その結果、Table 4に示したように、-FA-BSAでは受精率の改善が認められなかったが、cBSAではLot No.によって、受精率が著しく改善された。

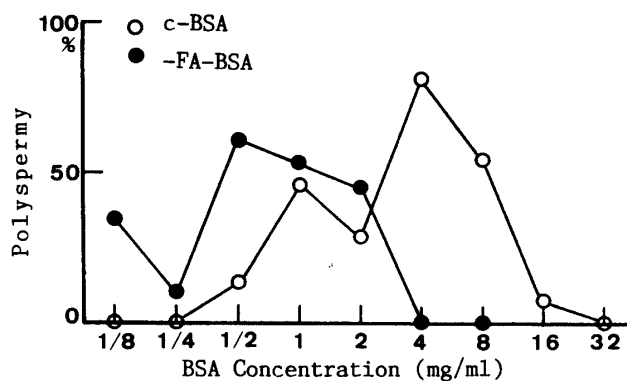


Fig. 1. Incidence of polyspermic fertilization in vitro in a medium with various concentration of bovine serum albumin.

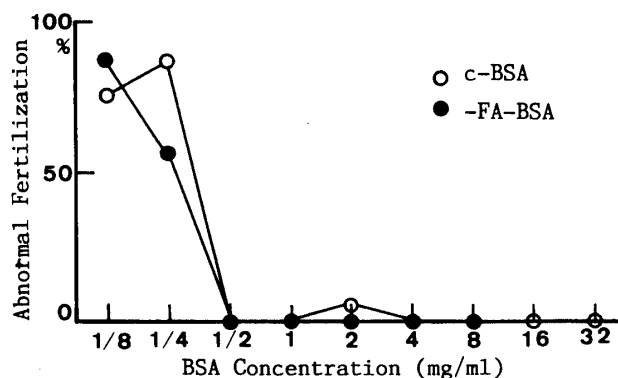


Fig. 2. Relationship between bovine serum albumin concentration and the occurrence of abnormal fertilization in vitro.

Table 3. pH Values of modified Krebs-Ringer's bicarbonate solution containing various concentrations of crystallized bovine serum albumin

BSA concentration (mg/ml)	pH Values	
	At insemination	After incubation
32.0	<6.9	<6.9
16.0	6.9-7.0	6.9-7.0
8.0	7.1-7.3	7.1-7.3
4.0	7.3-7.5	7.4-7.5
2.0	7.4-7.6	7.4-7.6
1.0	7.4-7.6	7.4-7.6
1/2	7.5-7.7	7.5-7.7
1/4	7.5-7.7	7.5-7.7
1/8	7.5-7.7	7.6-7.7
1/16	7.5-7.8	7.6-7.8
0	7.5-7.8	7.7-7.9

Table 4. In vitro fertilization of rat eggs in a medium including 32.0 mg/ml of bovine serum albumins after adjustment of pH to 7.4-7.6.

Lot No. of BSA	Adjust- ment of pH	Number (%) of eggs				
		Exam- ined	Penet- rated	Undergoing fertilization		
				Total	with enlarged sperm head	with pro- nucleus
cBSA						
1	+	32	30 (94)	30 (94)	0 (0)	30(100)
	—	32	8 (25)	8 (25)	2 (25)	6 (75)
1	+	25	25(100)	25(100)	0 (0)	25(100)
	—	23	4 (17)	4 (17)	4(100)	0 (0)
2	+	59	0 (0)	-	-	-
	—	24	3 (13)	1 (4)	1(100)	0 (0)
3	+	28	0 (0)	-	-	-
	—	29	8 (28)	8 (28)	3 (38)	5 (62)
-FA-BSA						
	+	29	0 (0)	-	-	-
	—	26	0 (0)	-	-	-

cBSA : Crystallized and lyophilized bovine serum albumin (Sigma, No. A-4378).

-FA-BSA : Essentially fatty acid-free bovine serum albumin (Sigma, No. A-7511).

考 察

本実験に使用したBSAのラット体外受精に適する濃度は、受精途上卵率、および侵入精子頭部の雄性前核への発育の割合から推察すると、cBSAでは1.0-8.0mg/ml、-FA-BSAでは1/2-2.0 mg/mlであった。ゴールデンハムスターでは、BSAに含まれる脂肪酸がBSAのアクロゾーム反応誘起能力を低下させるため、脂肪酸含有率の低い-FA-BSAがより効果的にアクロゾーム反応を誘起することが報告されている^{10, 11, 13)}。ゴールデンハムスターと異なり、ラットでは4.0 mg/mlを越えて-FA-BSAが存在すると、体外受精に適さないことが明

らかになった。さらに8.0 mg/mlを越えて-FA-BSAが存在する場合には、むしろラット精子の運動性が阻害され、精子に対する細胞毒性作用が示唆された。この原因は明らかではないが、(1)ハムスターとラットではBSAのあるいは脂肪酸の精子に対する作用機序、あるいは膜の性質が異なる。(2)Luiら^{10, 11)}はアクロゾーム反応の誘起性によってBSAの精子に対する効果を検討しているが、本実験では体外受精における受精率でその効果を検討している、などが両者の差の原因と考えられる。また、市販されているBSAのLot間差が大きいことが、ウサギ胚の培養によって確かめられており⁸⁾、ここで使用したcBSAについても、LotによりpH補正後の受精の結

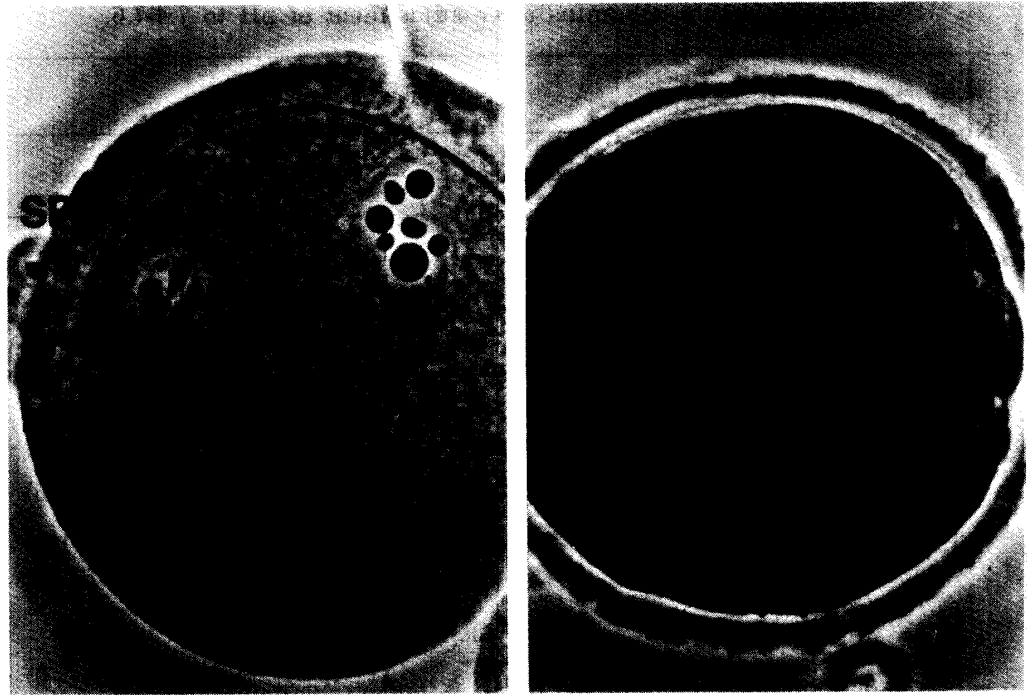


Plate 1. In vitro fertilized eggs fixed 5.5 h after insemination. $\times 600$.

1. A normal egg with male and female pronuclei.
It was inseminated with preincubated spermatozoa in mKRB including 4.0 mg/ml of crystallized bovine serum albumin.
2. An egg with dispersed chromosomes (arrows).
It was inseminated with preincubated spermatozoa in mKRB including 1/4 mg/ml of crystallized bovine serum albumin.

ES: enlarged sperm head, FP: female pronucleus,
MP: male pronucleus, SPB: second polar body, ST: sperm tail in vitellus

果が著しく異なっている (Table 3)。したがって、本実験に用いた-FA-BSAのLotに問題があったことも否定はできない。しかし本実験に用いた-FA-BSAは、1/8~2.0 mg/ml の低濃度において受精能獲得の促進効果を示している。

本実験では、いずれのBSAにおいても1/16 mg/ml以下の濃度では全く卵子への精子侵入が認められず、ラット精子が体外において卵子に侵入するには、少なくとも1/8 mg/ml以上のBSAが必要であることが明らかとなった (Table 1,2)。また、BSAを含まない培養液中では、まったく精子侵入卵が認められなかったが、宮本¹⁵⁾の報告では、わずかながら受精途上卵が得られている。

彼らの実験系では、精子の受精能獲得の段階から卵子とともに、顆粒細胞膜やそれに伴った排卵産物および卵管液が導入されていることに加え、原精子液に4.0 mg/mlのBSAが含まれており、それが原精子液を希釈するときに受精の場に導入されていることが原因と考えられる。マウスでは0-50 mg/mlのcBSAを含む培養液中において、精子侵入卵、受精途上卵が得られているが、cBSAを含まない場合は、非常に受精成績が悪い^{7,16)}。Hoppe and Whitten⁷⁾によると、マウスでは、3.0-30.0 mg/mlのcBSAの濃度において安定した受精成績が得られ、この濃度が最適濃度と考えられている。ラットにおいては、16.0 mg/mlを越えるBSAを含む培養液では、

cBSAを用いた場合においても、受精率が明らかに低下し (Table 1)、この点においてマウスと明確に異なっている。FRASER and DRURY⁶⁾ は、マウスにおいて、高精子濃度の条件下でも体外で安定した受精率を得るには、32.0 mg/ml程度のcBSAの存在が必要であると述べている。しかし、高濃度のBSAを加えると、Table 3 に示されるように、培養液のpHが著しく低下し、cBSAの濃度が16.0 mg/mlを越えると、pH 7.0以下にまで低下する。マウス、ゴールデンハムスターやラットでは、アクロゾーム反応の誘起や体外受精には、pH7.2以上が最適とされている^{12, 17)}ことから、FRASERらの推察⁶⁾との間に矛盾がある。

このように、16.0 mg/mlを越えるBSAを含む培養液中においてラット精子を前培養した場合に、体外受精率が低下する原因として、pHの著しい低下が原因の一つと考えられたので、32.0 mg/mlのcBSAおよび-FA-BSAを含む培養液のpHを、7.4-7.6にまで1N-NaOHを用いて補正した後、同様の実験を行った。その結果、cBSAでは、Lot間差が大きく、LotによってはpH調整後に沈殿を生じ、まったく体外受精に使用できないものもあった。しかし、一部のLotでは著しく受精率が向上したことから、少なくともcBSAにおいては、実験に用いる培養液の、BSA添加によるpHの低下が、体外受精率低下の原因の一つと考えられる (Table 3, 4)。-FA-BSAでは一つのLotを検討したにすぎないが、pHの補正後もまったく受精率の向上が見られず、この実験に用いた-FA-BSAが高濃度で培養液中に存在すること自体に問題があると考えられる。BSAがラット精子の体外での受精能獲得誘起や、受精に効率良く機能するには、cBSAでは1/2 mg/ml (約7.6 mM)、-FA-BSAでは1.0 mg/ml (約3.8 mM) 以上存在することが必要であり、その濃度がcBSAでは16.0 mg/ml、-FA-BSAでは4.0 mg/mlを越えると、受精に悪影響が生じる。ゴールデンハムスターにおいてはBSAがアクロゾーム反応誘起に直接作用することが明らかにされており¹¹⁾、BSAに含まれる脂肪酸が、その効果を迎える^{10, 11)}。このようにBSAが、精子膜の脂肪酸やコレステロールに作用し、膜の不安定化、あるいは流動性の増加に寄与している^{13, 25)}。本実験では、-FA-BSAが4.0 mg/ml以上培養液に含まれる場合、ラット体外受精には適さない結果が得られ、ゴールデンハムスターの結果が、他の動物種に必ずしも適用されないことが示唆された。マウスにおいては、-FA-BSAは、15 mg/mlの濃度では Fraction VのBSAと同じ程度の受精率が得られ

る。しかし、Luiら¹¹⁾ がゴールデンハムスター精子のアクロゾーム反応の誘起率を著しく改善できるとした脂肪酸含有率のさらに低い-FA-BSAは、マウス精子の透明帯除去卵子との受精能を誘起できるが、透明帯通過能は誘起できない²⁰⁾ ことが知られている。すなわちマウスでは-FA-BSAによって、過度のアクロゾーム反応が誘起され、受精率の改善につながらない。本実験では透明帯除去卵子への精子侵入能について検討していないので、ラットにおいてもマウスと同じように、-FA-BSAによって過度のアクロゾーム反応が誘起され、精子の透明帯通過能をすでに失っている可能性が充分考えられる。

ラットでは、コレステロールの添加により、BSAの精子の受精能誘起能力が、著しく減少することが知られている^{3, 4)}。したがって、ゴールデンハムスター¹⁰⁾ やマウス^{19, 21, 22)} において、脂肪酸添加により、受精やアクロゾーム反応が抑制されるのと同じように、ラットにおいても、脂肪酸あるいはコレステロールが精子膜の流動性に影響する²⁵⁾ ものと考えられるが、さらに詳しい検討を必要とする。LANGLAIS and ROBERTS(1985)⁹⁾ によると、BSAあるいは血清アルブミンを含む子宮液や卵管液などの存在下において、膜結合性のコレステロールが高率に細胞膜から搬出される。また、精子の受精能獲得には、BSAが直接精子の膜と接触する必要があることから、BSAは精子の膜から直接コレステロールを除去すると考えられている⁵⁾。1/8~2.0 mg/mlの低い濃度では、-FA-BSAの方が cBSAよりラット精子の受精能獲得を誘起する作用が高いことが、本実験の結果から推察される (Table 1, 2)。これらのことから、-FA-BSAの精子細胞膜からコレステロールや脂肪酸を除く作用が、cBSAより強いことが示唆される。4.0 mg/ml以上の-FA-BSAが存在することにより、ラット精子膜からコレステロールが過度に除去され、膜のインテグリティの維持に障害を来すと仮定すると、高濃度の-FA-BSA存在下では精子の運動性の低下が早まり、-FA-BSAが細胞毒性に類似した作用を示すことも説明できる。

本実験において、BSA含量が1/4 mg/ml以下の培養液中では、いずれのBSAにおいても高率に膨化精子頭部を保有する卵子が観察され、BSAの濃度の低下によって、受精能獲得率が低下するとともに、受精能獲得誘起に要する時間がより長くなることが示唆された (Table 1, 2)。また、低いBSA濃度下において顕著であった雌性核の異常 (Plate 1) の原因は明らかではないが、BSA濃度が1/2 mg/ml以上の区においては、このよう

な異常がほとんど観察されない (Fig.2) ことから、BSA 濃度の低下がこの異常の原因と考えられた。

要 約

結晶性ウシ血清アルブミン (cBSA) と低脂肪酸含有ウシ血清アルブミン (-FA-BSA) の濃度が、ラットの体外受精に及ぼす影響について検討した。cBSA ならびに -FA-BSA のラット体外受精における最適濃度は、それぞれ 1.0~8.0 mg/ml、1/2~2.0 mg/ml であった。精子の卵細胞への侵入には、前培養ならびに受精の場に少なくとも 1/8 mg/ml の BSA を必要とした。最適濃度より低い BSA 濃度下では、受精途上卵率の低下とともに、受精後 5-6 時間に卵子を固定した場合、膨化精子頭部を保有する卵子の割合が増加し、精子侵入あるいは前核形成に遅れが認められた。BSA 濃度が 1/8~2.0 mg/ml の範囲では、精子侵入卵率ならびに前核形成卵率は、-FA-BSA の方が高かったが、4.0 mg/ml 以上の濃度では cBSA の方が受精成績が良かった。cBSA では 32.0 mg/ml の濃度においても、受精卵が得られたが、8.0 mg/ml 以上の -FA-BSA が培養液中に存在すると、培養中に精子運動性の低下が観察され、まったく受精卵が得られなかった。

BSA の濃度が 16.0 mg/ml を越えると、培養液の pH が 7.0 以下に低下し、受精率低下の一因であることが考えられたので、pH を 7.4~7.6 に補正した上で実験に供したところ、cBSA では Lot によって著しく受精率が改善されたが、-FA-BSA ではやはり受精卵が得られなかった。

以上の結果から、-FA-BSA の方が cBSA よりラット精子の受精能獲得誘起作用が強いことが示唆された。

引用文献

- 1) BARROS, C.: In *Physiology and genetics of reproduction*. Part B. eds. COUNTINHO, E. M. and F. FUCHS, pp 3-24, Plenum Press, New York, 1974.
- 2) BARROS, C., M. BERRIOS and E. HERRERA : *J. Reprod. Fert.*, 34, 547-549, 1973.
- 3) DAVIS, B.K.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 151, 240-243, 1976.
- 4) DAVIS, B.K.; *Symposium on the pharmacological effects of lipids*. pp145-158, AOCS Monograph No.5., Champaign, 1978.
- 5) Dow, M.P. and B.D. BAVISTER : *Gamete Res.*, 23, 171-180, 1989.
- 6) FRASER L. R. and L. M. DRURY : *Biol. Reprod.*, 13, 513-518, 1975.
- 7) HOPPE, P. C. and W. K. WHITTEN : *Biol. Reprod.*, 15, 39-45, 1974.
- 8) KANE, M. T. and D. R. HEADSON: *J. Reprod. Fert.*, 60, 469-475, 1980.
- 9) LANGLAIS, J. and K.D. ROBERTS : *Gamete Res.*, 12, 183-224, 1985.
- 10) LUI, C. W. and S. MEIZEL : *Differentiation*, 7, 59-66, 1977.
- 11) LUI, C. W., E. CORNETT and S. MEIZEL : *Biol. Reprod.*, 17, 34-41, 1977.
- 12) MAHI, C. A. and R. YANAGIMACHI : *J. Reprod. Fert.*, 35, 55-66, 1973.
- 13) MEIZEL, S.: In *Development in mammals*. Vol. 3., ed. JOHNSON, M. H., pp1-62, North-Holland Biochemical Press, 1978.
- 14) 三宅 正史・丹羽 皓二・入谷 明 : 日畜会報, 49, 739-744, 1978.
- 15) 宮本 元・石橋 武彦 : 日畜会報, 46, 487-493, 1975.
- 16) MIYAMOTO, H. and M. C. CHANG : *J. Reprod. Fert.*, 32, 193-205, 1973.
- 17) MIYAMOTO, H., Y. TOYODA and M. C. CHANG : *Biol. Reprod.*, 10, 487-493, 1974.
- 18) 丹羽 皓二・三宅 正史・入谷 明・西川 義正 : ホルモンと臨床, 24, 663-669, 1976.
- 19) QUINN, P. and J. D. STANGER : *J. Exp. Zool.*, 227, 487-490, 1980.
- 20) QUINN, P. and WHITTINGHAM, D. G. : In *In vitro fertilization and embryo transfer*. eds. HAFEZ, E. S. E. and K. SEMM, pp31-36, MTP Press Lim., Lancaster, 1982.
- 21) QUINN, P. and D. G. WHITTINGHAM : *J. Androl.*, 3, 440-444, 1982.
- 22) QUINN, P., J. D. STANGER and D. G. WHITTINGHAM : *Gamete Res.*, 6, 305-313, 1982.
- 23) TOYODA, Y. and M. C. CHANG : *J. Reprod. Fert.*, 36, 9-22, 1974.
- 24) YANAGIMACHI, R.: *Biol Reprod.*, 3, 147-153, 1970.
- 25) YANAGIMACHI, R.: In *Fertilization and embryonic development in vitro*. eds. MASTROIANNI, L. Jr. and J. D. BIGGERS pp81-182, Plenum Press, 1981.