

第15回麻布大学 生殖・発生工学セミナー

ウシ胚のガラス化保存

秋山 清

神奈川県農業技術センター畜産技術所

ウシの胚移植技術は農家に普及し、優良後継牛の生産や黒毛和種肥育素牛の生産に広く活用されている。現在、国内で実施される胚移植のおよそ8割は凍結胚移植で占められており、プログラムフリーザーを用いて緩慢凍結した胚を農場内で融解し直ちに受胎牛に移植する方法が一般的である。一方、胚移植の付加価値を高めるために性判別胚を利用した雌雄の子牛の選択的な生産が取り組まれているが、性別判定のために一部の細胞を切除された胚は一般的な緩慢凍結では良好な受胎率が得られず、技術普及の課題となってきた。

ガラス化保存は、高濃度の耐凍剤を含む溶液に平衡した胚を極めて急速に冷却することにより氷晶形成を伴わない超低温保存法であり、緩慢凍結と比較して、植氷やプログラムフリーザーを用いた冷却などが不要なばかりでなく、胚の生存性の低下が極めて少ないことから、性判別胚や体外生産胚等の耐凍能の低い胚や卵子の超低温保存に利用されている。しかし、高濃度の耐凍剤を除去するためには実験室での操作が必要であり、農場段階での利用には不向きである。演者は、道県研究機関の共同研究において、ガラス化保存したウシ性判別胚をストロー内で希釈し直ちに受胎牛に移植する方法の農場段階での実用性を検討してきた。

【ガラス化保存胚のストロー内希釈】

0.25 ml ストローに25%エチレングリコールと25% DMSO を含むガラス化液とともに胚を充填し、直ちに

液体窒素蒸気中で冷却しガラス化保存した。加温後は、ストロー内に配置した5%エチレングリコール0.15M シュークローズ液と胚を含むガラス化液をストロー内で混合することにより耐凍剤を希釈した。ストロー内希釈後の胚を直ちに受胎牛に移植した受胎率と、胚の生存性を確認した後に移植した受胎率の間に有意差は認められなかった。しかし、ガラス化保存前の胚の品質やストロー内希釈後の経過時間により受胎率が低下する可能性が示唆された。

【超急速ガラス化胚のストロー内希釈】

クライオトップのシート部先端に15%エチレングリコール、15% DMSO、0.5M シュークローズ液を含むガラス化液とともにウシ性判別胚を置き、直ちに液体窒素に浸漬してガラス化保存した。加温と耐凍剤の希釈は、0.2M シュークローズ液を充填し38℃に加温した移植用0.25 ml ストロー内にクライオトップのシート部を挿入して行い、ストロー内希釈後の胚を直ちに受胎牛に移植した受胎率は、胚の生存性を確認した後に移植した受胎率と同等であった。

1. Akiyama et al., *Animal Science Journal* 2010; 81: 461-466.
2. Akiyama et al., *Journal of Mammalian Ova Research* 2012; 29: 60-64.
3. 小田頼政 他 *日本胚移植学雑誌* 2005; 27: 65-71.
4. 佐野文彦 他 *日本胚移植学雑誌* 2010; 32: 113-119.