

# 受胎性の高いウシ体外受精胚ガラス化保存法の開発

## 1 背景と目的

経膣採卵・体外受精技術によって、生きたウシから反復して数多くの体外受精胚を作出できるようになった。経膣採卵は、1週間に1回のペースで採卵が可能で、1回の採卵で3~5個の移植可能な胚盤胞期胚を作出できる。

しかしながら、この様にして作出した体外受精胚は体内受精胚と比較して凍結に対する抵抗力（耐凍性）が劣るため、従来の緩慢凍結法では保存が困難で、新鮮胚でしか利用することができなかった。

当センターでは、体外受精胚の利便性を高めるために、超急速で冷却するガラス化法（マイクロドロップレット法）を利用して、保存・融解後の胚盤胞期胚の生存性や品質を維持し、高い受胎性を維持できる保存技術の開発を行った。

## 2 研究成果の概要

- (1) ガラス化法をウシ体外受精胚の保存に利用することで、体内受精胚に加え、体外受精胚も受精胚移植に対する利便性が格段に向上した。
- (2) 従来の緩慢凍結法と比較して、ガラス化法では、融解後の胚の生存性が12.8ポイント改善した（図1、写真1）。
- (3) 従来の緩慢凍結法と比較して、ガラス化法では、融解後の胚の細胞数が28.5細胞増加し、品質低下を改善させた（図2、写真2）。
- (4) ガラス化保存された品質の高い胚を受胎牛の子宮に戻すことで高い受胎率が得られる（図3）。
- (5) ガラス化法は、高濃度の耐凍剤（30%エチレングリコール）の中にウシ胚を浸漬し-2,000 /分という超急速冷却することで、結晶構造を取らない非結晶構造状態の中で保存するため、氷晶による細胞の傷害が起きず、融解後の胚の生存性が高い。
- (6) 液体窒素に、体外受精胚入りのガラス化保存液を1滴滴下することで、半永久的な保存が可能となる（写真3）。
- (7) プログラムフリーザー等の高価な機器を必要とせず、液体窒素を利用して約15分という短時間で胚の保存を行うことが可能で、作業の簡易化と低コスト化を図ることができる。

3 研究期間 平成14年度～16年度

4 実施機関 畜産技術センター

## ガラス化保存で融解後の体外受精胚の生存性・品質（細胞数）が改善

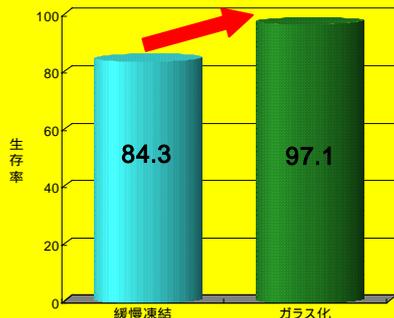


図1 保存・融解後の体外受精胚の生存性

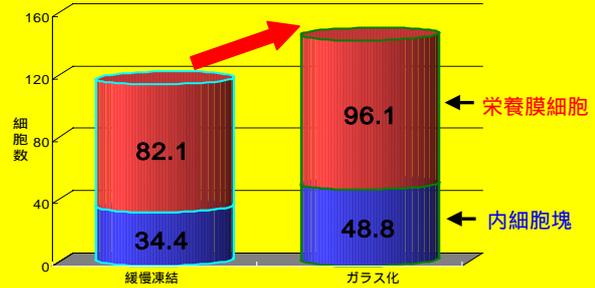


図2 保存・融解後の体外受精胚の細胞数



写真1 ガラス化保存・融解後の体外受精

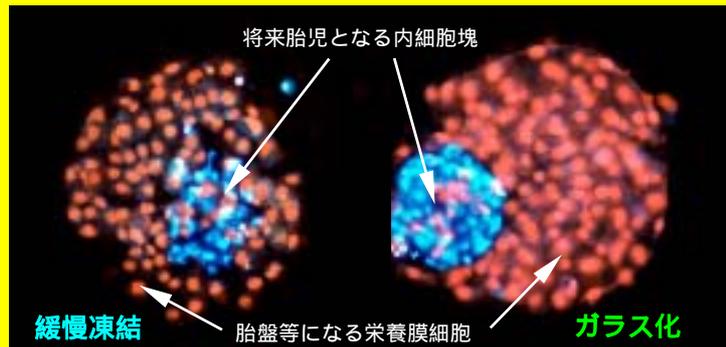


写真2 重染色した保存・融解後の体外受精胚

## ガラス化保存したウシ体外受精胚の受胎性が飛躍的に向上



図3 保存した体外受精胚の受胎性



写真3 ガラス化保存した状態（マイクロ・ロブレット）



ガラス化保存した体外受精胚から誕生した広島牛