

# ウシ卵子のガラス化保存とウシ体外受精胚の非凍結保存に関する研究

三重県畜産研究所 家畜改良繁殖研究課  
主幹研究員兼課長 石井 利通

## はじめに

家畜の育種改良を行ううえで、有用系統や希少系統の遺伝子資源の利活用と保存は必要不可欠である。近年の低温保存技術の発展により、多くの動物種で雌雄の配偶子（精子と卵子）や受精卵（胚）が保存可能となっている。ウシでは、凍結精液を用いた人工授精および胚生産が実用化され、広く用いられている。一方で、低温保存されたウシ卵子から1頭の子牛を得るためには、いまだ100個程度の卵子が必要で、実用的な卵子の低温保存技術の開発が望まれている。加えて、体外受精により生産された胚は、ウシ体内で生産された胚に比べて、低温保存した場合、受胎率が低いため、受胎性の高い胚の非凍結保存技術の開発が望まれている。

## 1. ウシ卵子のガラス化保存技術の開発

ウシ卵巣内の卵子は、卵子、卵子を取り囲む殻（透明帯）及び透明帯を覆う細胞層（卵丘細胞）から構成されている。透明帯に付着する卵丘細胞は、受精を補助する働きがあるが、低温保存された卵子におけるその役割については、十分な検討が行われていない。そこで、3層以上の多層の卵丘細胞（MCCs）の付着したウシ卵子（精子と受精できるまで発育した卵子）の超急速低温保存（ガラス化保存）が、その後の体外受精ならびに胚発生率に及ぼす効果を調査したところ、ガラス化保存されたMCCs付着卵子の体外受精の成功率（分割率）ならびに胚盤胞期胚の発生率（胚発生率）は、新鮮卵子のそれらと差がないことが明らかとなった。

さらに、本知見を用い、と畜場で個体別に回収したウシの卵子（10数個）をガラス化保存し、体外で受精、発生した胚を移植し、個体毎に1から2頭の子牛を得ることができることを明らかにした。

これらの技術を用いれば、実用的にウシ卵子の低温保存ができ、卵子保存後に判明する種々の生体評価、例えばと畜後に判明する肉質情報などを用いた育種改良も可能である。

## 2. ウシ体外受精胚の非凍結保存技術の開発

ウシの胚移植には、受胎率が高い胚盤胞期胚を用いるのが主流である。一方で、体外受精により生産されたウシ胚は、凍結障害を受けやすく、その保存には課題がある。このため、一般的には、胚盤胞期のウシ胚を非凍結条件下で培養（保存）し、輸送、胚移植を行っている。

胚は、将来の胎児や胎盤になる未熟な細胞（未分化な細胞）から構成されている。近年、ヒトの未分化な細胞である幹細胞をヒトの体温より少し低い温度で培養することで、未分化な状態が維持されるとの報告がなされた。そこで、ウシ体温より少し低い温度（MH下）でウシ胚盤胞期胚を長時間培養したところ、ウシ体温下で培養した場合と比べ、生存性は向上し、また、胚直径の拡張の程度が低く保たれ、見た目上発生が抑制されていることが明らかとなった。さらに、MH下で培養されたウシ体外受精胚はウシ体温下で培養された胚と比べ、胚の未分化さを示す遺伝子の発現量、低温応答性タンパク質の遺伝子の発現量がともに高い。

すなわち、胚盤胞期のウシ胚をMH下で培養すれば、ウシ体温下で培養された胚と比べ、胚を胚盤胞期の状態でもより長く生存させることができ、よりよい条件で胚を輸送すれば、胚移植による受胎率の向上が期待できる。