

【抄録】

Improved Survival of Cryopreserved Porcine Morula

Hitoshi USHIJIMA, Ritsuko ESAKI*¹, Hiroki YOSHIOKA*¹, Masashige
KUWAYAMA*², Takashi NAKANE and Hiroshi NAGASHIMA*¹

ブタ桑実胚のガラス化保存の生存性の改良

牛島仁, 江崎律子*¹, 吉岡裕樹*¹, 桑山正成*², 中根崇, 長嶋比呂志*¹

要 旨

細胞質脂肪顆粒除去処置を施したブタ桑実胚のガラス化法について検討した。発情後5日目に回収されるコンパクト桑実胚を7.5 μ g/mlサイトカラシンBを含むTALP中で遠心処置(12000xgで15分間)することにより、細胞質内脂肪顆粒を細胞外へ分離(脂肪分離胚)した。一部の胚では、分離した脂肪顆粒を顕微操作によって除去した(脂肪除去胚)。これらの胚および無処置胚を15%EG、15%DMSO および0.5M シュクロース液から成るガラス化液中で平衡後、クライオトップ(北里サプライ)先端部に載せて直接液体窒素中に浸漬することにより、ガラス化保存した(最少容量冷却法; Kuwayamaら2000年)。胚の融解は、37°Cの1Mシュクロースを含む希釈液中にクライオトップ先端部を投入して行った。凍害保護剤の除去は37°Cの0.5 Mシュクロースを含む希釈液中で5分間行い、その後10%胎児血清添加NCSU23にて洗浄後、同液にて48時間培養し、体外での発生能を調べた。対照として非凍結胚も同時に培養した。各区の胚の発達率、移植可能胚の割合および胚盤胞の細胞数は、無処置凍結胚: 57% (24/42), 50% (21/42), 65 \pm 30; 脂肪分離凍結胚: 76% (29/38), 66% (25/38), 56 \pm 26; 脂肪除去凍結胚: 95% (35/37), 95% (35/37), 92 \pm 25; 非凍結胚: 85% (34/40), 85% (34/40), 103 \pm 31であった。以上より、脂肪顆粒除去操作を施したブタ胚を最少容量冷却法によりガラス化保存することにより、新鮮胚に匹敵する生存性が得られることが示された。

(Theriogenology Vol 59; 316: 2003.)

*1 明治大学農学部生命科学科発生工学研究室

*2 加藤レディースクリニック