



近年では体内受精卵(体内卵)だけではなく、体外受精卵(体外卵)の需要も非常に高まっています。

今回はガラス化液にある種の細菌が出す多糖類を添加して耐凍性を調べた論文を紹介します。

概要・背景

世界での体外卵の総生産個数は2019年には100万個を超え、その利用が大きく広がっている。庭先移植に適したストロー内での緩慢凍結に比べて、高濃度の凍結保護物質と共に液体窒素で急速に凍結するガラス化保存法は受精卵へのダメージが少ないとされる。しかしながらガラス化法は受精卵の融解後に高濃度の凍結保護物質を迅速に希釈・除去する必要があり、普及には至っていない。そこで庭先移植に使いやすいストロー内ガラス化凍結法を用いた際の耐凍性を向上させることを目的に、寒冷地に適応したある種の細菌が出す多糖類(EPS ID1)をガラス化液に添加した際の耐凍性について調べた。

材料・方法

と場由来の卵巣から胚盤胞期胚を作成し、クライオトップあるいはVitTransというストロー内でガラス化を行い直接移植できるデバイスを使用しガラス化を行った。VitTrans区はガラス化液にEPS ID1の添加をした区を設けた。受精卵は融解後に再拡張率と孵化率を測定し、またはRNA抽出を行い細胞死や細胞分化にかかわる遺伝子の発現を定量した。

結果

表 凍結/融解後受精卵の発生率

処理	n	融解後		
		再拡張(%) (3 h)	再拡張(%) (24 h)	孵化率(%) (24 h)
新鮮	52	100 ^a	100 ^a	32.40±3.96 ^a
クライオトップ	51	50.88±6.80 ^b	79.95±3.52 ^b	30.66±5.51 ^a
VitTrans	63	47.71±5.26 ^b	67.45±2.33 ^c	14.09±2.60 ^b
VitTrans-EPS	67	51.90±5.18 ^b	78.98±0.43 ^b	32.00±4.79 ^a

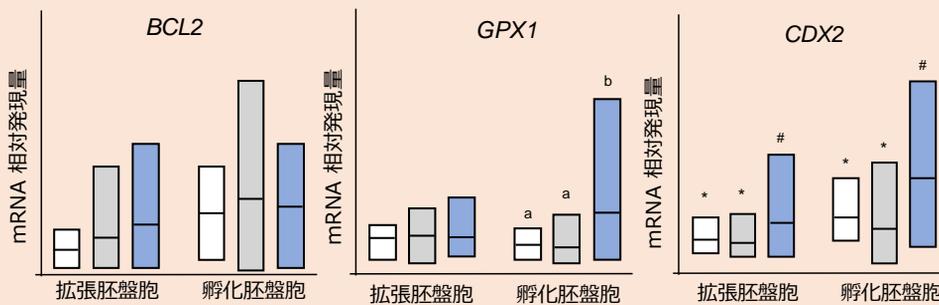
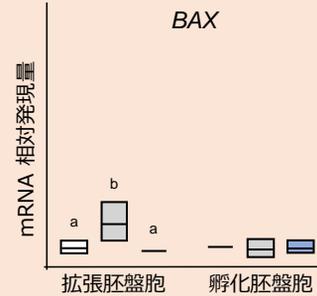


図 凍結/融解後受精卵の遺伝子発現

a,b間に有意差あり($p < 0.05$)
*,#間に傾向あり($p < 0.1$)

- クライオトップ
- ▒ VitTrans
- VitTrans-EPS

表の結果から、EPS-ID1の添加によりストロー内のガラス化であっても、クライオトップでガラス化した時と同等の再拡張率、孵化率が得られました。また、BAX(細胞死が起こる際に上昇)の発現はEPSの添加で抑えられていることから、細胞死が防がれていると推測されました。GPX1(抗酸化酵素で、胚の質に関与する)、CDX2(栄養膜細胞で発現し、受胎率と関係)の発現はEPSの添加で他の区よりも高くなり、受胎性の高い受精卵凍結法である可能性が示されました。ストロー内のガラス化でも高受胎率を確保できれば、体内/体外受精卵の凍結方法として現場で利用していくことができるかもしれませんね。

出典：Martinez-Rodero I, et al. Cryoprotectant role of exopolysaccharide ID1 in the vitrification/in-straw warming of in vitro produced bovine embryos^{****} *Reprod Domest Anim* (2022) . doi: 1111