

## 世界初の凍結乾燥精子による子牛誕生

### 【背景】

現実または潜在的な価値を有する生物遺伝資源は、農業、生命科学、医薬品開発、材料等様々な分野で研究・産業発展のために必要不可欠のものです。一度失われると再現不可能なためにその保管は非常に重要です。ウシ精子は、現在では液体窒素中に保存する凍結保存によって人工授精および体外受精に供試され、牛の育種改良および増頭に重要な役割を担っています。しかし、液体窒素生産にかかる環境負荷が発生する、凍結精液の維持には液体窒素を常に供給しなければならずコストやスペースが恒常的に必要である、輸送が容易ではない、取り扱いには人体への安全面で問題がある、など様々な欠点があります。さらに、平成 23 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災では、電力や液体窒素の供給が途絶えることによって貴重な生物遺伝資源が多数失われました。海外ではハリケーン等の自然災害でも損失が認められています。そのような背景から近年、液体窒素保存に替わる精子の保存技術が望まれています。

そこで本研究では、貴重な遺伝資源であるウシ精子を安全安心に保存することができる新たな技術を開発するために、凍結乾燥（フリーズドライ）<sup>(1)</sup> 保存したウシ精子からの産子生産を目指して研究を行いました。

### 【研究手法と成果】

宮城県の基幹種雄牛「茂福久」号から精液を採精し、高知大学農林海洋科学部まで冷蔵輸送しました。高知大学に到着してからは凍結乾燥機にて精液をガラスアンプル内で凍結乾燥し、再度、宮城県畜産試験場に輸送しました。その後約半年間、宮城県畜産試験場にて -30℃で保存し、2019 年 7 月 3 日にガラスアンプルに水を入れ、1 個の精子をウシ卵子に注入する顕微授精<sup>(2)</sup> によって受精卵を作りました。そして、2019 年 7 月 11 日に宮城県内酪農家のホルスタイン種の雌牛に受精卵の移植を行いました。

その結果、令和 2 年 4 月 14 日午後 3 時に雌子牛が誕生しました。

### 【今後の期待】

1949 年に Polge らにより家畜精子の凍結保存法が考案されてから間もなくして、精子の凍結乾燥保存の研究は行われました。当時は乾燥状態でも精子が生存できるようにすることが目的でしたが、残念ながら再現性のある実験は行われず、その後約 50 年間は研究の進展はありませんでした。しかし、1998 年に日本人研究者によってマウスの凍結乾燥精子から作成した受精卵によって世界初の哺乳動物が誕生して以来、ラット、ウサギ、ハムスター、ウマで凍結乾燥精子から子供が生まれています。これらの成功の要因は、凍結乾燥によって死んだ精子でも DNA は保持されていること、そして死んで運動性を持たない精子を通常の受精ではなく「顕微授精」という手段で卵子に注入する技術が開発されたことによるものが大きいです。しかし、産業家畜として有益なウシにおいては、今日まで受精卵は作出されるものの子牛の誕生は報告されていませんでした。

一方、今日ではごく当たり前のように行われている $-196^{\circ}\text{C}$ の液体窒素内での精子の凍結保存ですが、液体窒素生産にかかる環境負荷が発生する、凍結精液の維持には液体窒素を常に供給しなければならずコストやスペースが恒常的に必要である、輸送が容易ではない、取り扱いには人体への安全面で問題がある、予期せぬ自然災害が発生した場合に避難が困難、など様々な欠点があります。例えば、ウシ凍結精液を保管する大型の液体窒素容器 (1000L) の場合は、毎日 8L もの液体窒素が気化して失われ、それらを補充するためには 33.6 kW (874 円/日、一年あたり 6,357 kg の二酸化炭素の排出に相当) の電力が窒素ガスから液体窒素を作成するために永久に必要となります。

今回の研究では、高知大学の松川和嗣准教授が凍結乾燥体細胞でのヒツジ胚盤胞期胚の作出に初めて成功するなど細胞の凍結乾燥保存についての知見を有し、さらに、宮城県畜産試験場の及川俊徳博士がウシの顕微授精による研究の実績があったことが、世界初の牛における産子生産に成功したと考えられます。

今後、凍結乾燥後の常温での長期保存を可能にし、顕微授精操作を自動化することで、現在一般的になっている液体窒素保存に替わる新たな家畜受精卵作出技術になることが期待されます。

### 【補足説明】

#### (1) 凍結乾燥 (フリーズドライ)

インスタントコーヒー、みそ汁など食品や医薬品の保存では一般的な技術。物質を凍結してから真空状態で温度を上げ、水分を昇華させることで熱的に不安定な物や、芳香、風味などが大きく損なわれること無く乾燥できる。

#### (2) 顕微授精 (ICSI)

顕微鏡に接続したマイクロマニピュレーターを介して、卵子に精子 1 個を注入する微細操作

### 【共同研究グループ】

高知大学農林海洋科学部准教授 松川 和嗣 (まつかわ かずつぐ)

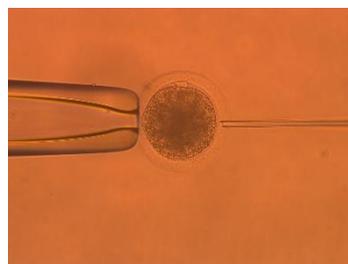
宮城県畜産試験場 上席主任研究員 及川 俊徳 (おいかわ としのり)



精子の入ったガラス瓶



水を加えた凍結乾燥精子



顕微授精の様子：ウシ卵子 (中央)、右のガラスピペット内に精子がある



令和2年4月14日、凍結乾燥精子から誕生した黒毛和種の子牛（及川俊徳博士提供）