

# C57BL/6Jマウスを用いた体外受精および 初期胚凍結保存の検討

○糟谷佳恵<sup>1)3)</sup>、安齋政幸<sup>2)3)</sup>、三谷 匡<sup>2)3)</sup>、加藤博己<sup>2)3)</sup>、  
橋本匡司<sup>1)</sup>、大島誠之助<sup>1)</sup>、入谷 明<sup>2)3)</sup>

1)株式会社ナルク

2)近畿大学先端技術総合研究所

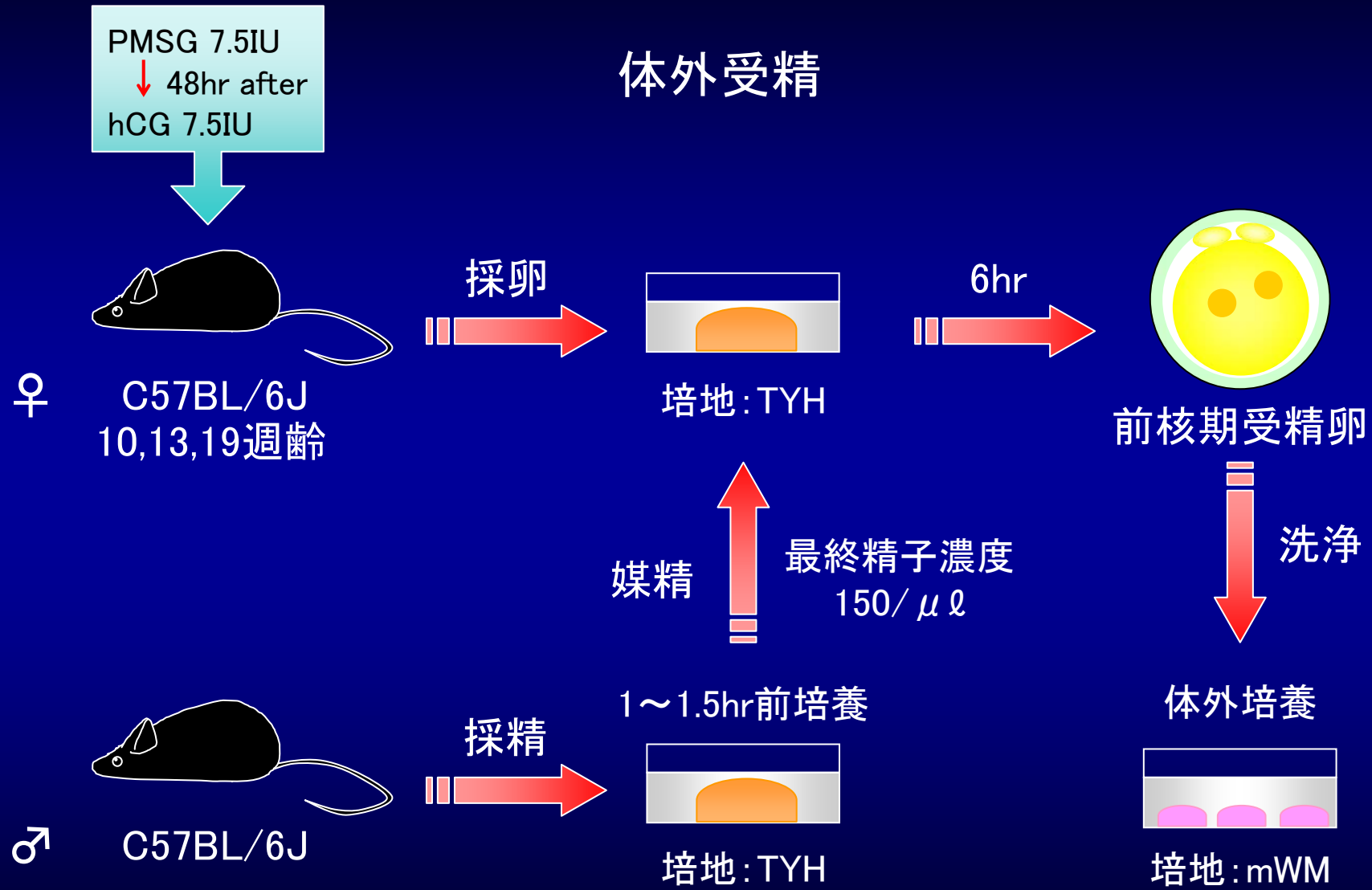
3)ジーンコントロール株式会社

2003.10.18

日本実験動物技術者協会関西支部山口地方大会 発表

# 方法

## 体外受精



培養条件: 37°C , 5% CO<sub>2</sub> in Air

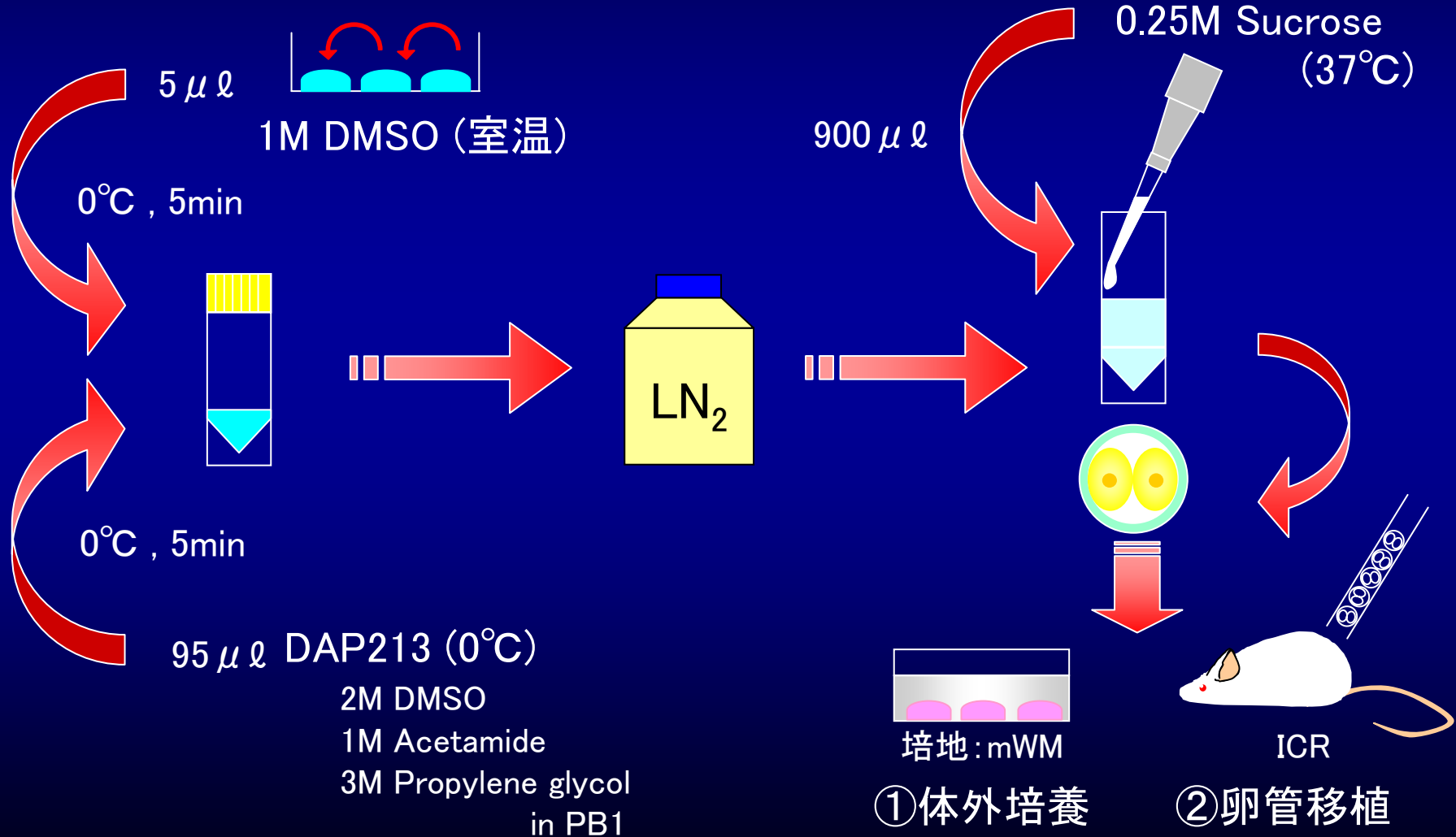
# 方法

## 初期胚凍結保存法

### 簡易ガラス化法

凍結

融解



本実験で用いた各種培養液・保存液ならびに技術の概要



販売元: 株式会社ダイアヤトロン

## 結果

表1 各週齡マウスを用いた体外受精成績

週齡	排卵雌 匹数 / 供試雌 匹数	供試卵子数		受精卵子数 <sup>b</sup> (%)	2細胞期胚への 発生卵子数 <sup>c</sup> (%)
		合計 <sup>a</sup>	平均		
10	16 / 20	440	27.5 <sup>d</sup>	401(91)	395(99) <sup>f</sup>
13	27 / 30	701	26.0 <sup>d</sup>	545(78)	513(94) <sup>f</sup>
19	22 / 34	358	16.3 <sup>e</sup>	288(80)	252(86) <sup>g</sup>

受精率(%) =  $b / a \times 100$

2細胞期胚への発生率(%) =  $c / b \times 100$

d,e :  $p < 0.05$

f,g :  $p < 0.05$

## 結果

表2 簡易ガラス化法により凍結保存した2細胞期胚の融解成績

週齡	凍結胚数	融解胚数 <sup>a</sup>	回収胚数 <sup>b</sup> (%)	正常胚数 <sup>c</sup> (%)
10	267	120	116(97)	104(90)
13	476	240	240(100)	220(92)
19	252	120	120(100)	116(97)

回収率(%) =  $b / a \times 100$

生存率(%) =  $c / b \times 100$

## 結果

表3 簡易ガラス化法により凍結保存した胚の融解後の体外培養成績

週齡	供試胚数	発生胚数		
	2細胞期 <sup>a</sup>	4細胞期	桑実期	胚盤胞期 <sup>b</sup> (%)
10	104	99	89	89(86)
13	110	102	101	89(81)
19	116	110	93	93(80)

胚盤胞期胚への発生率(%) =  $b / a \times 100$

## 結果

表4 簡易ガラス化法により凍結保存した2細胞期胚の移植成績\*

移植胚数 <sup>a</sup>	妊娠成立雌 ／受容雌数	着床数 <sup>b</sup> (%)	産仔数 <sup>c</sup> (%)
106	5 / 5	60(57)	43(41)

\*13週齡の凍結胚を供試

着床率(%) =  $b / a \times 100$

産仔への発生率(%) =  $c / b \times 100$

## まとめ

- ①C57BL/6J マウスを用いた体外受精技術において、高週齢のマウス群における排卵数の低下が認められた。
- ②凍結融解後の生存性、胚盤胞期胚への発生および産仔への発生能より、簡易ガラス化法による初期胚凍結保存が可能であると確認できた。
- ③今回、日本チャールスリバーより供給されるC57BL/6J は、生殖工学技術に関して、同系マウスと同等の利用が可能であることが示唆された。