



1992年 日本国際賞 受賞記念講演会

1992(Eighth) JAPAN PRIZE Commemorative Lectures

1992年日本国際賞受賞記念講演会

1992(Eighth) JAPAN PRIZE Commemorative Lectures

目次

ごあいさつ	2
講演会プログラム	4
1992年日本国際賞受賞記念講演会	
〈材料界面の科学と技術分野〉	
ゲルハルト・エルトゥル教授紹介	5
受賞記念講演要約	6
〈生物生産の科学と技術分野〉	
アーネスト・ジョン・クリストファー・ポルジ教授	
紹介	11
受賞記念講演要約	12

CONTENTS

Message	3
Program	4
1992 Japan Prize Commemorative Lectures	
〈Science and Technology of Material Interfaces〉	
Introduction of Prof. Dr. Gerhard Ertl	5
Summary of	
Japan Prize Commemorative Lecture	8
〈Science and Technology for Biological Production〉	
Introduction of	
Prof. Dr. Ernest John Christopher Polge	11
Summary of	
Japan Prize Commemorative Lecture	14

ごあいさつ

人類の平和と繁栄は、すべての人にとって共通の願いです。そのために科学技術の果たす役割は極めて大きなものがあります。

当財団は、科学技術の進歩をめざし、日本国際賞による顕彰を行うとともに、科学技術に関する知識及び思想の総合的な普及啓発の事業を行っており、その一つとして、毎年日本国際賞週間中に、日本国際賞受賞者による記念講演会を催しております。

日本国際賞は、科学技術の研究で独創的・飛躍的な成果を挙げ、科学技術の進歩に大きく寄与し、人類の繁栄と平和に著しく貢献したと認められる者に贈られる賞で、1985年にその第1回の授賞が行われました。

本年は、材料界面の科学と技術分野では、

ゲルハルト・エルトゥル教授（ドイツ）

マックス・プランク財団 フリッツ・ハーバー研究所長兼
ベルリン自由大学及びベルリン工科大学教授

生物生産の科学と技術分野では、

アーネスト・ジョン・クリストファー・ポルジ教授（イギリス）

アニマル・バイオテクノロジー・ケンブリッジ・リミテッド、
科学・研究担当取締役

の二教授が受賞されました。

今回の受賞記念講演会には、この二教授をお招きして講演をして頂きます。「日本国際賞受賞記念講演会」は、科学技術に関心をもつ一般の方々に受賞者が直接語りかけるパブリックスピーチの場として設定したもので、この講演会を通じて、多くの方、とくに次代の科学技術を担っていくであろう方々が多くの示唆をつかんで頂ければ幸いに存じます。

1992年4月

財団法人 国際科学技術財団

理事長 伊藤正己

Message

Peace and prosperity are fundamental aspirations of all mankind and the role that can be played by science and technology towards these ends is vast and boundless.

For the development of science and technology, the Science and Technology Foundation of Japan operates the activities to present the Japan Prize and as well to promote the comprehensive spread and development of thought and information involving science and technology. As the part of such efforts of promotion, a Commemorative Lecture by the Prize Laureates is held annually during the Japan Prize Week.

The Japan Prize is the award to honor those from all over the world who are recognized to have made original and outstanding achievements in science and technology and who have made substantial contributions to the advancement of science and technology and thus to peace and prosperity of mankind. The first Japan Prize was presented in 1985.

This year, 1992, the Japan Prize was presented to two Laureates in two Prize Categories as follows:

- | | |
|-----------|---|
| Category: | Science and Technology of Material Interfaces |
| Laureate: | Prof. Dr. Gerhard Ertl
Director of Fritz-Haber Institute of Max Planck Society and Honorary Professor at the Free University Berlin and at the Technical University Berlin (Germany) |
| Category: | Science and Technology for Biological Production |
| Laureate: | Prof. Dr. Ernest John Christopher Polge
The Scientific Director of Animal Biotechnology Cambridge Ltd.(U.K.) |

The two professors have been invited to speak at the Commemorative Lectures, which are intended to offer a venue for the Laureates to speak directly to the general public who are interested in science and technology. We sincerely hope that these Lectures can provide inspirations and encouragement to those who will be the potential leaders in science and technology of the future generations.

Masami Ito
Chairman
The Science and Technology
Foundation of Japan

講演会プログラム

PROGRAM

大阪 4月28日 [火]

OBP 「MIDシアター」

- 18:00** 開会
主催者挨拶
川村皓章 国際科学技術財団
常務理事
- 18:05** 受賞者紹介
吉森昭夫 岡山理科大学工学部教授
- 18:15** 受賞記念講演
ゲルハルト・エルトゥル教授 (独)
「不均一触媒反応における素過程」
- 19:10** 休憩 (15分)
- 19:25** 受賞者紹介
入谷 明 京都大学名誉教授
- 19:35** 受賞記念講演
アーネスト・ジョン・クリストファ
ー・ポルジ教授 (英)
「家畜の改良増殖
-凍結精液からバイオテクノロジー-」
- 20:30** 閉会

OSAKA April 28(Tue.)

MID Theater, OBP

- 18:00** Opening Remarks
Mr. Tsuguaki Kawamura
Executive Director
The Science and Technology
Foundation of Japan
- 18:05** Introduction of the Laureate
Dr. Akio Yoshimori
Professor
Okayama University of Science
- 18:15** Lecture: "Elementary Processes
in Heterogeneous Catalysis"
Prof. Dr. Gerhard Ertl
- 19:10** Break(15 min.)
- 19:25** Introduction of the Laureate
Dr. Akira Iritani
Professor Emeritus
Kyoto University
- 19:35** Lecture: "From Frozen Semen to
the Growth of Biotechnology in
Animal Breeding"
Prof. Dr. Ernest John Christopher
Polge
- 20:30** Closing

1992(第8回)日本国際賞受賞者

材料界面の科学と技術分野

受賞対象業績:

「固体表面の化学ならびに物理の新しい発展に対する寄与」

1992 (8th) Japan Prize Laureate Prize Category: Science and Technology of Material Interfaces

Reasons for Award:

Contributions to the new development of the chemistry and physics of solid surfaces



ゲルハルト・エルトゥル教授 (ドイツ)

マックス・プランク財団 フリッツ・ハーバー研究所長兼ベルリン自由大学及びベルリン工科大学教授。1936年 ドイツ生まれ。

エルトゥル教授は、アンモニア合成触媒など、いわゆる「不均一触媒」の働きを理解するには、水素、窒素などの反応分子が金属結晶表面に化学吸着した状態の構造や吸着分子間で起きる化学変化を詳しく研究することが重要であるということにいち早く注目して、1960年代の初期からこの方面の研究を開始し、様々な新しい研究手法を創出しながら研究を展開して、金属結晶表面で起きる化学反応の素課程を動的にとらえる途を開拓した。

白金表面での一酸化炭素酸化反応の速度が時間とともに周期的に変動することを発見し、それが白金表面の原子配列の変化と吸着分子の反応とが結びついた現象であることを解明するとともに、反応が白金表面を波状に伝播する様子をビジュアルにとらえることに初めて成功したことや、アンモニア合成触媒反応の素課程を解明したことなどは、エルトゥル教授の業績として注目されるものである。

エルトゥル教授の一連の研究によって、金属結晶表面の化学的挙動を「動的」にとらえることの重要性が実証され、固体表面の科学の新しい潮流が生まれたが、それによって触媒作用の本質の理解が大きく進展し、原子・分子レベルで触媒を「設計」する途が開かれ始めたのであり、エルトゥル教授の業績は高く評価されている。

Prof. Dr. Gerhard Ertl (Germany)

Director of Fritz-Haber Institute of Max Plack Society, Honorary Professor at the Free University Berlin and at the Technical University Berlin. Born in 1936.

Prof. Ertl is one of the first who noted the importance of investigating the structural aspects of chemisorption of hydrogen, nitrogen and other molecules on metal crystal surfaces and studying each elementary process in the chemical changes among adsorbed species in order to understand the functions of heterogeneous catalysts such as the one for ammonia synthesis. From early in 1960's, he initiated extensive studies in this field developing a variety of new experimental techniques and have developed a new research area focused on the dynamical aspects of the chemical processes taken place on metal crystal surfaces.

Prof. Ertl elucidated the elementary processes in the catalysis of ammonia synthesis and showed it possible to estimate theoretically the yields of the products in the industrial process of ammonia synthesis. Also he found for the first time that the rate of the catalytic oxidation of carbon monoxide on platinum surfaces periodically oscillated with time and elucidated that this oscillative phenomenon arises from the coupling between the chemical reaction and the surface reconstruction on metal surface. He succeeded to demonstrate a wave-like propagation of this catalytic reaction on platinum surface. These are particularly noteworthy achievements of Prof. Ertl

With a series of excellent and extensive studies, Prof. Ertl has indeed brought out a great progress in our understanding of catalytic processes and opened a new research field in the science and technology of solid surfaces, which is progressing toward the goal of designing and developing a catalyst in molecular level.

「不均一触媒反応における素過程」

ゲルハルト エルトウル

この10年間に、世界の劇的な人工増大に比例して合成肥料の生産量が増え続けてきた。窒素 (N_2) と水素 (H_2) からアンモニア (NH_3) を大規模に生産する化学プロセス (ハーバー・ボッシュ法) の開発がなければこのようなことは不可能であったろう。

触媒を用いて酸化窒素 (NO_x) や一酸化炭素 (CO) のような有害成分を窒素、水、二酸化炭素などの無害な成分に変換する装置によって、自動車の排気ガスによる大気汚染が大幅に減少した。

これらは「不均一触媒反応」という現象の利用のほんの二つの例であるが、不均一触媒反応は特に化学工業や石油化学工業における多数の工業プロセスの基盤をなしているのであり、触媒反応の利用がなければ世界の様相は今日の状態と全く異なるものになっていよう。

不均一触媒反応の原理は以下のようである。分子が別の分子に変わることを、いいかえると、出会った分子が化学反応 (たとえば、 $2N_2 + 3H_2 \rightarrow 4NH_3$) を起こすのはしばしば大変遅い過程であるが、触媒を用いると反応が促進される。触媒が反応分子と反応中間体を作り、反応速度が早い別の反応経路を提供するのである。不均一触媒反応では、気相からくる分子が結合 (「化学吸着」) を起こす固体物質 (多くは、金属) の表面がそのような役割を果たしているのであり、化学吸着現象の研究が不均一触媒を用いた反応の機構を明らかにするための鍵である。しかし、次の二つのことがその研究をきわめて困難にしており、今日でもこの分野が「魔法」の香りを漂わせている理由なのである。

1. 固体表面で起きることは基本的には2次元的なシナリオであり、その研究には通常の3次元的な化学とは異なる実験手法が必要である。

2. 「現実の触媒」の表面は一般に化学組成についても構造についても全く不均一である。微量な添加物が触媒活性を高める促進剤として作用することもあり、また、触媒微粒子は結晶固体の表面とは異なる原子配置の表面をもつことがある。

今日ではこれらの問題を克服することが出来る。様々な表面科学的な研究手段によって、固体表面の構造的、電子的、ならびに動的な性質を研究したり、化学吸着した粒子を原始レベルで研究することができ、また、複雑な「現実の触媒」の表面に代わるモデル系として「よく規定された」単結晶表面が用いられるようになった。

最も新しい極めて有力な実験手段に走査トンネル顕微鏡 (STM) があるが、これによって原始の分解能で表面の直接的な像をとることが可能になった。以下述べるのいくつかの例から、この方法によって得られる情報の意味がわかるであろう。固体最表面層の原子配列は固体内部のそれと同じこともあるが、異なることも多く、表面では構造の再構成が起きる。低速電子回折 (LEED) によって通常明らかにされるように、化学吸着種がその相互作用の結果として長距離的秩序をもつ2次元相を形成することが多い。化学吸着の結合の強さと基板の表面原子相互の結合の強さが同程度であることが多いので、化学吸着種の影響によって表面原子の位置が変化すること

がある。その結果、定常的に反応が進行している過程で触媒表面の巨視的な再構成が起きるようなことまで生じるのである。

最も重要なのは、分解生成物が化学吸着結合を形成することによってエネルギーの利得があるために分子内の結合を切断する能力を触媒表面が持っていることである（「解離吸着」）。すでに述べた戦略によって機構を解明することができた二つの反応例、すなわち、一酸化炭素の酸化反応とアンモニア合成を例にしてそのことを説明しよう。

反応 $\text{CO} + (1/2)\text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$ には白金族金属がよい触媒として働くが、あらゆる触媒反応の中で機構が最も単純なものである。その過程には、COの化学吸着と酸素 (O_2) の解離吸着とが関与している。他の遷移金属表面におけると同様に、COはそのC原子端が白金に結合した形で化学吸着し、密に詰った吸着層を形成する。この結合は中程度の強さであり、触媒反応の温度範囲 ($>200^\circ\text{C}$) ではこの分子が気相に脱離するのに十分な熱エネルギーが供給されるので、温度とCO分圧が決まると一定の表面CO被覆率をもつ定常状態が出る。他方、 O_2 分子は表面に作用して化学吸着したO原子に分解する。この段階には、隣接した表面白金原子で非被占有状態にあるもののいくつかからなる集団がなければならないのであるが、化学吸着したCO分子に妨害されてそのような集団が存在していないこともある。そこで、(気相における一定のCO分圧のもとでの)CO被覆率を低下させるために、触媒の使用温度を十分に高くしなくてはならない。(一方、O原子の解離吸着は表面にかなりオープンなスペースを残すので、COがさらに吸着す

るのにあまり妨害を与えない。)

化学吸着したO原子と化学吸着したCO分子が互いに隣接した位置にあると、これら二つの表面化学種が結合して CO_2 になり、その分子が直ちに気相に放出される。そうしていままで占有されていた表面サイドがまた反応化学種の化学吸着に利用できるようになり反応が継続する。

鉄をベースにした触媒を用いる大規模な工業プロセスであるアンモニア合成反応はもう少し複雑である。この場合には、その第一段階に二つの反応化学種、 N_2 と H_2 の解離吸着が関与している。水素 H_2 ではこの過程が極めて早い³が、窒素分子の結合切断は低い確率でしか起こらず、それが全体の反応の律速段階になっている。これについては、鉄の(111)結晶面が特別な役割を演じる。表面に近づいた N_2 分子はまずN-N結合距離が変わらないまま表面に立った状態に結合する。次のステップとして、分子が傾いて両方のN原子が表面と相互作用する。この状態ではN-N結合は少し弱くなっており、完全な解離の前駆状態と考えることができる。化学吸着したN原子がひとたび出来ると、それらが化学吸着した水素原子と反応して(NH や NH_2 なる表面化学種を経由して)化学吸着した NH_3 ができ、それが気相中に脱離する。

表面にナトリウムがあると N_2 の解離確率が向上する。実際の触媒におけるこの元素の組成比は大変小さいが($<1\%$)表面に集中しており、事実、表面のかなりの部分がこの元素で占められている。この「電子的」増活剤の役割は窒素の化学吸着結合に影響して、解離確率を高めることにある。

上に描いたような各素過程に関する定量的な情報を用いて、工業プラントにおけるアンモニア生成速度を理論計算することも出来るようになり、それによって予測されたデータは実測された収率とよく合っている。

このように、不均一触媒反応はもはや「魔法」ではなく、この分野は今や原子レベルの研究になっていると結論できるのである。

ELEMENTARY PROCESSES IN HETEROGENEOUS CATALYSIS

Gerhard Ertl

Over the past decade the production rate of (synthetic) fertilizers parallels the drastic increase of the world population. This would not have been possible without the development of a chemical process (Haber-Bosch process) which enables the large scale production of ammonia (NH_3) from nitrogen (N_2) and hydrogen (H_2).

Air pollution from automobile exhausts is substantially reduced by catalytic converters transforming toxic substances like nitric oxides (NO_x) and carbon monoxide (CO) into more harmless ones such as nitrogen, water or carbon dioxide.

These are just two examples for the operation of a phenomenon called 'heterogeneous catalysis' which inter alia underlies the vast majority of processes of chemical and petroleum industries and without which the modern world would certainly look quite different.

The principle underlying heterogeneous catalysis is the following: The transformation of molecules into new ones is very often a very slow process, i.e. the probability of reaction upon encounter (e. g. $2\text{N}_2 + 3\text{H}_2 \rightarrow 4\text{NH}_3$) is very low, but may be accelerated by the use of a catalyst. The latter forms intermediate compounds with the reacting molecules and thus offers an alternative reaction pathway with an overall higher rate. In heterogeneous catalysis this role is played by the surfaces of solid materials (frequently metals) which form bonds with molecules arriving from the gas phase ('chemisorption'), and hence the study of chemisorption phenomena offers the key for elucidating the mechanism underlying heterogeneously catalyzed reactions. This task is, however, seriously hampered by the following two facts which still are the reason why this field has an odor of 'black art'.

1. Processes occurring in direct contact with the surface of a solid represent essentially a two-dimensional scenario whose investigation requires experimental tools different from regular (three-dimensional) chemistry.

2. The surfaces of 'real' catalysts are generally quite non-uniform with respect to their chemical composition as well as structure. Small concentrations of additives may act as 'promoters' which enhance the catalytic activity, and the small catalyst particles expose surface planes with different atomic configurations as deter-

mined by the respective termination of the crystalline solid.

Both problems may now be overcome: the development of a whole arsenal of surface physical methods enables the study of the structural, electronic and dynamical properties of solid surfaces and of chemisorbed particles on the atomic level, and the complexity of 'real' catalyst surfaces is replaced by using well-defined single crystal surfaces as model systems.

One of the most recent and most powerful experimental techniques is scanning tunneling microscopy (STM) which enables direct imaging of surfaces even with atomic resolution. Several examples will serve to illustrate the kind of information which may be provided by this method: The atomic configuration of the top-most layer of a solid may correspond to the bulk termination, but often it may also deviate and the surface is reconstructed. Chemisorbed species are frequently forming two-dimensional phases with long-range order as a consequence of interaction between them as can most conveniently be probed by low energy electron diffraction (LEED). The strength of the chemisorption bond is usually comparable to that between the surface atoms of the substrate, and as a consequence the latter may become displaced from their original positions under the influence of chemisorbed species. The results may even be macroscopic restructuring of a catalyst's surface under the conditions of steady-state reaction.

Most important is the ability of a catalyst's surface to break bonds within molecules ('dissociative chemisorption') by offering a net energy gain through the formation of chemisorption bonds with the fragments. This will also become evident with the two examples of reactions whose mechanisms could be elucidated along the sketched strategy, namely the oxidation of carbon monoxide and the synthesis of ammonia.

The reaction $\text{CO} + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$ is most favourably catalysed by metals of the platinum group and exhibits probably the simplest mechanism of all catalytic processes. It involves chemisorption of CO as well as dissociative chemisorption of oxygen (O_2). Like on other transition metal surfaces, CO chemisorbs on platinum by coupling of its C-atom end and tends to form a densely packed configuration. This bond is of moderate strength and hence in the temperature range of catalytic reaction

(>200°C) the thermal energy is sufficient to initiate also release of this molecule back into the gas phase (desorption), so that at given temperature and CO partial pressure a steady-state coverage of the surface by CO will result. The O₂ molecule, on the other hand, interacts with the surface with bond breaking into chemisorbed O atoms. This step requires an ensemble of several unoccupied neighboring surface platinum atoms which might, however, already be blocked by chemisorbed CO molecules. In order to reduce the CO coverage (at a given partial pressure in the gas phase) below a critical value, hence a high enough temperature of catalyst operation is required. (The chemisorbed O atoms, on the other hand, form a rather open configuration on the surface which does not appreciably affect the additional uptake of CO). Once a chemisorbed O atom is neighboring a chemisorbed CO molecule these two surface species may recombine into CO₂ which molecule is immediately released into the gas phase, whereby the previously occupied surface sites become again available for chemisorption of the reactants so that the reaction can continuously go on.

Somewhat more complex is the ammonia synthesis reaction which is a large-scale industrial process using an iron-based catalyst. In this case, the primary steps consist in dissociative chemisorption of both reactants, N₂ and H₂. While this process is quite rapid for hydrogen (H₂), bond breaking of the nitrogen molecule occurs only with rather low probability and represents hence the rate-limiting step of the overall reaction. In this context a particular role is played by the (111) crystal plane of iron. The incoming N₂ molecule is at first bonded 'end-on' to this surface with the N-N bond remaining practically unaffected. As a next step the molecular axis may become inclined so that both N atoms interact with the surface. In this state the N-N bond is appreciably weakened so that this species represents the precursor for complete dissociation. Once the chemisorbed N atoms are formed they may successively recombine with chemisorbed hydrogen atoms (via NH and NH₂ surface species as intermediates) to chemisorbed NH₃ which eventually is released into the gas phase.

The dissociation probability of the N₂ molecule

is enhanced by the presence of potassium on the surface. Although the overall content of this element in the actual catalyst is very small (<1%), it becomes strongly segregated to its surface which is in fact covered by it to a substantial extent. The role of this 'electronic' promoter consists in a modification of the nitrogen chemisorption bond whereby the dissociation probability is increased.

Based on quantitative information about the individual elementary steps sketched, even the theoretical evaluation of the overall rate of ammonia production in an industrial plant became feasible, and the predicted data were found to be indeed in close agreement with the actual yields measured.

It has thus to be concluded that heterogeneous catalysis needs no longer to be a 'black art', but that this field now became accessible to atomic level research.

1992(第8回)日本国際賞受賞者

生物生産の科学と技術分野

受賞対象業績：

「家畜における精液および胚の凍結保存技術の開発」

1992(8th) Japan Prize Laureate Prize Category: Science and Technology for Biological Production

Reasons for Award:

Discovery of a Method of the Cryopreservation of Semen and Embryos in Farm Animals



アーネスト・ジョン・クリストファー・ポルジ教授 (イギリス)

アニマル・バイオテクノロジー・ケンブリッジ・リミテッド科学・研究担当取締役兼ケンブリッジ大学名誉教授。1926年英国生まれ。

1948年にニワトリ精子で、ついで1951年にはウシで凍結精子による世界で初の子ウシが産まれた。これからの輝かしい成果は、ポルジ博士による凍結保護物質の発見によるもので、これによって配偶子や胚の保存のみならず、広く微生物・動植物などの生物細胞の凍結保存が可能になり、低温医学や低温生物学の進展に著しく貢献してきた。

とくに家畜生産への凍結保存技術の応用で、最も高く評価されるものは、ウシにおける精子及び胚の凍結保存であって、年間世界で1億5千万頭ものウシが凍結精液で人工受精されており、また10万頭以上の凍結融解胚の移植による子ウシが生産されている。以上の他同博士は、体外受精、クローニング、遺伝子組換えなどの新しいバイオテクノロジーの分野でも指導的な役割を果たしている。

Prof. Dr. Ernest John Christopher Polge (U. K.)

F.R.S. Scientific Director of Animal Biotechnology Cambridge Ltd. and Prof. Emeritus of Cambridge University. Born in 1926 in England

In 1948, he was first successful in preservation of fowl spermatozoa by deep freezing, and the first calf from frozen semen was born in 1951. These distinguished achievements were attributable to the discovery of good cryoprotective agents such as glycerol. The deep freezing technique made it possible to preserve not only gametes and embryos, but also various biological materials, consequently the technique has greatly contributed to the development of low temperature medicine and general cryobiology.

Cryopreservation of spermatozoa and embryos in cattle was one of the most highly estimated works of his achievements. About 150 millions of cows are inseminated with frozen semen and about 100 thousands of frozen-thawed embryos are transferred in a year throughout the world.

Furthermore, Dr. Polge has been a leading scientist in the field of animal biotechnology such as in vitro fertilization, cloning by nuclear transfer and production of transgenic animals.

「家畜の改良増殖-凍結精液からバイオテクノロジーへ」

アーネスト・ジョン・クリストファー・ホルジ

人工授精は約50年前に多くの国で家畜の改良増殖のための重要な技術として使われ始めた。この技術は、今日では胚移植、体外受精及び遺伝子操作を含む多くの分野に発展しているバイオテクノロジーの新しい時代の先駆けとなった。これらの新しい技術は家畜の遺伝的改良や生産性向上に大きな利益をもたらし、あるいはもたらす可能性を持っている。しかしながら、人工授精は依然、最も広く使われている技術であることに変わりはない。

1949年の精子の凍結による効率的な保存法の発見は人工授精に革命をもたらした。1951年に初めて凍結精液から仔牛が生まれ、それ以来、牛の精液の凍結保存が広く行われている。精液の保存期間の延長は家畜の改良増殖における時間的、空間的制約を除き、後代検定や優良遺伝資源の国際的交流の手法を改善した。

農業分野での応用はともかく、精子がグリセロールのような凍害防御剤の使用と緩速凍結法で凍結保存が可能であるということが、これらの手法を使わずに凍結融解した場合には通常は死滅してしまう高等動物のいろんな生きた細胞や組織の保存の機会をもたらした。医学分野における応用も重要で、例えば、赤血球、骨髄及び角膜の凍結保存が可能となった。

哺乳動物の卵子または胚の凍結保存の初期の試みはあまりうまくいかなかった。しかしながら、劇的な成果が卵巣組織の凍結実験に於て得られた。グリセロール溶液の使用と緩速凍結法で凍結された卵巣組織の切片を用いた移植試験により、X線照射により不妊とな

った家畜の生殖能力が回復することが明らかとなった。これは超低温にさらされた未成熟卵子が生存した最初の事例であった。しかしながら、哺乳動物の胚の凍結保存についての真の進展が見られたのは1970年代の初めになってからである。透過性の凍害防御剤と液体窒素で保存する前に -60°C まで超緩速で温度を下げる手法によりマウスの胚の凍結保存に成功した。この時、凍結速度と融解速度の関係も確立した。凍結胚の移植による最初の仔牛が誕生したのは1973年であった。この成功を導いた重要なステップは桑実胚後期や胚盤胞のステージにある胚の方がそれより初期のステージの胚よりも耐凍性が高いという知見であった。今日、牛の胚移植に於て胚の凍結保存は日常的に行われ、その受胎率もまざまざのものとなっている。

何年にもわたって低温生物が発展し、我々は凍結、融解による生きた細胞への損傷の機序について、また損傷を避ける方法についてより多くを知ることができるようになった。精子及び胚に関して行われた実験は低温生物学の原理の確立に重要な役割を果たした。これらの原理をよりよく理解することにより、氷の結晶を形成することなくガラス化する手法で細胞を凍結保存する新しい技術の確立等の成果があがっている。

最近20年間で胚移植の技術は大きく進歩した。これらの技術は、特に牛の改良増殖の分野で商業的に実践されている。優良雌畜を広く利用した遺伝的改良や増殖はともかく、精液が個体の遺伝子の半分だけを供給するのに対し、胚移植では雄と雌の双方からの個体としての全遺伝子を利用できる。それ故、凍結

精液と同様に、凍結胚は動物の遺伝資源の国際間の交換のための最も有効な手段である。なお、家畜改良の近代的手法によって促進される遺伝的多様性の低下についての懸念は凍結保存された精子や胚を用いる遺伝情報プログラムの利用によって軽減される。

人工授精と対照的に、胚移植はまだ限られた範囲でしか行われていない。しかしながら、体外で胚の大量生産を行う新しい技術の開発が進められている。これらは卵子の体外成熟、受精及び胚が凍結、移植される段階の胚盤胞までの培養技術を含んでいる。このような技術は胚移植の普及に必要なものである。体外で生産された牛胚の凍結は当初あまりうまくいかなかったが、今では多くの問題点が克服され、かなり効率的に凍結牛胚が生産されるようになった。

体外での胚の生産技術は哺乳類の発生学における最近の成果のひとつである。また、他の応用技術として核移植による胚の増殖技術や外来複製遺伝子の導入による遺伝子操作などがある。これら多くの新しい技術はまだ発展途上にあるが、技術の発展にともない配偶子あるいは胚の形態での貴重な遺伝資源の凍結保存が将来、重要な役割を演ずることは確かである。しかしながら、これらの応用技術が凍結精液のように人類の平和と繁栄に貢献することが重要である。

FROM FROZEN SEMEN TO THE GROWTH OF BIOTECHNOLOGY IN ANIMAL BREEDING

Ernest John Christopher Polge

About 50 years ago artificial insemination was first adopted in many countries as an important method of animal breeding. This heralded the start of a new era of biotechnology which has now extended into many spheres including embryo transfer, *in vitro* fertilization and genetic manipulation. All of these have led to major advances in genetic improvement and animal productivity or have a great potential to do so, but artificial insemination still remains the most widely applied technology.

The discovery in 1949 of an effective method for the preservation of spermatozoa by deep freezing led to a revolution in artificial insemination. The first calf from frozen semen was born in 1951 and since then the preservation of bull semen by deep freezing has been very widely applied. The ability to store semen for prolonged periods of time effectively removed the constraints of time and space in animal breeding and led to improved methods of progeny testing and the international exchange of valuable genetic material.

Apart from the practical applications achieved in agriculture the demonstration that spermatozoa could be preserved at very low temperatures by treatment with cryoprotectants such as glycerol and a process of slow cooling led to the opportunity to preserve a wide variety of living cells and tissues of higher animals which otherwise would normally be killed by freezing and thawing. Important applications in medicine also become possible of which the freezing of red blood cells, bone marrow and cornea are examples.

Early experiments on the freezing of mammalian eggs or embryos were relatively unsuccessful. More dramatic results were achieved, however, in experiments on freezing and thawing of ovarian tissue. Using slices of ovarian tissue treated with media containing glycerol and frozen slowly to low temperatures, orthotopic grafting experiments revealed that fertility could be restored to recipient animals that had previously been sterilized by X-irradiation. This was the first example of the survival of immature oocytes after exposure to very low temperatures. Nevertheless, it was not until the early 1970's that real progress was made on the deep freezing of mammalian embryos. Survival of mouse embryo was achieved following exposure to a permeating cryoprotective agent and very slow cooling to a temperature as low as -60°C before storage

in liquid nitrogen.

An important relationship was also established at this time between the rate of rewarming and the rate of freezing. The first calf born following transplantation of a frozen/thawed embryo was in 1973 and an important step towards achieving this success was the realisation that embryos at the late morula or blastocyst stage of development were more resistant to cooling than were embryos at earlier stages. Today, preservation of embryos by deep freezing is applied quite routinely in cattle embryo transfer and acceptable levels of pregnancy can be achieved.

Over the years a science of cryobiology has emerged and we now know much more about the nature of the damage caused to living cells by freezing and thawing and how it can be avoided. Experiments carried out both on spermatozoa and embryos have played an integral role in the establishment of cryobiological principles. The better understanding of these principles has led to wider opportunities as well as to the development of more recent technologies such as the preservation of cells by vitrification techniques in which the formation of ice crystals is avoided.

Major advances have been made during the last 20 years in techniques for embryo transfer and these are now being applied commercially especially in cattle breeding. Apart from the opportunity for genetic improvement and breed expansion through the greater use of superior female animals, embryo transfer provides a means for distributing the whole animal genome rather than just half the genetic complement as can be achieved with semen. As an advance on frozen semen, therefore, frozen embryos provide the most efficient means of international exchange of animal genetic material. The threat to a reduction in genetic diversity, which in one way is enhanced by modern methods of animal breeding, can at the same time be reduced by the adoption of genetic conservation programmes in which spermatozoa and embryos are preserved in the frozen state.

In contrast to artificial insemination, embryo transfer is still only applied to a very limited extent. New methods are now being developed, however, for the large scale production of embryos by *in vitro* techniques. These involve the *in vitro* maturation and fertilization of oocytes and the culture of embryos to the blastocyst stage when they can be frozen and distributed for transfer to recipients. Such technologies herald a

major expansion of embryo transfer. The methods for in vitro cattle embryo production are now quite efficient and although early attempts to freeze in vitro produced embryos were not very successful many of these problems have now also been overcome.

The production of embryos by in vitro techniques represents one application of the recent advances that have been made in mammalian embryology. Other opportunities are now also provided such as the multiplication of embryos by nuclear transfer techniques and genetic manipulation by the introduction of foreign cloned genes. Many of these new technologies are in their infancy. As they advance it is certain that the ability to freeze and store valuable genetic material in the form of gametes or embryos will play an important role in their future application. It is important, however, that, as with frozen semen, the applications which arise will be applied to enhance the peace and prosperity of mankind.