

## 但馬牛における受精後14日目胚<sup>はい</sup>の保存技術の検討

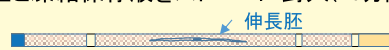
受精後14日目の胚（以下、伸長胚）において、切断後の移植用伸長胚の保存技術を確立するため、従来の受精後7日目の胚（以下、7日目胚）に用いている緩慢凍結法で凍結処理したところ、融解後に1週間の生存を確認できた。

### 内 容

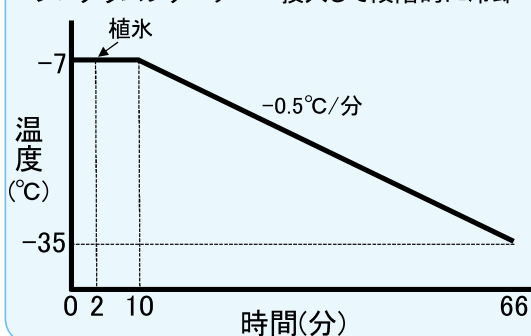
本誌No.212において、ゲノム解析済み胚の移植技術の確立に向けて、解析用の細胞を採取するため、従来の受精後7日目よりも遅い14日目に回収した伸長胚の切断の可能性を検討し、伸長胚は肉眼で容易に切断して細胞採取できることを報告した。

伸長胚をゲノム解析する場合、解析結果が出るまで胚を保存しておく必要がある。従来の7日目胚では、半永久的に保存可能な技術が確立しており、生産現場で活用されているが、伸長胚の保存技術については詳細な報告がない。そこで、今回は、伸長胚の保存技術の確立に向けて、7日目胚で実施している緩慢凍結法で伸長胚を凍結処理し、融解後の生存性を調査した。

伸長胚と凍結保存液をストローに封入(15分間平衡)



プログラムフリーザーへ投入して段階的に冷却



液体窒素中で保存(-196°C)

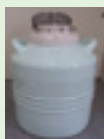


図 凍結処理の工程

当センターで飼養中の繁殖雌牛に過剰排卵処理をして伸長胚18個を作製した。伸長胚を切断の有無で9個ずつ2つのグループに分け、一方のグループの伸長胚は全て末端部を約1mm切断した。凍結保存液（1.4Mエチレングリコール+0.2Mシュークロース）と伸長胚を個別にストローに吸い上げて封入し、ストロー内でそのまま15分間安定させてから-7°Cに設定しているプログラムフリーザーへ投入した。ストローは、プログラムフリーザー内で-7°C10分間の平衡中に植氷し（強制的に氷晶化すること）、毎分-0.5°Cで56分かけて-35°Cまで冷却してから液体窒素で保存した（図）。融解方法は、液体窒素から取り出したストローを空中で10秒間保持し、その後37°Cの温湯に浸した。融解後は37.5°Cのインキュベータで培養液に浸漬して1週間培養し、胚の生存性を毎日確認した。その結果、切断の有無に関係なく全ての胚が1週間生存していた（写真）。

### 今後の方針

切断した凍結保存伸長胚の受胎性を確認後、ゲノム情報の判明した優良な伸長胚を移植して但馬牛の改良効率の向上を図る。

三木 遥子（北部 畜産部）

（問い合わせ先 電話：079-674-1230）

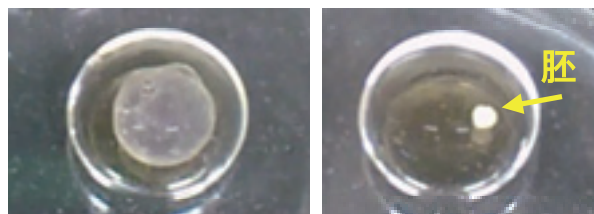


写真 生存している伸長胚(左)と死滅させた伸長胚(右)  
死滅すると細胞が萎縮する