

15 中ヨークシャー種における遺伝資源保存技術の検討

畜産研究センター 宇都宮昌亀、藤村佳絵

緒言

愛媛甘とろ豚は、優れた肉質により県内外から高い評価を受け、本県のリーディングブランドとして順調に成長している。この優れた肉質は、当センターにおいて育種改良を続けている愛媛系中ヨークシャー種（以下：Y種）から引き継いだものであり、Y種は、愛媛甘とろ豚を生産する上で、重要な遺伝資源である。しかしながら、現状におけるY種は、生体を遺伝資源として保存する体制をとっているため、育種改良過程の系統遺伝資源の計画的な保存は困難であり、遺伝的多様性の減少による遺伝改良速度の鈍化や近交係数上昇による繁殖能力の低下等を防止するために、定期的に病原体の侵入リスクが生ずる外部機関から遺伝資源を導入する必要がある。また、CSF（豚熱）等感染力の強い伝染性疾患発生時には、重要な遺伝資源が途絶える可能性があるといった問題が想定される。そのため生体による遺伝資源の保存以外の新たな遺伝資源保存体制の構築が課題となっている。

そこで、本試験では、近年保存に関する研究が進み、他品種においては衛生的に受精卵を超低温保存（以下：ガラス化）するMicro Volume Air Cooling (MVAC)法（以下：MVAC法）が三角ら¹⁾によって開発され実用化されている受精卵での遺伝子資源保存に着目し、伝染性疾患発生時のリスク回避及びより安全性の高い優良種畜の持続的育種改良を可能とする、新たな愛媛系Y種における遺伝資源保存体制の構築を目的として、Y種に適した効率的な排卵同期化処理技術及びY種受精卵のガラス化技術について検討した。

材料及び方法

1 試験①：Y種に適した効率的排卵同期化処理技術の検討

供試豚は月齢約9ヶ月で体重150kgのY種未経産豚10頭を供試し、令和3年4月～12月の間で受精卵採取を10回実施した。試験方法は、供試豚に排卵同期化処理を実施し受精卵を採取する方法で行い、調査項目として、回収受精卵数及び発育ステージについて調査を行った。

排卵同期化処理方法については、家畜改良センターのデュロック種で実用化されている平山ら²⁾が報告した処理方法に準じて、供試豚の発情開始日から10日目に安息香酸エストラジオール（以下：EB）を投与して偽妊娠誘起後、8～12日後に排卵同期化処理を実施し、初回AI後7日目に、外科的に受精卵を採取する方法で行った。

2 試験②：Y種受精卵のガラス化技術の検討

受精卵のガラス化処理は、家畜改良センターが開発したMVAC法によりガラス化を行い、保存器具はCryotop®（株北里コーポレーション）と胚スティック：（ミサワ医科工業株）の2種類の器具を供試した。これらの器具は、購入価格、推奨保存受精卵数、移植手法に特徴があり、特に胚スティックは、4件の生産農家豚舎内で移植を実施した結果、全ての農場で産子を得ることができた軒下移植の事例も本山ら³⁾によって報告されている。

試験方法は2種類の供試器具を用いてガラス化保存した受精卵を融解培養し、融解後3時間、24時間、48時間後の生存性を調査した。融解方法については、（株機能性ペプチド研究所のPBM-Hepes+rHSA）を用いて融解培養し、38℃、5%CO₂、5%O₂の条件化で培養を行った。

結果

試験①における受精卵の回収結果を表1に示した。供試豚10頭から10回受精卵の採取を行い合計138個の受精卵を回収し、平均回収率は13.8個であった。

表1 試験①における受精卵回収結果

回収回数	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	7回目	8回目	9回目	10回目	合計	平均回収率
回収個数(個)	20	18	10	16	11	16	8	12	18	9	138	13.8個/頭

次に受精卵の発育ステージを図1に示した。採取後、検卵中に紛失がありステージ調査に供した回収受精卵は125個で、その発育ステージはE-BL:4個、BL:31個、Ex-BL:45個、Hd-BLなどその他のステージが45個であり、豚受精卵の凍結保存に適した発育ステージとされるBL及びEx-BLは、回収個数125個のうち76個(回収率61%)が確認できたことから、EBを用いた排卵同期化処理はY種においても有効であると考えられた。

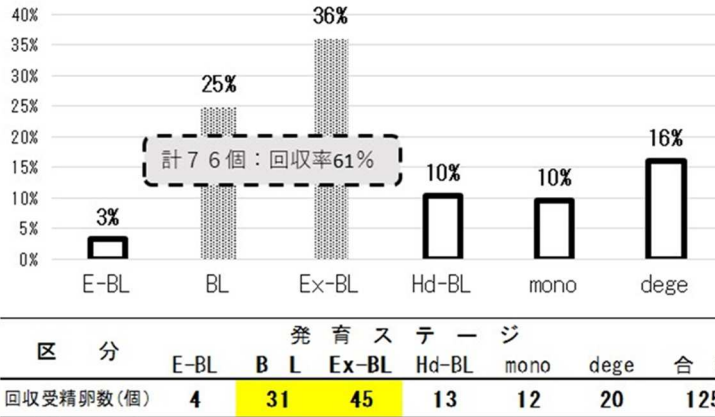


図1 試験①における回収受精卵の発育ステージ比率

試験②におけるガラス化受精卵の融解培養後の生存率を表2に示した。まず、Cryotop®では供試した受精卵数は15個で、培養3時間後の生存率は87%、24時間後の生存率は67%、48時間後の生存率は60%であった。また、胚スティックで供試した受精卵は31個で、3時間後が87%、24時間後が74%、48時間後が58%であった。

表2 試験②におけるガラス化受精卵の融解培養後の生存率

供試器具	培養時間		
	3h後	24h後	48h後
Cryotop® (n=15)	87% (13)	67% (10)	60% (9)
胚スティック (n=31)	87% (27)	74% (23)	58% (18)

単位:()内個

時間経過とともに生存率は減少するものの、両器具ともに48時間で約6割は生存していることが確認でき、両器具での生存性についても大差なく、同様な生存率が確認できた。

考察

試験①の排卵同期化処理での受精卵回収結果から、D種で実用化されているEBを用いた排卵同期化処理はY種においても有効であることが認められた。試験②のY種受精卵の生存性の結果では、Cryotop®及び胚スティック両器具ともY種受精卵のガラス化保存に有用であると考えられた。これらの試験結果を踏まえ、Y種にEBを用いた排卵同期化処理により受精卵を回収した後は、両器具から移植方法等に応じた保存器具を選択しY種受精卵を凍結保存する。これによって、Y種における遺伝資源保存のためのガラス化保存技術の効率的な実施が可能となり、受精卵を用いたY種の遺伝資源保存技術の構築が期待できると考えられる。

また、生産農家におけるガラス化受精卵の非外科的移植の成功事例も、本山ら³⁾ 田島ら⁴⁾によって報告されていることから、今後は、これらの報告内容を参考として、愛媛系Y種におけるガラス化受精卵を活用した、生産性の高い効率的な非外科的移植技術の確立を目指した試験研究に取り組み、愛媛県独自のY種における受精卵回収及び移植方法についてマニュアルを作成する予定である。

引用文献

- 1) Koji Misumiet al : Journal of Reproduction and Development 59 520-524 (2013)
- 2) 平山祐理ら : 日本養豚学会誌, 57, 73-75 (2020)
- 3) 本山佐和子ら : 日本養豚学会誌, 56, 77 (2019)
- 4) 田島茂行ら : 日本養豚学会誌, 56, 78 (2019)