

遺伝子バンクを目指した豚受精卵の 効率的な回収および凍結保存技術の開発

農業技術研究センター（養豚・養鶏担当）

キーワード：豚、希少品種、遺伝子バンク、過剰排卵処置、受精卵超低温保存

1 技術の特徴

豚熱の発生がいまだに国内外で認められ、依然として疾病感染の脅威が続くなか、万が一病気が発生した場合には、農場すべての豚を処分する必要がある。このため、優良な遺伝資源の消失を防ぐには、あらかじめ健康なうちに豚の受精卵を凍結保存しておき、有事の際にはそれらを活用することで、短時間で豚群を再構築することが可能となる。現在、動物の精子や受精卵、植物の種子などの遺伝資源を保存する施設として遺伝子バンクがあり、全国で数か所運営されているが、公的機関や大学等の遺伝資源保存がメインであり、一般農家の利用や活用には制限がある。そこで、地域密着型の豚遺伝子バンクの構築を目指し、豚受精卵の効率的な回収法及び生存率の高い凍結保存法を開発した。

2 技術内容

遺伝子バンクには、より多くの遺伝資源の確保(1)とその保存方法の確立(2)、遺伝資源の品質管理(3)などが求められる。

(1) 遺伝資源の確保

ア ホルモン剤を用いた過剰排卵方法の検討

本県ブランド畜産物である英国系パークシャー種や当所で系統造成したランドレース種、当所で開発した高コレステロール血症/動脈硬化症モデルミニブタなどの遺伝的優良豚や希少品種を用いて、ホルモン剤を用いた過剰排卵処置による大量の受精卵採取方法を開発した。これまで、豚ではあまり用いられていないFSH製剤（卵胞刺激ホルモン）を用いることで、多くの受精卵を確保し、ガラス化保存に適した発育ステージの受精卵回収が可能となった（表1）。

(2) 超低温保存方法の確立（表2）

ア 3種類のガラス化保存方法の検討

本県で開発したメタルメッシュを用いたMMV法や、プラスチックストローを用いたPPV法によるガラス化保存・融解後の受精卵の生存性を評価したところ、MMV法で高い生存率が得られることが解った。

イ 初期受精卵保存方法の開発

これまで超低温保存が難しいとされてきた4～16細胞までの初期受精卵を用いたガラス化保存法を開発した。市販のエンブリオテックにDMSOおよびエチレングリコールを耐凍剤として用いて、フィルム状の先端部に初期受精卵を付着させガラス化保存（フィルムトップ法）することで、融解後に体外培養環境で胚盤胞まで発育させることが可能となった。

ウ 緩慢凍結法の再検討

ガラス化保存に用いる耐凍剤は毒性が強く、保存作業時の時間的制約が厳しいため熟練した技術者が必要である。そこで、以前実施していた緩慢凍結方法と自動植氷ストローを組み合わせることで、誰もが簡単にできる凍結保存を検討中である。

(3) 遺伝資源の品質管理

ア 受精卵の個別管理：保存した受精卵は、遺伝情報を明確にしたうえで、クライオチューブ内もしくは円筒スティック内に封入し、コンタミネーションを防ぐ保存状態で液体窒素ボンベ中に超低温保存している（写真）。

3 具体的データ

表1 ホルモン剤を用いた過剰排卵による受精卵回収数

ホルモン処置	n	平均黄体数*(A)	平均回収受精卵数(B)	平均回収率 (B/A*100)
無処置	6	10.3 ^a	7.3 ^a	70.8 ^a
eCG+hCG (従来区)	6	22.6 ^{ab}	17.4 ^b	76.9 ^a
FSH+eCG+hCG (FSH区)	6	26.0 ^a	27.0 ^c	103.8 ^b

a, b, c縦列異符号間に有意差あり (P<0.05)
*: 目視による黄体カウント

表2 超低温保存融解後の受精卵の生存性および操作性

超低温保存方法	胚ステージ	区分	n	生存率 (%)	処理時間	操作性
MMV法	胚盤胞	ガラス化	32	84.4 ^a	短時間	難
PPV法	胚盤胞	ガラス化	32	53.1 ^b	短時間	難
緩慢凍結法	胚盤胞	非ガラス化	77	91.7 ^a	長時間	易
フィルムトップ法	4~16 cell	ガラス化	24	16.6 ^c	短時間	中
MVAC法	4~16 cell	ガラス化	24	0.0 ^c	短時間	中

a, b, c縦列異符号間に有意差あり (P<0.05)



写真 液体窒素ボンベ (-196℃) に保存された受精卵 (遺伝子バンクの状況)

4 適用地域

県内全域、ブランド豚生産農場

5 普及指導上の留意点

- (1) 過剰排卵処理には、春機発動前の未経産豚を用いることで、安定的な受精卵採取が可能となる。
- (2) ガラス化保存法の処理時間は短いですが、操作性は難しい。一方、緩慢凍結法の操作性は簡単であるが、処理時間がかかるため用途に応じた使い分けが必要である。
- (3) 豚群再構築のための遺伝子バンクに保存した受精卵と非外科的移植技術を組み合わせることでフィールドでの活用が可能である。

6 試験課題名 (試験期間)、担当

凍結受精卵を用いた遺伝的希少品種の豚群再構築手法の開発 (2020~2022)、養豚・養鶏担当
豚熱感染リスクを回避する新たな豚繁殖管理システムの開発 (2022~2024)、養豚・養鶏担当