

## 第7回麻布大学 生殖・発生工学セミナー

## ブタ初期胚の超低温保存

藤野 幸宏

埼玉県農林総合研究センター畜産研究所

埼玉県には、県で系統造成した「ダイ2サキタマ(ランドレース)」や民間で育種改良した高能力豚、希少品種でその肉が特産化された黒豚(パークシャー)、中ヨークシャーなどが飼育され、オリジナルな遺伝資源として活用されている。しかし、一般的にブタの飼育年数は3年程度のため世代交代が早く、他からの導入は困難なことから、現在の資源を継続的に有効利用していくことが大きな課題となっている。またブタの遺伝的能力を保つためには集団で多数のブタを維持することが必要であり、常に事故や病気による損失を考慮しなければならないことから、種豚の安定生産にはかなりの設備、費用および労力を要する。

受精卵(胚)移植技術のブタへの応用は、これらの問題を解決する手段で、凍結保存された胚から必要な時に子ブタが得られれば、疾病や事故等による遺伝資源損失の回避や維持コストの大幅な低減を図ることができ、良質なブタ肉の長期的な安定供給が可能となる。

そこで、昭和61年度から、「ブタ受精卵移植技術の確立試験」を開始し、昭和63年度に農林水産省畜産試験場(現独立行政法人畜産草地研究所)において「ブタ胚の凍結保存技術」の研修を受け、本格的に試験を開始した。

一般的に家畜の胚の凍結は、緩速凍結法という方法で実施されている。この方法は、胚をグリセリン、エチレングリコールなどの耐凍剤を含んだ凍結媒液に平衡させた後0.25 mlのプラスチックストローに入れ、プログラムフリーザーを用いて0.3℃/分前後の速度で-30℃まで冷却、液体窒素中(-196℃)で凍結する方法である。比較的簡単に耐凍剤を除去す

ることが可能なことから、凍結胚を直接家畜に移植することができ、ウシの胚移植などに広く利用されている。

試験を始めた当初、受精後5日目までのブタ胚は15℃に冷却した時点で死滅することから、凍結保存は不可能だと思われていた。しかし、極めて限定した発育時期、すなわち受精後6日目の透明帯を脱出する直前および脱出した直後の胚は比較的低温に強いことが確認され<sup>1,2)</sup>、この発育時期の胚を凍結して1頭の子ブタを得ることに成功した。これが、凍結したブタの胚から産子を得た世界で最初の例<sup>3)</sup>となった(平成元年)。

その後、この方法の再現性を高めるために、凍結に適した発育時期の胚の効率的回収方法<sup>4)</sup>、凍結胚の生存率推定方法<sup>5)</sup>、移植した凍結受精卵の産子への発育補助方法<sup>3)</sup>などを開発し、凍結胚の移植で約5割の受胎率が得られるようになった。当研究所では、今までに20頭の借り腹豚から96頭の凍結胚由来の産子が得られている。また、当所で凍結した胚22個を福島県にある独立行政法人家畜改良センターで移植し、11頭のデュロックの子ブタが生まれた(平成11年度)。この内の数頭は種豚登録協会により種豚登録され(国内初)、胚の凍結保存技術が遺伝資源の保存及び導入方法として利用可能なこと確認された。

昨年度からは、より高い受胎率と子ブタの生産率を目指して、近年開発された超急速凍結法、すなわち極少量の凍結媒液とともに胚を直接液体窒素中に投入して凍結する方法の検討を始め、小さな金網に胚を付着させて凍結することで、受胎率80%、産子への発育率18.6%と良好な成績が得られる方法を開

発した<sup>6)</sup>。この方法は、プログラムフリーザーのような特別な機械もいらず、従来の凍結方法では生存率が低い発育時期の胚も凍結することが可能なことから、当初の目標にさらに一步近づくことができた。

また、ブタ胚の回収は開腹手術して行っているが、より効率的に胚を得るために、と殺した卵巣から卵子を回収し体外で成熟、受精、培養させる体外生産胚の研究も開始した。この研究は、平成15年度から3年間実施し、(独)農業生物資源研究所、(独)家畜改良センター、愛知県農業総合試験場、神奈川県畜産研究所、ミサワ医科工業(株)との共同研究で、体外生産胚の生産技術の向上、凍結保存、非外科的移植技術の確立を目指している。

最近、口蹄疫、BSE、鳥インフルエンザ、豚コレラなど、今までは対岸の火事であったような伝染性疾病が国内で次々と発生し、これらに対する危機管理体制が問われている。特に、鳥インフルエンザにおいては、大量の鶏を処分する光景が連日テレビで放映され、ひとたび悪性の伝染性疾病の浸襲を受けると、簡単に壊滅的な被害を被るという事実、あらためて強いショックを受けた。

しかし、このような不測の事態に対しても、胚や精液が凍結保存してあれば、短期間に回復することが可能で、安全で安心なブタ肉を安定供給することができることから、今後も技術の確立に努力してい

きたい。

#### 参考

- 1) 小栗紀彦. 豚胚の移植ならびに保存における最近の進歩. 日豚会誌 1990; 27, 80-86.
- 2) Nagashima H, Kato Y, Yamakawa H, Matsumoto T, Ogawa S. Changes in freezing tolerance of pig blastocysts in peri-hatching stage. Jpn J Anim Reprod 1989; 35, 130-139.
- 3) Fujino Y, Ujisato Y, Endo K, Tomizuka T, Kojima T, Oguri T. Cryoprotective effect of egg yolk in cryopreservation of porcine embryos. Cryobiology 1993; 30, 299-305.
- 4) 藤野幸宏. 透明体を脱出する前後のブタ胚の採取技術. 豚の繁殖衛生セミナー通信 2001; 27, 16-18.
- 5) Fujino Y, Yonemura I, Suzuki M, Misumi, K. Cryotolerance of porcine embryos — The need for batch-wise assessment. Theriogenology 2003; 59, 302 (abstract).
- 6) Fujino Y, Nakamura Y, Successful cryopreservation of porcine embryos by the metal mesh vitrification (MMV) method. Reproduction, Fertility and Development 2005; 17, 192 (abstract).