

体外授精技術による豚の貴重品種の復元

農林総合研究センター（畜産研究所）

キーワード：豚、繁殖、凍結精液、体外授精

1 技術の特徴

豚の体外授精技術は、と殺した豚の卵巣から採取した卵子に凍結精子を授精させることで、人工的に大量の受精卵を作ることが可能である。

これまでの研究で、凍結精液の融解後の生存性や受精能力の違いによって受精卵の胚盤胞への発育率に差があることが解ってきた。そこで、確実に移植できる受精卵を作るため、4頭の雄豚から作成した凍結精子を用いて、それぞれの精子の体外授精に適した条件について検討した。その結果、体外授精時の精液濃度、体外授精時間、媒精用培養液内のカフェイン濃度を調節することで、胚盤胞発生率が向上することが解った。今後、開発した技術を活用し貴重な品種から保存した凍結精子や、死亡した優良豚の卵子から体外受精卵を作成し、借親に移植することで、貴重品種を復元できる。

2 技術内容

と殺した豚の卵巣から卵子（2,028個）をメス切開法で採取し、体外成熟後（NCSU-37, 44時間）に、パークシャー種A～C（3頭）、大ヨークシャー種D（1頭）の凍結精液4種類を用いて体外授精（Pig-FM）を行った。授精条件として、媒精時間を3時間および5時間、カフェイン濃度を2mMおよび5mM、精子濃度を $\times 10^5$ 個/mlおよび $\times 10^6$ 個/mlについて実施し、体外培養後（NCNU-37, 8日間）の胚盤胞発生率を調査した（全て38.5℃, CO₂ 5%, O₂ 5%の気相下で培養）。

- （1） 4種類の凍結精子のうちパークシャー種（B精子）が、精子濃度 $\times 10^6$ 個、カフェイン濃度 5mM、媒精時間5時間で最も胚盤胞発生率（43%）が高かった（表1）。
- （2） （1）の精子Bと同様の体外授精条件下において、他の凍結精子A、C、Dにおける胚盤胞発生率は、それぞれ18%、11%、0%であり（表1）、精子の違いによって胚盤胞発生率が異なることが解った。

したがって各凍結精子の最適な体外授精条件は異なり、効率的な受精卵の作成には、体外授精時の精液濃度、体外授精時間、媒精用培養液内のカフェイン濃度をそれぞれ検討し、最も胚盤胞発生率高く正常受精率（今回データに示さなかった）の高い条件を見つけることが必要である。

- （3） 授精条件によって胚盤胞まで発育しなかった凍結精子において、体外授精条件を変えて最適な授精条件を見つけることで受精卵の作出が可能となった。今後、貴重な品種の凍結精子と卵子を体外授精し、作成した受精卵を仮親に移植することで、効率的に貴重品種の子豚を誕生させることができる。

3 具体的データ

表1 各種精液の媒精条件による胚盤胞発生率

凍結精液	精子濃度	カフェイン濃度	媒精時間	胚盤胞発生率	凍結精液	精子濃度	カフェイン濃度	媒精時間	胚盤胞発生率		
A	$\times 10^5$	2mM	3時間	4%	B	$\times 10^5$	2mM	3時間	13%		
			5時間	2%				5時間	8%		
		5mM	3時間	12%			5mM	3時間	22%		
			5時間	18%				5時間	30%		
		$\times 10^6$	2mM	3時間			4%	$\times 10^6$	2mM	3時間	20%
				5時間			3%			5時間	18%
	5mM		3時間	18%		5mM	3時間		34%		
			5時間	18%			5時間		43%		

凍結精液	精子濃度	カフェイン濃度	媒精時間	胚盤胞発生率	凍結精液	精子濃度	カフェイン濃度	媒精時間	胚盤胞発生率		
C	$\times 10^5$	2mM	3時間	5%	D	$\times 10^5$	2mM	3時間	4%		
			5時間	6%				5時間	4%		
		5mM	3時間	3%			5mM	3時間	11%		
			5時間	0%				5時間	10%		
		$\times 10^6$	2mM	3時間			2%	$\times 10^6$	2mM	3時間	4%
				5時間			4%			5時間	2%
	5mM		3時間	5%		5mM	3時間		3%		
			5時間	11%			5時間		0%		

4 適用地域

県内全域

5 普及指導上の留意点

体外授精卵で用いる凍結精液は個体ごとに性状が異なるため、個体ごとの媒精条件を調査する必要がある。精液濃度、体外授精時間、媒精用培養液内のカフェイン濃度をそれぞれ検討し、最も胚盤胞発生率が高く正常受精率の高い条件を見つけることが必要である。

6 試験課題名（試験期間）、担当

豚体外生産胚の効率的作出方法と長期保存技術の確立（2007年～2009年）、養豚・養鶏担当