

2.2. ブタ凍結精液を用いた人工授精技術の確立

農林水産研究指導センター畜産研究部

大分家畜保健衛生所¹⁾、農業大学校²⁾、広島大学³⁾

○岡崎哲司、秋好禎一、菅正和、吉田周司²⁾、手島久智

丸山信明¹⁾、阿部正八郎¹⁾、島田昌之³⁾

目的：液状精液は急な発情に対応できないこと、保存期間が短いことなど問題点が多く、その普及率は40%で停滞している。従って、凍結精液の技術開発が求められているが、人工授精による低い繁殖成績から全く実用化されていない。我々は、ブタ凍結精液を用いた人工授精の主要な3ステップである「精子の凍結保存」、「融解」、「人工授精」、それぞれを最適化し、新鮮精液での成績と同等で、安価、安全でかつ簡便なブタ凍結精液を用いた人工授精法を開発したのでここで紹介する。

方法：精液の凍結方法および融解方法は既報に準じて、凍結用希釈液にはNSFを基本溶液として用い、凍結を行った[Okazaki et al., 2008, 2009]。また、融解液には、モデナ液を基本液とした。各条件で凍結し融解した精子を用いて、人工授精試験を実施した。

結果：【凍結条件】精子の凍結には、精子内の氷晶形成を抑制するため、Glycerolを加える必要があるが、細胞毒性を持っており高濃度では使用できない。そこで、Glycerol非依存的に、凍結前に精子細胞内の水分量を低減し、低濃度Glycerol下で凍結する必要があると考えた。凍結前に精子を高張液下で脱水するため、凍結希釈液の浸透圧を400mOsm/kgの高張条件にし、それに伴いGlycerolを2%へと減少させる新規凍結希釈液を開発した。

【採精後の精子前処理法】凍結条件の最適化はブタ個体間の耐凍能の差異を解決するまでに至らなかった。我々はこの耐凍能を左右する要因が精漿であること、精漿中の細菌性内毒素(LPS)がその因子であるという知見を得たことから、採精直後に精漿を完全に除去し、LPS不活化剤であるPolymyxin B添加前処理液にて処理する方法を確立した。

【融解・人工授精法の最適化】融解後の精子機能性維持には、融解という温度上昇ストレスに起因する精子細胞膜の損傷、それによる精子の超活性化を抑制する必要がある。この温度上昇ストレスを精漿は緩和すること、さらには、人工授精後に胚の着床を促進する作用があることを明らかとした。そこで、この精漿による作用を、Ca²⁺キレート剤であるEGTAと、着床促進因子としてコルチゾールに置き換えた完全合成融解液を開発した。

①採精直後、精漿を除去し、PMBで処理後、新規希釈液で凍結する。②この条件で凍結した精液を完全合成希釈液で融解する。①、②の精子を用いた人工授精により、受胎率90%、産子数9頭以上という成績が得られたことから、凍結精液の人工授精は実用化レベルにまで高めることに成功した。

【普及方法について】現在、本県畜産振興課および豚・鶏チームでは、この技術を県内に普及するために「養豚新技術実用化推進事業」を設立し、経営の安定化を図っている。その事業内容は、平成22～23年度に、技術導入に必要な機材の導入費の1/3を県が補助するというものであり、今年度数件の問い合わせがある。今後、現場実証試験を同時に行いながら、県内養豚農家への普及拡大を図っていきたい。