

学 位 論 文 要 旨

氏名 田島 茂行

題 目：ブタガラス化冷却・加温胚移植における子豚生産向上に関する研究

論文要旨：

本研究は、胚移植 (ET) を一般養豚農場で実用するため、ガラス化冷却・加温 (V/W) 胚から、効率よく子豚生産できる移植技術の開発を目的とした。V/W 胚の移植で高率に子豚生産するには、1回の外科的移植で 20 個以上の V/W 胚が必要とされている。そこで、第1章では、V/W 胚の利便性を図るため、外科的移植に用いる V/W 胚が 20 個より少ない場合でも、安定した繁殖成績が得られる移植技術の開発に取り組んだ。まず、Open Pulled Straw (OPS) 法を用いて作製した V/W 胚の生存性を確認した。体外培養における加温 48 時間後の生存率は 82.9 %、脱出胚盤胞率が 61.0 %であった。また、1頭あたり 20~23 個の V/W 胚を移植した場合、受胎率が 85.7 %で、産子生産効率 (総産子数/総移植胚数×100) は 14.7 %であった。次に OPS 法で作製した V/W 胚 10 個の移植において、移植前に受胚豚へ人工授精 (AI) を実施した場合 (AI/ET) の繁殖成績に及ぼす効果を検討した。AI を行わなかった場合 (non-AI/ET) は、分娩例が得られなかった。一方、AI/ET では、V/W 胚由来産子の分娩率が 80%で産子生産効率は 20.0 %であり、non-AI/ET よりも有意に高かった。また、1頭あたり 20~23 個の V/W 胚を移植した場合と同等の結果が得られた。以上の結果から、移植前に AI を実施することにより、移植する V/W 胚が必要量の半数にあたる 10 個の場合でも、効率よく V/W 胚由来産子を生産できることが明らかとなった。

第2章では、ET の汎用性を高める目的で、V/W 胚の非外科的移植について検討した。V/W 胚は Micro Volume Air Cooling (MVAC) 法で作製した。V/W 胚の体外培養における加温 48 時間後の生存率は 90.0 %で、脱出胚盤胞率は 66.7 %であった。非外科的移植は、V/W 胚 10~15 個を子宮深部へ行った。まず、移植の至適条件を得るため、受胚豚と供胚豚の発情周期差が繁殖成績に及ぼす影響を調査した。採胚日を基準に、受胚豚の発情周期が供胚豚に対し 2 日および 1 日遅れた場合 (それぞれ 2 日および 1 日) と同期した (0 日) 3 区を設定し、繁殖成績を比較した。2 日および 1 日の分娩率はそれぞれ 27.3 %および 25.0 %であり、産子生産効率は 13.9 %および 15.7 %であった。0 日では分娩例が得られなかった。これらの結果から、V/W 胚の子宮深部への非外科的移植では 2 日または 1 日が有効と考えられた。次に非外科的移植前に AI を行った場合の繁殖成績に及ぼす効果を検討した。2 日の受胚豚に対し、V/W 胚 10~15 個を子宮深部へ非外科的移植した。全ての受胚豚が V/W 胚由来産子を分娩し (分娩率 100%)、産子生産効率は 25.2 %であった。以上の結果から、MVAC 法による V/W 胚の非外科的移植では、10~15 個で子豚生産は可能だが、移植前に AI を実施することにより、効率よく安定して子豚生産できることが明らかとなった。

第3章では、一般の養豚農場で実施可能な ET の技術開発に取り組んだ。非外科的移植は手

(別紙様式第 3 号)

技が簡易で、受胚豚への侵襲リスクも低い、子宮浅部への移植を検討した。MVAC 法による V/W 胚 14~18 個を、2 日および 1 日の受胚豚に移植したところ、1 日では分娩率は 50 %で産子生産効率は 21.1 %であったが、2 日では分娩例が得られなかった。この結果から、子宮浅部への非外科的移植では、1 日が有効と考えられた。次に MVAC 法によるガラス化冷却保存胚の加温・希釈操作を、顕微鏡下での胚操作を用いない手法 (ワンステップ法) で実施した、すなわち加温液に胚を投入後に子宮浅部へダイレクトに非外科的移植した場合の繁殖成績を調査した。1 日の受胚豚へ V/W 胚 14~19 個を移植したところ、受胎率は 42.9 %で、産子生産効率は 6.4 %であった。次に、上述の結果および手法を活用し、4 か所の一般養豚農場において子豚生産の実証実験を行った。MVAC 法で作製したガラス化冷却保存胚をドライシッパーにて輸送し、輸送した農場内でワンステップ法により加温した胚 (ガラス化冷却/輸送/加温胚: V/T/W 胚) 11~20 個を 1 日の受胚豚に子宮浅部へ非外科的移植した。また一部の受胚豚は移植前に AI を実施した (AI/Ns-ET)。その結果、4 農場全てで V/T/W 胚由来子豚の分娩例が得られた。移植前に AI を実施しない場合 (non-AI/Ns-ET)、分娩率が 33.3 %で、産子生産効率は 6.3%であった。一方、AI/Ns-ET の分娩率と産子生産効率は、それぞれ 75.0 %および 21.3 %であった。以上の結果から、一般の養豚農場において、V/T/W 胚の非外科的移植により子豚生産できることが実証された。加えて、移植前に AI を実施することにより、効率よく、安定して子豚生産できることが示唆された。

本研究により、一般の養豚農場でも V/W 胚由来の子豚を生産できる ET 技術が開発され、子豚を効率よく安定して生産できることが実証された。

学位論文審査の結果の要旨

氏名	田島 茂行
審査委員	主査：山口大学 教授 高木 光博
	副査：鳥取大学 教授 菱沼 貢
	副査：山口大学 教授 日下部 健
	副査：山口大学 准教授 谷口 雅康
	副査：農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 ユニット長 菊地 和弘
題目	ブタガラス化冷却・加温胚移植における子豚生産向上に関する研究
審査結果の要旨：	
<p>本研究は、ブタにおける胚移植 (ET) を一般養豚農場で実用するため、ガラス化冷却・加温 (V/W) 胚から、効率よく子豚生産できる移植技術の開発を目的とした。V/W 胚の移植で高率に子豚生産するには、1 回の外科的移植で 20 個以上の V/W 胚が必要とされている。これを有効に利用するには 1 回 (1 頭) あたりの移植胚数を少なくさせることが重要である。ET より先に人工授精を行うことで、外科的 (第 1 章) ならびに非外科的 (第 2 章) に検討を行った。また、実際に現地 (一般養豚農場) での ET についても検証した (第 3 章)。</p> <p>まず、第 1 章では、V/W 胚の利便性を図るため、外科的移植に用いる V/W 胚が 20 個より少ない場合でも、安定した繁殖成績が得られる移植技術の開発に取り組んだ。まず、Open Pulled Straw (OPS) 法を用いて作製した V/W 胚の生存性を確認した。体外培養における加温 48 時間後の生存率は 82.9%、脱出胚盤胞率が 61.0% であった。また、1 頭あたり 20~23 個の V/W 胚を移植した場合、受胎率が 85.7% で、産子生産効率 (総産子数/総移植胚数×100) は 14.7% であった。次に OPS 法で作製した V/W 胚 10 個の移植において、移植前に受胎豚へ人工授精 (AI) を実施した場合 (AI/ET) の繁殖成績に及ぼす効果を検討した。AI を行わなかった場合 (non-AI/ET) は、分娩例が得られなかった。一方、AI/ET では、V/W 胚由来産子の分娩率が 80% で産子生産効率は 20.0% であり、non-AI/ET よりも有意に高かった。また、1 頭あたり 20~23 個の V/W 胚を移植した場合と同等の結果が得られた。以上の結果から、移植前に AI を実施することにより、移植する V/W 胚が必要量の半数にあたる 10 個の場合でも、効率よく V/W 胚由来産子を生産できることが明らかとなっ</p>	

2,000 字以内

た。

第 2 章では、ET の汎用性を高める目的で、V/W 胚の非外科的移植について検討した。V/W 胚は Micro Volume Air Cooling (MVAC) 法で作製した。V/W 胚の体外培養における加温 48 時間後の生存率は 90.0 %で、脱出胚盤胞率は 66.7 %であった。非外科的移植は、V/W 胚 10~15 個を子宮深部へ行った。まず、移植の至適条件を得るため、受胚豚と供胚豚の発情周期差が繁殖成績に及ぼす影響を調査した。採胚日を基準に、受胚豚の発情周期が供胚豚に対し 2 日および 1 日遅れた場合 (それぞれ 2 日および 1 日) と同期した (0 日) 3 区を設定し、繁殖成績を比較した。2 日および 1 日の分娩率はそれぞれ 27.3 %および 25.0 %であり、産子生産効率は 13.9 %および 15.7 %であった。0 日では分娩例が得られなかった。これらの結果から、V/W 胚の子宮深部への非外科的移植では 2 日または 1 日が有効と考えられた。次に非外科的移植前に AI を行った場合の繁殖成績に及ぼす効果を検討した。2 日の受胚豚に対し、V/W 胚 10~15 個を子宮深部へ非外科的移植した。全ての受胚豚が V/W 胚由来産子を分娩し (分娩率 100%)、産子生産効率は 25.2 %であった。以上の結果から、MVAC 法による V/W 胚の非外科的移植では、10~15 個で子豚生産は可能だが、移植前に AI を実施することにより、効率よく安定して子豚生産できることが明らかとなった。

第 3 章では、一般の養豚農場で実施可能な ET の技術開発に取り組んだ。非外科的移植は手技が簡易で、受胚豚への侵襲リスクも低い、子宮浅部への移植を検討した。MVAC 法による V/W 胚 14~18 個を、2 日および 1 日の受胚豚に移植したところ、1 日では分娩率は 50 %で産子生産効率は 21.1 %であったが、2 日では分娩例が得られなかった。この結果から、子宮浅部への非外科的移植では、1 日が有効と考えられた。次に MVAC 法によるガラス化冷却保存胚の加温・希釈操作を、顕微鏡下での胚操作を用いない手法 (ワンステップ法) で実施した。すなわち加温液に胚を投入後に子宮浅部へダイレクトに非外科的移植した場合の繁殖成績を調査した。1 日の受胚豚へ V/W 胚 14~19 個を移植したところ、受胎率は 42.9 %で、産子生産効率は 6.4 %であった。次に、上述の結果および手法を活用し、4 か所の一般養豚農場において子豚生産の実証実験を行った。MVAC 法で作製したガラス化冷却保存胚をドライシッパーにて輸送し、輸送した農場内でワンステップ法により加温した胚 (ガラス化冷却/輸送/加温胚: V/T/W 胚) 11~20 個を 1 日の受胚豚に子宮浅部へ非外科的移植した。また一部の受胚豚は移植前に AI を実施した (AI/Ns-ET)。その結果、4 農場全てで V/T/W 胚由来子豚の分娩例が得られた。移植前に AI を実施しない場合 (non-AI/Ns-ET)、分娩率が 33.3 %で、産子生産効率は 6.3 %であった。一方、AI/Ns-ET の分娩率と産子生産効率は、それぞれ 75.0 %および 21.3 %であった。以上の結果から、一般の養豚農場において、V/T/W 胚の非外科的移植により子豚生産できることが実証された。加えて、移植前に AI を実施することにより、効率よく、安定して子豚生産できることが示唆された。本研究により、一般の養豚農場でも V/W 胚由来の子豚を生産できる ET 技術が開発され、子豚を効率よく安定して生産できることが実証された。

本研究により、V/W (V/T/W) 胚の効率的移植方法が開発され、現地で検証をおこなうことで、子豚生産向上に貢献する技術であることが報告された。以上により、本論文は博士 (獣医学) の学位を授与するにふさわしいと判断された。