

優秀畜産技術者特別賞

## 広島和牛増産のための 体外受精胚の生産・供給体制構築 およびガラス化胚のダイレクト移植 可能な器具開発に関する研究

日高 健雅 ● ひだか たけまさ

広島県立総合技術研究所畜産技術センター  
育種繁殖研究部 主任研究員

### 1. はじめに

近年、グローバル化に伴い和牛肉の流通環境は大きく変化している。コロナ禍以前では、アジアを中心とした外国人観光客の増加から、国内和牛肉需要が大きく高まるとともに、海外への輸出量も年々増加傾向を示していた。一方で、生産者の高齢化や後継者不足により、和牛繁殖雌牛の飼養頭数は減少の一途をたどることで、和牛生産能力は低下した。これら、和牛肉需要の高まりと生産体制の縮小により和牛肉は供給不足となっていた。

そこで広島県では、生体の卵巣から採取した卵子を用いて生産した体外受精胚を、酪農経営が飼養する乳用牛へ移植し和牛子牛を生産する行政施策に取り組んでいる。この取り組みによる和牛子牛の安定生産には、体外受精胚の安定生産・供給と、高い移植受胎率を得られる技術の開発および開発技術の畜産現場への普及が重要であった。

### 2. 経膈採卵-体外受精技術による 体外受精胚供給体制の確立

体外受精胚を安定的に生産・供給するためには、①「生体から発生能力の高い卵子を多く採取する技術」、②「採取卵子を高率で発生

させる体外培養技術」が重要であることから、これらの技術開発に取り組んだ。

生体内の卵巣では、複数の卵胞が同時に発育と退行を周期的(7~10日間隔)に繰り返す「卵胞波」が存在しており、発生能の高い卵子を多く採取するためには、経膈採卵日に卵胞波を同調させることが有効である。そこで、ホルモン製剤を用いた卵胞波の制御による採卵成績向上の有効性について検証した。その結果、エストロゲン製剤(エストラジオール安息香酸エステル(EB))の単回投与により、卵胞波が同期化され、良好な採卵成績が得られることを明らかにした。

加えて、採取卵子を高率で体外発生させるためには、体内の状態を模した体外培養環境を提供することが重要である。そこで、体外培養工程の一つであり、卵子が受精能を得るために必要な「体外成熟培養」技術の開発を行った。その結果、10 $\mu$ M dbcAMPの体外成熟培地への添加により、体外受精後の卵子の発生能が高まることを明らかにした。

これらの技術開発により、1回の経膈採卵-体外受精で、1頭あたり平均7個の移植可能な体外受精胚の生産が可能となった。

### 3. ガラス化胚のダイレクト移植可能な 器具開発

体外受精胚の移植において、緩慢凍結法による保存胚の移植受胎率が低いことは胚移植普及の妨げとなっていた。一方で、生存性が高いガラス化胚を研究室内で融解・供給することにより高い受胎率を得ていたが、融解作業に特殊技術が必要であることから、現場への普及に課題があった。

これらの課題を解決するため、生存性の高

いガラス化保存胚を農家の庭先で簡易に融解しダイレクト移植を可能とするガラス化胚保存・融解器具の開発に取り組んだ。

ガラス化胚の融解時の障害を防ぐ課題は、脱ガラス化という現象を防ぐことである。そのためには、保存胚の融解時に $-80^{\circ}\text{C}$ 付近を急速に加熱する必要があるが、融解液とガラス化胚を同居させたストローを温湯に浸すだけでは、加熱速度が緩慢となり脱ガラス化が発生する。そこで、脱ガラス化を防ぐため、融解液を吸引したストローに保冷器を取り付けたガラス化胚保存・融解器具「ビトラン-7」を開発した(図1)。この器具により、融解液を吸引したストロー部分の加熱中にも、ガラス化胚は保冷器部でガラス化状態が維持される。融解液が融けたのちに胚を載置したチップを融解液に押し込むことで、ガラス化胚は $-80^{\circ}\text{C}$ 付近を急速に加熱され、脱ガラス化することなくストロー内融解が可能となった(図2)。この器具を用い、協力農場において移植試験を実施したところ、47.7%の受胎率が得られ、実用化の目途を立てることができた。

#### 4. ビトラン-7の県内普及に向けた取り組み

県内酪農経営および胚移植技術者に向けて、ビトラン-7の認知を得るため、ビトラン-7により保存した体外受精胚(ビトラン-7体外胚)を無償で提供した。県内の胚移植技術者27名が実際に現地で移植した結果、受胎率は

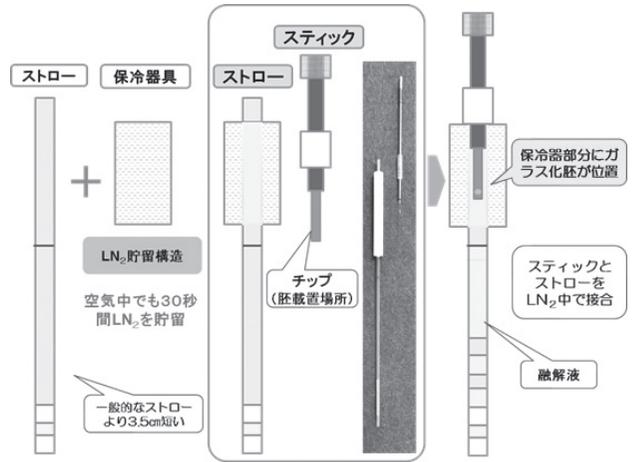


図1 ビトラン-7の概要

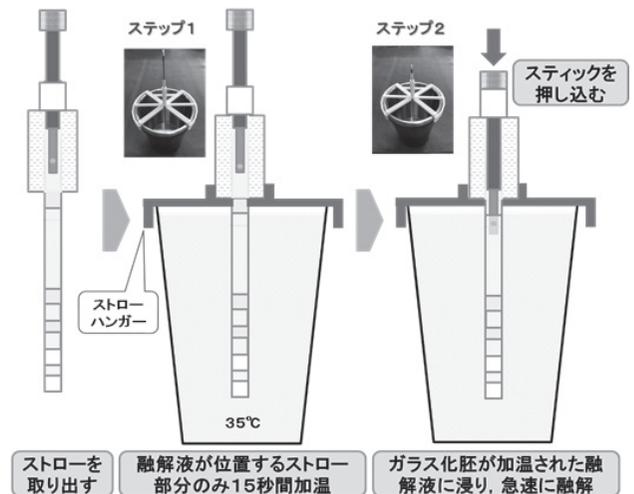


図2 ビトラン-7胚の融解方法



図3 県内技術者に対する繁殖技術研修会の開催

表1 ビトラン-7を用いた受胎率

	指導前	指導後	一般販売
受胎頭数/移植頭数	10/69	72/161	37/66
受胎率	14.5%	44.7%	56.1%

※受胎牛には、未経産、経産牛を含む

14.5% (69頭中10頭)と低調であった。初めて使用する器具であり、操作方法の習得が不十分であったことが原因と推察された。

そこで、年間10頭以上の移植実績がある技術者数名を選定し、集中的にビトラン-7の普及啓発を図ることとした。選定技術者に対して研修会などによる繰り返し指導を行い融解技術の取得を促した(図3)。その結果、指導後のビトラン-7体外胚の移植受胎率は44.7%となった。さらに、融解方法を習得した技術者からビトラン-7体外胚の供給希望があったため、令和元年度からビトラン-7体外胚の一般販売も開始したところ、一般販売したビトラン-7体外胚の受胎率は56.1%であり良好な成績が得られた(表1)。

以上の研究で実証した体外受精胚生産技術およびガラス化胚の保存・融解器具「ビトラン-7」は、広島和牛の生産性向上に貢献すると考えられる。

## 謝辞

本研究の遂行にあたって、ミサワ医科工業株式会社および広島県農林水産局の受精胚事業を担当する職員そして、広島総合技術研究所畜産技術センター育種繁殖研究部の仲間たちに多大なる協力をいただいたことに深謝する。

優秀畜産技術者特別賞

# 成牛ウイルス性下痢症の疫学 および 迅速診断に関する研究

福田 昌治 ● ぶくだ まさはる

埼玉県農業技術研究センター 養豚・養鶏担当 担当部長

## 1. はじめに

成牛の下痢症は寒冷期に集団発生することが多く、特に乳用牛では、乳量が減少するなど経済的被害が大きい。その主原因として牛コロナウイルス(BCV)が従来からよく知られている。筆者は、2004年から家畜保健衛生所(以下、家保)の病性鑑定(ウイルス検査)を担当し、多くの成牛下痢症の事例に遭遇した。当時、BCV以外にも牛ロタウイルスB(RVB)、牛ロタウイルスC(RVC)、牛トロウイルス(BToV)が成牛下痢症の原因となっていることが明らかになっていた。しかし、これらの浸潤状況、臨床症状、疫学実態は不明な点が多かった。また、ウイルス性下痢症の検査では通常、標的ウイルス毎のRT-PCR法が用いられ、多くの労力とコストを要していた。そのため、より迅速で低コストな診断法の開発と、それによる疫学実態の解明が望まれていた。そこで筆者は、他県の担当者の協力を得て成牛下痢症について、全国規模の疫学調査を実施するとともに、その過程で明らかとなった成牛下痢症の原因となる主要なウイルス5種について、検査の迅速化・簡便化を図るため、これらを同時検出するマルチプレックスRT-PCR法を開発した。