

平成25年 4月 1日

財団法人富山第一銀行奨学財団
理事長 金岡純二 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名：富山大学	助成金額：900千円	
研究代表者：西園啓文	所属：生命科学先端研究センター 動物実験施設	職位：助教
研究題目：富山県産ブランド豚・とやまポークにおける精子凍結保存技術の開発 および実用化		

【研究概要】

富山県では独自のブランド豚肉として、ランドレース種、大ヨークシャー種、デュロック種の三元交配種豚（LWD）の豚肉「とやまポーク」を畜産研究所や生産者団体などが普及させようと努力している。富山県畜産研究所では、このとやまポークの旗艦系統として、「タテヤマポーク II」の系統造成が行われている。本研究課題は、この富山県産ブランド豚肉の生産において、精子凍結保存技術と凍結精子を用いた人工授精を導入することで、個体間差に悩まされることなく、計画生産を行い、生産効率を安定・向上させようとするものである。

豚の精子凍結保存技術は国内・海外ともにいまだ未発達な状況である。近年、広島大学と大分県で開発された新規豚精子凍結保存技術は、現状で最も効率の良い豚精子凍結保存技術であるが（特許出願 2007-325313；特許出願 2009-144703）、低濃度ではあるものの凍結保護剤にグリセロールを使用していること、および操作に時間がかかるなどの技術的な課題も残っている。申請者らは23年度の技術開発によって、先行技術とは異なり、単純オリゴ糖と卵黄のみの凍結保護剤を開発し、操作も簡単な半急速凍結保存法の可能性を見出しており、本研究課題ではさらなる効率化と実証試験を下記のように実施した。

サブテーマ（1）非グリセロール系豚精子凍結保存液の改善

昨年度までに開発したラフィノースと卵黄による豚精子凍結保存液には、①半急速凍結操作中に運動性を失う精子がある、②卵黄を用いるため、ロット間差が大きいという問題点が残っている。そのため、本研究課題では、卵黄の代替物として細胞膜保護効果のあるコレステロール・フォスファチジルコリンなどの脂質を用い、さらに抗酸化力のある新規希少糖（アンヒドロフルクトース、アスコピロンP）を補助凍結保護剤として使用することで、この問題の解決を目指す。

サブテーマ（2）開発した新規精子凍結保存液の機能性評価

サブテーマ（1）にて開発した新規豚精子凍結保存液を用いて、実際に富山県

畜産研究所の系統豚「タテヤマヨークII」の種雄豚精子を凍結保存したのち、①透明帯除去マウス卵子を用いた前核形成能試験、②タテヤマヨークII 雌への人工授精試験を実施する。達成目標としては、前核形成能 60%以上、着床率 80%以上・胎子数 10 頭前後を設定する。

【成果要約】

1. 凍結保護剤である OEP およびプログラムフリーザーを用いない新たなブタ精子凍結保存法の開発

現在一般的に行われているブタ精子凍結保存方法はグリセロール、OEP、卵黄を凍結保護剤として使用し、プログラムフリーザーという非常に高価な機器を用いて行っており、小規模畜産農家での実施が難しい原因の一つになっている。

本研究において、グリセロールの排除には最終的に至らなかったものの、OEP とプログラムフリーザーを用いることなく、非常に簡便で 1 時間と短時間でブタ精子を凍結することに成功した。この成果については、JST「A-step」に研究を引き継ぎ、さらなる改善を目指す。

2. とやまポークの元品種である大ヨークシャー、デュロック、ランドレースの精子の比較

サブテーマ（1）の開発において、ブタ品種間の精子性状について比較したところ、ランドレースの精子において著しく精子運動性が悪いことがわかり、この品種精子の運動性改善を行わなければ、ブタ精子凍結の普及は難しいことがわかった。この成果については、論文投稿準備中である。

3. 透明帯除去マウス卵子を用いた前核形成能評価および人工授精試験

透明帯除去卵子での前核形成能試験については、再現性の確認のため、JST「A-step」に研究を引き継ぎ、今後も実施する予定である。また人工授精試験については、ブタの準備中であり、これも平成 25 年度に実施する予定である。

(別添資料)

研究成果 発表状況	【雑誌論文, 学会発表, 図書, 新聞掲載, 研究に関連して作成した Web ページ, 産業財産権 (特許権等) の出願・取得状況について記入】 ・新たに開発した豚精子凍結保存方法について、特許出願準備中 ・豚精子の運動性が品種により異なるという発見についての論文投稿準備中		
経費の 執行状況	区分	執行額 (円)	備考
	物品費 ・実験器具 ・マウス 旅費 ・研究打ち合わせ ・日本分子生物学会 その他 ・学会費	710,099 円 88,721 円 23,500 円 49,180 円 28,500 円	