

Swim up 法を応用した豚精子の凍結保存

加地雅也¹⁾・○清水隆夫・松窪敬介・大村 誠・家入誠二²⁾

(熊本農研セ・¹⁾ 熊本県農林水産部・²⁾ 熊本農研セ草地畜産)

【目的】

当所では、本県独自の系統豚「ヒゴサカエ302」を基礎とした県産豚肉のブランド化を推進しており、系統豚の優れた遺伝資源を効率的に保存・活用する技術の開発が望まれている。一方、Swim up 法は、受精能の高い運動良好な精子を回収するための精子調整法で、人医領域の体外受精-胚移植で広く活用されている。そこで、Swim up 法を応用した豚凍結精液作製技術の有効性について検討した。

【材料および方法】

供試豚は本所のランドレース種雌豚3頭(以下A, B, C)を用いた。希釈から凍結処理方法はすべて豚凍結精液利用マニュアル(以下マニュアル)に準じて行ったが、下記のとおり、方法を改良して行った。

(1) 前処理: Swim up 処理には Universal IVF medium (以下UIVFm: MediCult 日本農産工業)を使用した。また、前処理にはモデナ液を使用し、精漿は除去した。精漿除去後、Swim up 区には同じ温度に保温したUIVFmをもとの精液量の約3分の2量加えて混和後、遠心管を傾斜させ、37℃の恒温器内で30分静置しSwim upした(図1)。(2) 希釈: 第1次希釈液に添加する糖はトレハロースを用い、2次希釈液のグリセリン濃度は6%とした。(3) 凍結融解後の精子運動性および人工授精による受胎率・産子数を調査した。なお、活力検査は主観による誤差を生むため、精子生存指数による判定は行わず、通常、簡易的に用いられている生存率と運動性(一部++を含む運動性+++の精子が生存率70%の表記例: 70+++)による簡明な表記で判定した。

【結果および考察】

(1) Swim up法による精子回収成績は、採取直後の精液の精子濃度2.5億/mlに対して、採取した境界部の精子濃度は3.4億/mlであった。また、Swim upに供した精液原液が平均30mlであったのに対し、境界部の採取量は13.3ml(44.3%)で、精子回収率は平均60.2%であった。

(2) 融解直後の精子活力平均値はSwim up区が36.7+++に対し常法区は32.5+++、15分後では35.0+++と27.5+++、30分後では32.5+++と22.5+++、60分後で

は29.1+++と20.0+++で、融解後の観察時間を通じてSwim up区が高い値で推移した。特に子宮内注入後、精子の多くが卵管膨大部に到達するとされる30分後の時点ではその差が大きかった(図2)。

(3) Swim up 法凍結精液による人工授精成績は、3頭すべてで妊娠が確認された。また、性周期、発情兆候の明瞭であった種雌豚AとBは正常に分娩し、産子数4頭と6頭であったが、同兆候が不良であった種雌豚Cは分娩にまで至らなかった。

以上の結果から、Swim up 法を応用した豚凍結精液作製技術は、従来法よりも高い受胎率が得られる可能性が示唆された。しかし、より客観的に評価するために、今後は精子運動解析装置による精子性状の解析を行い、実用化に向けたデータの蓄積が必要と思われた。

さらに、今後の課題として、1回の凍結精液生成本数の増加、受胎率と産子数の向上、低コスト化への対応が挙げられる。

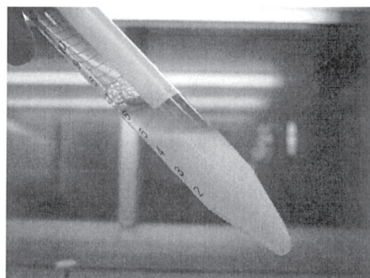


図1 Swim up 後の精液

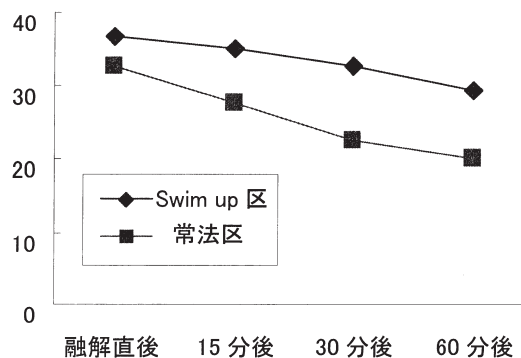


図2 Swim up 法が融解後の精子活力におよぼす影響
数値は +++ の活力を示す精子の割合