

## JA 全農 ET センターニュース平成 21 年 3 月号

### ウシの性判別関連技術を利用した性比のコントロールについて

ウシにおいて性を選択できる技術を生産者が活用できることは経営にとっても計り知れない効果を生みだす。乳牛であれば雌の増産によって、更新計画が立てやすくなると同時に、個体販売においても収益性を高めることが可能となる。現状では通常的人工授精を行なっても、雌と雄の比率がその年によってどちらかに偏ることが多く、酪農経営における更新等の計画は立てづらいのが現状である。今回は乳牛における性比コントロールの技術的な歴史やその現状について言及し、今後の活用法も紹介させていただきます。

#### 性の決定機構

哺乳動物の性の決定権は基本的には精子側（雄の性染色体は XY：減数分裂により精子は X か Y の染色体を持つ：理論的にはその比率は 50%：50%）にある。X 染色体（雌）か Y 染色体（雄）どちらを持った精子が卵子に受精したかで、その産子の性が決定される。

#### 性比コントロールの歴史

ヒトの性比のコントロールについても紀元前から種々の諸説やもっともらしい学説が生まれては消え、生まれては消えてを繰り返してきた。1984 年に養賢堂より発行された西田司一著「哺乳動物の性比と性支配」から性比の歴史について引用させていただくと、性比に影響する要因として勢力説（男親が強いと女の子が生まれ、女親が強いと男の子が生まれやすい）、女性膈内の pH 説（アルカリ側で男の子、酸性側で女の子）、遺伝的要因説、産次と性比、交配時の季節と性比、両親の年齢と性比、交配頻度と性比、血液型と性比、気象条件と性比およびホルモンによる内分泌学的性支配（甲状腺関連）に関する多数の研究報告を整理しているが、どの説をとっても否定や肯定的データがあり、決定打は見当たらない。その後、精子に対する X と Y の分画法に関する研究が進められた。精子頭部の大きさ、重さ（比重）、特殊蛍光小体（F-body）による選別、電気泳動や走電性、精子の運動速度および Y 精子が持つ H-Y 抗原免疫からの研究などが実施された。しかしながら、いずれの手法も性比をコントロールできるレベルにまでは達していないのが現状である。

現時点では後述する受精卵の遺伝子検査による性診断やフローサイトメーターを用いた精子選別法が実用化されている。この手法であれば雌の生産予測値は前者でほぼ 100%、後者で約 90%前後の精度が期待できる。

#### 受精卵（胚）の性判別

性診断のために受精卵の一部（4 から 10 細胞）が切断されたものは通常の凍結融解では受精卵の一部に損傷があるため凍結融解後の生存率が極端に悪くなることが報告されている。性判別済み乳牛受精卵の国内でのマーケット化を図るには凍結保存は必須であり、技術の改良が望まれていた。当センターでは 8 年前より、電磁場を活用した性判別済み乳牛受精卵のための新しい凍結保存技術の開発に取り組み、近年になって、凍結融解後のダイレクト ET による受胎率が 60-70%得られるところまで来た（Ideta ら、2007 年 IETS 発表）。

しかしながら、実際には受精卵を回収し、10 個の正常胚が得られたとしても、性診断を

行い雌である確率は不安定（8 - 9 個が雄というケースがあり、その逆は少ない）で、かつ凍結可能な高品質受精卵の約 6 個（60%）は雄であり、1 個あたりの雌受精卵のコストは採卵経費ならびに性診断キット試薬等の経費がかさみ、かなりの割高となってしまうのが現状である。今後の普及を考えると、過剰排卵処置牛に対する何らかの性比コントロール（雌の受精卵の比率を高めることでコスト低減を図ること）が大きな課題となる。Martinez ら（*Theriogenology* 62, 1264-1270, 2004）の報告によると発情開始からの人工授精実施時間と産子の性比を泌乳牛にて検討しており、その時間が 8 - 18 時間以内での雌率は 73.1%、18-30 時間以内で 59.8%、30 時間以上の区で 27.9%であったと述べている。X（雌）と Y（雄）の精子で運動持続時間が異なる可能性を彼らは推察しており、発情開始から早い時間に人工授精すると、排卵（発情開始から 30 - 32 時間で排卵）までに Y 精子の運動性が落ちて、X 精子が受精する確率が高まるのではと説明している。そこで我々（韓国のグループとの共同研究）もホルスタイン種未経産牛を過剰排卵処置して、人工授精のタイミングと回収した受精卵の雌率を検討したが、早いタイミング 1 回授精で 50.0%、中間のタイミング 1 回授精で 48.4%、中間 + 遅いタイミング 2 回授精で 52.2%と 3 区間で性比には影響が認められなかった（Lim ら、2007 年 IETS 発表）。過剰排卵処置の場合、複数の排卵は時間をかけてばらつくことが知られており、人工授精のタイミングで性比をコントロールすることは難しいと判断された。それ以外にも卵子が存在する卵胞液中のテストステロン濃度が受精卵の性比に影響することが近年報告されており、今後も継続して性比に関連する新しい研究に取り組んでいきたいと考えている。

#### 超音波診断器を用いた胎子の性診断

超音波診断器を用いた妊娠牛の胎子の性別診断は北米ではルーチンで行われている。ウシの場合は妊娠日齢 50-90 日（日本人の場合は手のリーチが短いので 60 日前後で診断するのがベター、50 日では生殖隆起が小さく誤診する可能性あり）で実施し、胎子の生殖隆起の結節部位のエコー像により診断する。技術としては熟練を要するが、胎子へのエコーの当て方が適切であれば診断精度はかなり高い。本技術は雄産子が予想される場合の難産対策や計画交配で産子が雄か雌かを予知するために利用されるケースが多い。臍帯の付け根に生殖隆起が確認できれば雄、尾根部の下（外陰部に相当する部位）に生殖隆起が確認できれば雌と判定される。当センターでも今までに数百例実施してきたが、誤診は数例に留まっている（尾が腹部に丸まって臍帯の根元で尾骨が光った場合に雌を雄として誤診するケースがあり注意が必要）。

#### 精子の XY 選別技術

フローサイトメーターを用いた X と Y 精子の選別に関する研究は米国農務省の Johnson 博士が 1980 年代初期から勢力的な研究を行ってきた。しかしながら、その実用化にいたるまでには長い年月を必要とした。実用化のスタートは英国において BSE 発生後の雌増産対策に利用されたのが始まりで、その後近年になって急速に世界中に普及した。北米では 2007 年 200 万本、2008 年は 400 万本の生産（計画）となり、輸入精液として国内でも利

用が始まっている。また国内の AI 事業体では家畜改良事業団が 2007 年 2 月から、ジェネテイクス北海道も 2007 年 4 月から X 選別精液の販売を開始した。

X 選別精子の人工授精による乳牛の受胎率は未経産牛で 56.0%、経産牛では 36.4%であったと早川（デーリーマン、58,48-49,2008）は報告している。また湊（ET ニュースレター、32,1-10,2008）もその乳牛の受胎率は未経産牛で 48.3%、経産牛では 35.3%であったと述べている。早川は X 選別精子の利用を受胎率とコストの面からも未経産牛で活用することを推奨しており、国際的にも経産牛への X 選別精子の人工授精はコスト面からも慎重に行なうべきとの報告が多いのが現状である。X 選別精子の 1 ストローあたりの精子数は通常精液と比べて北米では 1/5 - 1/10 濃度（約 200 万）と薄く、かつ、フローサイトメーターを用いて選別したストレスからも凍結融解後の精子運動性はかなり低いレベルにあるので、発情観察をしっかりと行ない、ウシを選んで慎重な授精操作を必要とするのが現状である。

#### 過剰排卵処置牛への X 選別精子の利用による雌受精卵の生産

ET から見た場合、X 選別精子を過剰排卵処置した乳牛からの採卵に利用できれば受精卵の一部を遺伝子診断のために切断をすることなく、通常の凍結手法により凍結卵が作成できること、かつ、遺伝子診断と異なり、雄として破棄する胚がなくなるので胚のコスト低減にもつながる。またその受胎率が通常の受精卵と同様であれば、受卵牛に未経産牛はもとより、経産牛も利用でき、改良と増殖をかねた雌生産技術として国内でも普及する可能性がある。そこで、十勝農協連およびジェネテイクス北海道と当センターとの共同試験を 2 年前に実施した結果、乳牛未経産牛であればある一定の正常卵数が回収できることがわかった（1 頭あたり平均 5.6 個の凍結可能卵）。また、そのダイレクト凍結胚の移植成績は当センター内で 70%の受胎率が得られおり、今年度は新規事業として取り組みを開始した。

#### 今後の展開

現在、当 ET センターでは十勝農協連とジェネテイクス北海道との共同で、乳牛雌受精卵の活用事業を展開中である。十勝管内の優良遺伝子のファミリーを所有している生産者から供卵牛を提供していただき、X 選別精液を用いて当センターにて採卵、その凍結受精卵をまずは管内の JA グループを通じて生産者に紹介し利用していただく事業であり、かなりの好評を得ている。本事業が乳牛受精卵のマーケット化を国内で形成するきっかけとなればと考えている。国内で流通していないものを海外へ展開することは不可能であり、将来、海外マーケット（韓国や中国等）にもこのような乳牛受精卵の供給拡大が図られ、優良遺伝子を持つ生産者の収益性向上が図れるような展開にしていきたいと考えている。いづれにしても、乳量増産のためにも生産者の優良遺伝子の提供と国内での利用拡大が急務であり、多くの生産者ならびに関連機関の協力のもとに X 選別精液を利用した乳牛受精卵のしくみ作りと普及に向けて努力していきたい。また性比コントロールの研究も継続して実施し、生産者に役立つ確かなデータが得られれば情報発信を行なっていきたいと考えています。