

일본에서 성판별한 흑모화우 체외수정란의 생산과 이용

Hamano Seizo 박사

일본 가축개량사업단 가축바이오텍센터

일본에서 성판별한 흑모화우 체외수정란의 생산과 이용

Hamano Seizo 박사

일본 가축개량사업단 가축바이오텍센터

1. 서 론

체외수정 기술은 1970년대에 실험동물을 중심으로 개발되어, 현재 여러 연구에 공헌을 하고 있다. 또한 1978년에 사람에서 시험관 아기의 탄생과 사람의 생식보조 의료기술로서 발전하고, 불임으로 고민하고 있는 부부에게 희망을 주는 실용적인 기술이다.

가축, 특히 소에서 체외수정기술은 인공수정의 광범위하게 보급되면서 비롯된 실용적 가치가 떨어진다고 생각되어지는 시기를 보냈으나, 현재에는 폐기된 난소로부터 송아지를 생산할 수 있는 기술로서 인식되어 실무적인 기술로 발전되어 왔다.

사단법인 가축개량사업단에서는 1991년부터 일본 전국을 대상으로 흑모화우 체외수정란을 이용한 송아지 생산 사업을 담당하여 현재에 이르고 있다.

주요 목적으로는 낙농농가에서 후계소를 생산하지 못하는 홀스타인의 배에 흑모화우 체외수정란을 이식하여 부가가치가 높게 송아지 생산을 하므로서 낙농경영의 안정에 기여하고 있다. 일본의 낙농농가에서는 홀스타인의 번식(인공수정 등)에서 홀스타인의 수송아지가 생산되었을 경우, 그 송아지는 상당히 싸게 팔린다. 이것을 해결하는 방법으로서 흑모화우의 정액을 인공수정하여 교잡종을 생산하는 방법이 있으며, 교잡종의 송아지는 홀스타인 수송아지보다 판매가격이 비교적 유리하게 판매가 가능하다. 또 홀스타인을 수란우로 사용하고, 흑모화우의 수정란을 이식하여 흑모화우 송아지를 생산한 경우 교잡종에 비하여 더 높은 가격으로 유리하게 판매할 수 있다.

현재의 흑모화우 체외수정란의 이식 개수는 연간 약 20,000개까지 달하며, 양질의 흑모화우 비육 육성우 증산을 위해 수요가 증가하고 있다.

생산된 체외수정란의 송아지는 일본 각지의 가축시장에서 상당히 활발하게 높은 가격에 판매되고 있으나, 가축시장에서 송아지가 판매되면서 수송아지가 암송아지에 비해 높게 판매되고 있다.

더불어 2004년부터 성판별한 체외수정란의 공급을 시작하여 송아지 판매시 유리하게 판매할 수 있는 송아지 생산 시스템을 구축하였다.

본 강연에서는 성판별 체외수정란을 이용하게 된 배경을 살펴보고 최근 일본에서의 체외수정란의 이용의 현황을 소개하고자 한다.

2. 비육우 증산을 목적으로 한 체외수정란 이식 사업

공급 수량이 해마다 증가하고 있는 흑모화우 체외수정란은 주로 낙농 농가에서 사양하고 있는 후계소를 생산하지 않으려는 홀스타인을 수란우로 이식하고 있다. 그 비율은 공급개수의 95%에 달한다. 즉, 이 사업을 추진하면서 이식을 원하는 주체는 낙농 농가들이다.

그렇다면 사육되고 있는 홀스타인에 흑모화우 체외수정란을 이식하면 어느 정도 낙농경영에 반영되게 될까 하는 것이 이 사업의 중요 포인트이다.

태어난 송아지는 유리하게 환금(換金) 되는 것이 경영상에서 가장 중요한 일이다. 태어난 체외수정란유래 송아지를 가축시장에서 판매할까 아니면 스스로 비육까지 하고 판매할까에 대한 방향성은 낙농농가의 판단에 달려 있다. 이 선택의 과정 중에 가장 단시간에 송아지를 환금하는 것이 가능한 것은 가축시장에 송아지를 판매하는 것이다.

일반적으로 흑모화우 송아지를 가축시장에서 판매할 경우, 약 9~10개월령의 송아지를 대상으로 판매되고 있다. 한편, 일본의 낙농농가의 대부분은 생산된 송아지 중 유우의 암송아지 이외에는 될 수 있으면 빨리 판매하는 것이 좋다고 생각되어, 낙농가들은 생산된 홀스타인의 수송아지와 교잡종의 대부분은 약 2개월령(또는 그 이하의 월령)에서 판매되고 있다.

그래서 낙농 농가가 생산한 흑모화우 체외수정란 유래 송아지도 같은 상황으로 약 2~3개월령 단계에서 판매되는 사례가 압도적으로 많은 것이 특징이다. 그 판매가격도 서서히 높아지게 되어 현재에는 교잡종에 비하여 약 10만엔 정도 높은 40만엔 전후에 판매되고 있다.

송아지 판매가격이 높아지고 있는 배경에는 체외수정란 산자의 산육성적이 높다는 것이다. 이 식사업의 개시에서부터 수년간 거쳐 오면서, 조금씩 체외수정란 산자의 산육성적이 판명되기 시작하였다. 이 성적이 높아지고 있다는 것이 밝혀지면서 이식두수도 증가하고 일본 각지의 가축시장에서 체외수정란 산자의 경매가 활발하게 이루어지게 되었다.

이 가축시장에서 송아지 판매동향을 살펴보면 수송아지는 암송아지에 비하여 약 10만엔 정도 높게 판매되는 경향을 보였다.

이와 같은 추세에 따라, 낙농경영에 있어서 보다 유리한, 보다 고부가가치의 송아지를 생산하려는 목적에 (사)가축개량사업단에서는 2004년부터 성판별 체외수정란의 생산과 판매에 착수하였다.

3. 성판별 체외수정란의 생산과 이식

수정란의 성판별을 하는 것은 성염색체를 관찰하는 방법과 PCR법이 보고되어 왔으나, 샘플 채취의 어려움과 검사시간이 길고 또 성판정의 정확도 등의 실용적인 측면에서 말하기 어려운 상황이었다.

이와 같은 상황에서 개발된 kit화된 LAMP법은 성판별에 소요되는 시간이 단축되고 성판별의 정확도가 높아져 실제적으로 이용될 수 있을 것으로 판단되어 시험을 반복한 결과 공급을 개시하였다.

실제로 체외수정을 하는 일자를 Day 0으로 하고, Day 7일에 발생된 확장기 배반포의 영양막세포를 미세조작기에 장착된 블레이드(칼)로 잘라내어 LAMP법의 샘플로 이용한다. Biopsy(생검)를 한 후 수정란은 발생배양액에 되돌려 약 3시간의 배양을 하면, 상처 입은 영양막세포가 회복되어 형태적으로 재확장을 하기 시작한다.

성판별의 판정이 나타나는 시점에 수정란의 형태를 현미경하에서 확인하고 정상적인 회복과정을 보인다고 판단된 수정란을 신선수정란으로 이식현지에 수송하여 이식하고 있다.

판매상황은 2004년이 1,878개, 2005년이 2,442개, 2006년이 2,095개로서 연간 신선 체외수정란의 전판매개수의 약 20%를 차지한다.

성판별 체외수정란의 공급이 가능하게 된 것은 이용자가 보다 더 유리하게 체외수정란의 산자를 판매할 수 있는 방법을 경영상에 포함시킴으로서 공급 개수의 증가는 이용자가 경영상의 장점이 있었다고 하는 것을 추정할 수 있다.

이식된 성판별 체외수정란의 수태율은 2004년의 전국 평균 43.6%였으나, 지역에 따라 수태 상황을 조사하여 보면 25~70%의 커다란 격차를 보이고 있다.

4. 체외수정란의 성비

성판별과 함께 체외수정란은 형태적으로 관찰하여 IETS 매뉴얼(세계수정란이식학회 수정란 지침서)에 따라서 Excellent라고 판정된 수정란으로서, 발달단계는 배반포에서 확장배반포로 이행되고 있는 시기의 수정란을 이용하고 있다.

이러한 요건을 갖추고 있는 수정란을 무작위로 추출하여 성판별에 공여한 결과 3년간을 통하여 수컷의 수정란의 많다는 것이 밝혀졌다(53~60%).

또한 이들의 수정란을 체외수정에 이용한 증모우와 매회 비교하여 보니까, 전체가 전부의 증모우에 의한 수정란에서 수컷 수정란이 많은 경향을 보였다.

5. 유용종 암소 생산에의 응용

체외수정란의 이용은 전술한 바와 같이 주로 낙농가의 젖소에 흑모화우 체외수정란을 이식하고 비육소로서 흑모화우 송아지를 증산하는 것을 목적으로 하여 왔다. 그러나 체외수정 기술과 성판별기술을 조합하여 보면 낙농농가에서 도태된 젖소로부터 효율적으로 후계우를 생산하는 것도 가능하게 되었다.

더불어 도태 대상이 된 유용종으로부터 후계우를 체외수정란으로 생산하고자 하는 농가의 희망에 대하여 본 기술을 응용하여 이용되고 있다. 대상이 된 암소의 대부분은 사육하고 있는 장소의 인근에 도축장에 출하가 많이 되므로 난소의 채취가 도쿄로부터 각지로 분배되고 있다.

일본에서는 BSE 발병 후 도축된 소가 BSE 음성이라고 확인되기 까지 모든 장기가 도축장으로

부터 반출이 금지되어 있다. 더욱이 난소를 채취한 직후 도축장내에서 난자의 채취를 하고 cryo tube내에서 성숙배양액 속에 난자를 넣어 밀봉하고 성숙배양을 개시한다.

BSE 검사 결과가 음성이 판정되면, 성숙배양중인 난자를 도쿄로 수송하고 체외수정란의 생산을 실시한다. 발생한 배반포는 성판별을 실시하고 암컷이라고 판정된 수정란만을 이식하여 농가까지 신선수정란으로 수송하여 이식을 실시한다.

이식가능한 배반포는 상용한 정액(종모우)과 관계없이 3년간을 통하여 1두에서 평균 6개 생산이 가능하게 되었다. 이러한 개수는 과배란처리하여 체내수정란의 채취하는 일본에서의 평균 회수개수와 거의 동일한 개수이다.

그러나 이러한 수정란의 성판별을 실시한 결과, 전술한 흑모화우와 같은 형태로 수 : 암의 비율은 6 : 4이며, 최종적으로 이식가능 암컷 수정란의 개수는 1두당 평균 2개이었다.

日本における性判別した黒毛和種体外受精卵の 生産と利用

(社) 家畜改良事業団 家畜バイテクセンター
浜野 晴三

1. はじめに

体外受精技術は、1970年代に実験動物を中心に開発され、現在の創薬研究に貢献をしている。また、1978年にヒトの「試験管ベビー」の誕生は、ヒトの生殖補助医療へと発展し、不妊に悩むカップルへ光明をもたらす実用的な技術となっている。

家畜、とくにウシでの体外受精技術は、人工授精の広範な普及から実用的価値に乏しい技術と考えられた時期を経て、現在では廃棄される卵巣から子牛を生産し得る技術として認識され、実務的な技術へと発展してきた。

(社) 家畜改良事業団では、1991年から日本全国を対象として黒毛和種体外受精卵を利用した子牛生産事業を担当し、現在に至っている。

その主な目的は、酪農家で後継牛を生産しないホルスタイン種の腹に黒毛和種体外受精卵を移植して、付加価値の高い子牛生産を行うことにより、酪農経営の安定に寄与することにある（日本の酪農経営では、ホルスタイン種の繁殖（人工授精等）でホルスタイン種の雄子牛が生まれた場合、その子牛は非常に安く取引される。それを補う方法として、黒毛和種の精液を人工授精して交雑種を生産する手段があり、交雑種の子牛はホルスタイン種雄子牛の販売価格に比べて有利な販売ができる。さらに、ホルスタイン種を受卵牛として使い、黒毛和種の受精卵を移植することにより黒毛和種の子牛を生産した場合、交雑種に比べてさらに高い価格で有利な販売ができる。）。

現在の黒毛和種体外受精卵の移植個数は、年間およそ20,000個にまで達しており、良質な黒毛和種肥育素牛増産のための需要が増加している。

生産した体外受精卵産子は、日本各地の家畜市場で非常に活発に高い価格で取引されているが、家畜市場での子牛の販売の際、雄子牛が雌子牛に比べて高く販売されるという価格差が生じている。

そこで、2004年から性判別した体外受精卵の供給に着手し、子牛販売に有利な性の子牛を生産するシステムを構築した。

本講演では、性判別体外受精卵を利用するに至った背景を踏まえ、最近の日本での体外受精卵の利用の情勢を紹介する。

2. 肥育素牛増産を目的とした体外受精卵の移植事業

供給個数が年々増加している黒毛和種体外受精卵は、主に酪農家の飼養する後継牛を生産しないホルスタイン種を受卵牛として移植されている。その割合は、供給個数の約95%に達する。すなわち、この事業を推進するうえで、移植を求める主体は酪農家である。

では、飼養しているホルスタイン種に黒毛和種体外受精卵を移植して、いかに酪農経営に反映させていくかが、この事業の重要なポイントとなる。

生まれた子牛を有利に換金することは、経営の上で最も大切なことである。生産した体外受精卵産子を家畜市場で販売するか、あるいは自らが肥育まで行い食肉市場で販売するか、方向性は酪農家の判断に委ねられる。その選択肢の中で、最も短時間に子牛を換金することが可能となるのは、家畜市場で子牛を販売する方法である。

一般に、黒毛和種子牛を家畜市場で販売する場合、約9～10ヶ月齢の子牛が販売対象とされている。一方、日本の酪農家の多くは、生産した子牛の中で、乳牛の雌子牛以外はできるだけ早い時期に手放したいと考えており、酪農家が生産するホルスタイン種の雄子牛や交雑種のほとんどは、約2ヶ月齢（あるいは、それ以前の月齢）で販売されている。

したがって、酪農家が生産する黒毛和種体外受精卵産子も同様に、約2～3ヶ月齢の段階で販売される事例が圧倒的に多いことが特徴となった。その販売価格も徐々に高くなり、現在では交雑種に比べておよそ10万円程度高い40万円前後で取引されている。

子牛取引価格が高い背景には、体外受精卵産子の産肉成績が高いことにある。

移植事業の開始から数年間を経て、少しずつ体外受精卵産子の産肉成績が判明し始めた。その成績が高いことが明らかになると共に、移植頭数も増加し、日本各地の家畜市場で体外受精卵産子のセリが活発に行われるようになった。

その家畜市場での子牛の販売動向を追うと、雄子牛は雌子牛に比べておよそ10万円程度高値で取引されている現状があった。

このような情勢から、酪農経営により有利な、より高付加価値の子牛を生産することを目的として、(社)家畜改良事業団では2004年より性判別体外受精卵の生産と販売に着手した。

3. 性判別体外受精卵の生産と移植

受精卵の性判別を行うには、性染色体を観察する方法やPCR法が報告されてきたが、サンプル調整の難しさや検査時間の長さ、あるいは性の判定の正確度から実用的とは言い難い状況にあった。

このような状況の中で、開発・キット化されたLAMP法は、性判別に要する時間が短縮され、性の判定の正確度も高いことから実務に利用できると判断し、試験を繰り返し行ったうえで供給を開始した。

実際には、体外受精を行った日をDay 0とし、Day 7に発生する拡張期胚盤胞の栄養膜細胞

をマイクロマニピュレーターに接続したブレードで切り取り、LAMP法による性判別のサンプルとしている。バイオプシーを行った後の胚は、発生培地に戻して約3時間の培養を行うことにより、傷ついた栄養膜細胞が修復され、形態的に再拡張をし始める。

性判別の判定が出された時点で胚の形態を顕微鏡下で確認し、正常な回復過程にあると判断した胚を新鮮胚で移植現地へ輸送して移植している。

販売状況は、2004年が1878個、2005年が2442個、2006年が2095個であり、年間の新鮮体外受精卵の全販売個数のおよそ20%を占めた。

性判別体外受精卵の供給が可能となったことは、利用者がより有利に体外受精卵産子を販売できる方法を経営の中に取り込めることとなり、供給個数の増加は利用者が経営の中でメリットを見出していると推察できる。

移植された性判別体外受精卵の受胎率は、2004年の全国平均で43.6%であったが、地域ごとの受胎状況を調べると25～70%と大きな格差がある。

4. 体外受精卵の性比

性判別に供した体外受精卵は、形態的に観察してIETSマニュアルに従いExcellentと判定した胚であり、ステージは胚盤胞から拡張期胚盤胞へ移行している時期の胚を用いている。

これらの要件を兼ね備えた胚を無作為に抽出して性判別に供した結果、3年間を通して雄胚が多いことが明らかとなった(53～60%)。

さらに、それらの胚を体外受精に用いた種雄牛毎に調べたところ、全体としてすべての種雄牛による胚で雄胚が多い傾向にあった。

この点に関しては、理由の解明はできていない。

5. 乳用種雌牛生産への応用

体外受精卵の利用は、前述のとおり主に酪農家の乳牛に黒毛和種体外受精卵を移植し、肥育素牛としての黒毛和種子牛を増産することを目的に行ってきた。

しかし、体外受精技術と性判別技術を組み合わせることにより、酪農家で淘汰される乳牛から効率的に後継牛を生産することも可能となった。

そこで、淘汰の対象となった乳用種から後継牛を体外受精卵で生産したいという希望に対応し、本技術を応用的に利用している。対象となる雌牛の多くは、飼養している場所の近隣のと畜場等に出荷されることが多いことから、卵巣の採取は東京から各地へ出向いて行っている。

日本では、BSE発症後、と畜した牛がBSE陰性であることが確認されるまでは全ての臓器がと畜場から持ち出すことが禁じられている。そこで、卵巣を採取した後、直ちにと畜場敷地内で卵子の採取を行い、クライオチューブ内の成熟培地の中に卵子を入れて密封し、成熟培養を開始する。

BSE検査結果が陰性であることを受け、成熟培養中の卵子を東京へ輸送して体外受精卵の生産を行う。発生した胚盤胞は性別を判別を行い、雌と判定された胚のみを移植を行う農家まで新鮮胚として輸送して移植を行っている。

移植可能な胚盤胞は、使用する精液（種雄牛）に関わらず、3年間を通して1頭から平均6個生産することができる。この個数は、過剰排卵処置を行い体内受精卵の採取を行った場合の日本での平均回収個数とほぼ同数である。

しかし、これらの胚の性別を判別を行ったところ、前述した黒毛和種と同様に雄：雌の比率が6：4であり、最終的な移植可能雌胚の個数は1頭あたり平均2個であった。