

全農畜產生産部研究所年報

令和4年度

J A全農 畜產生産部

飼料畜産中央研究所

家畜衛生研究所

E T 研究所

目 次

飼料畜産中央研究所 年次報告

- 1. 概 況 2
- 2. 研究要約 8
- 3. 研究論文 13

家畜衛生研究所 年次報告

- 1. 概 況 27
- 2. 主な研究・技術対応結果の要約 31
- 3. 外部報告と要約 34

E T研究所 年次報告

- 1. 概 要 43
- 2. 研究要約 48

1. はじめに

本会の3つの研究所における令和4年度の研究報告を集約しました。生産性に優れた飼料や環境保全に対応した飼料の開発、家畜の育種改良、衛生検査・指導技術の確立、繁殖成績改善に関する技術の開発など、各研究所がそれぞれ研究に取り組んでいます。

2. 本会研究所の役割

(1) 飼料畜産中央研究所

飼料原料や配合飼料の品質管理に関する分析技術開発、各畜種（採卵鶏・ブロイラー・豚・肉牛・乳牛）に最適な栄養水準の解明や飼養管理技術および特徴ある畜産物の研究、ゲノム育種によるハイコープ SPF 種豚の造成などに取り組んでいます。

(2) 家畜衛生研究所

家畜の健康と食卓の安全を結ぶため、家畜の疾病対策に関わる動物用ワクチンや機能性飼料等を開発するとともに、農場現場における衛生検査にもとづいた指導・助言を通じて家畜の予防衛生の確立に取り組んでいます。

(3) E T 研究所

高度な繁殖管理技術や遺伝育種、高品質な受精卵・精液の生産および機能性飼料等の研究開発を行うとともに、E T 事業を通じて、現場の牛の繁殖成績、特に受胎率にこだわり生産性向上を図っています。また、繁殖技術者の育成にも取り組んでいます。

本年度も3四半期を終えようとしておりますが、今年の夏は、観測開始以降最長となる真夏日が続き、猛暑日も過去最多を更新するなど、家畜へのダメージも大きく、今後の猛暑対策の研究は重要性を増すばかりです。

さらに、家畜疾病においては、今年も断続的に豚熱が発生しており、養豚の大産地である九州全県がワクチン接種へと移行し、より一層の飼養衛生管理の徹底が必要になりました。同様に昨年猛威を奮った鳥インフルエンザについても今年も発生しており、本会も関係機関と連携の上、引き続き防疫対策を徹底し、感染防止にむけて全力で取り組む所存でございます。

また2020年の秋以降からの配合飼料や輸入粗飼料価格・資材価格が高騰し、高止まりが続いており、畜産経営は引き続き予断を許さない状況です。

このように情勢が厳しい中でも、着実に足腰の強い畜産をつくるためには、研究開発部署の果たす役割は大きなものであると肝に銘じ、これまで以上に生産者のためになる、生産性向上に資する研究開発に注力していく所存でございますので、引き続きご指導ご鞭撻のほどよろしく願いいたします。

令和5年12月

全国農業協同組合連合会（JA全農）

畜産生産部 技術専任部長 米倉 浩司

飼料畜産中央研究所 年次報告

令和4年度（2022年）飼料畜産中央研究所 年次報告

I. 飼料畜産中央研究所の概況	2
II. 研究要約	
1. 配合飼料の開発・改良	8
(1) ブロイラー飼料における油脂の配合割合低減に向けた取り組み	
(2) 採卵鶏飼料における油脂の配合割合の低減に向けた取り組み	
(3) 加熱加工飼料における粗たん白質および必須アミノ酸の水準の検討	
(4) 子豚育成期飼料における DDGS の配合割合の検討	
2. 品質・品質管理・製造技術	9
(1) 共通試料による粗蛋白質の試験室間共同試験（令和4年度）	
3. 家畜家禽の飼養管理技術	10
(1) 黒毛和種繁殖牛における粗飼料キューブを活用した省力化飼料の開発	
(2) 輸入粗飼料の低減飼料給与が搾乳牛の飼料摂取量および乳成績に及ぼす影響	
4. 育種改良	10
(1) 抗病性関連遺伝子の簡易判定系確立	
(2) 免疫不全ブタの飼育方法の確立	
(3) 乗駕欲欠如と生殖ホルモン濃度および飼料摂取行動との関連調査	
(4) ハイコープ純粋種における暑熱ストレス指標の検討	
III. 研究論文	
1. ブタ SRY 遺伝子ノックアウト細胞株の樹立および個体作出	13
2. ブロイラー飼料におけるクミアイーズ 01 の ME、CP の節減効果に関する実用性評価	15
3. 単体アミノ酸を活用した採卵鶏飼料の窒素排泄低減技術の開発	17
4. 養豚配合飼料における炭酸カルシウムの形状がフィターゼに与える影響	19
5. デュロック純粋種における産肉形質に関する Microbiability の推定	21
6. 沖縄県産黒糖の給与が搾乳牛の飼料摂取量および乳成績に及ぼす影響	23
IV. その他	
実験動物福祉に対する取り組み	25

I 飼料畜産中央研究所の概況

1. 機構（業務）と要員（令和5年5月1日現在）

所長	企画管理課	5名	施設管理、経営管理
	畜産技術中央講習所		講習会の運営管理
	品質管理研究室	15名	分析技術の開発、分析・検査
			品質管理関係技術対応
	養鶏研究室	8名	養鶏用配合飼料の開発
	養豚研究室	7名	養豚用配合飼料の開発
	生物資源研究室	9名	家畜等遺伝子に関する研究、実験動物事業
	上士幌種豚育種研究室	7名	優良系統種豚の造成
	笠間乳肉牛研究室	10名	養牛用配合飼料の開発
	訓子府分場		養牛用配合飼料の開発

61名内訳：正職員42名 嘱託職員10名 派遣職員6名 臨時・パート3名

2. 機構の変遷

- (1) 昭和47年 研究所設立
- (2) 55年 畜産技術中央講習所を設立
- (3) 57年 家畜衛生研究所の設立
- (4) 62年 受精卵移植研究室を設置
- (5) 平成5年 豚繁殖育種研究室を設置
- (6) 6年 岩間に肉牛実験農場を設置
- (7) 11年 北海道上士幌町にETセンターを設置（同センターは13年本所機構に）
- (8) 14年 北海道訓子府町に乳肉牛研究分場を設置（ホクレン畜産技術研究所内）
- (9) 16年 北海道上士幌町に種豚開発センターを設置
- (10) 18年 商品管理部を設置、肉牛実験農場を肉牛繁殖・肥育研究分場に改称
- (11) 19年 研究開発部に生物資源グループを設置
- (12) 20年 肉牛繁殖・肥育研究分場を笠間乳肉牛研究所に改称、乳肉牛研究分場を笠間乳肉牛研究所訓子府分場に改称
- (13) 22年 経営情報グループを本所に移管
- (14) 23年 部を課に、グループを研究室に改称
品質管理研究課を設置、品質管理技術研究室・検査技術研究室を設置
養鶏養魚を養鶏に、種豚開発センターを上士幌種豚育種研究所に改称
- (15) 24年 品質管理技術研究室、検査技術研究室を統合し、品質管理研究室に改称
笠間乳肉牛研究所を笠間乳肉牛研究室に、上士幌種豚育種研究所を上士幌種豚育種研究室に改称
- (16) 25年 実験動物用ブタ生産豚舎を設置
- (17) 29年 笠間乳肉牛研究室に搾乳ロボット牛舎を設置
- (18) 30年 新実験動物豚生産施設を設置

(19) 令和 2 年 講習会業務を本所畜産生産部推進商品開発課へ移管

3. 施設の概要等

- (1) 敷地面積 約 50 ha
つくば (講習所含む) : 約 38 ha
笠間 : 約 12 ha
- (2) 飼養頭羽数 令和 5 年 5 月末現在
中研ファーム
(つくば) : 採卵鶏 2,986 羽、ブロイラー 3,045 羽、種豚 98 頭、肥育豚 845 頭
(実験動物) : 種豚 137 頭、肥育豚 592 頭
笠間乳肉牛研究室 : 肉牛 224 頭、繁殖和牛 46 頭、乳牛 328 頭 (育成含む)
上土幌種豚育種研究室 : 種豚 176 頭、肥育豚 562 頭

4. 令和 4 年度各研究室重点実施状況

【企画管理課】

- ア. 防疫対策の徹底
- イ. 所場内の環境整備
- ウ. コンプライアンスの徹底および安全衛生の取り組み強化

【品質管理研究室】

- ア. 近赤外分光法分析や燃焼法分析における適正な分析機器使用法の検証
- イ. 原料購買部署との原料品質確認および現地調査等の技術知見のサポート
- ウ. 配合飼料の品質管理のための分析 (原料・製品の各種成分分析)
- エ. 畜産物の肉質等検査
- オ. 各種成分分析の効率化・迅速化の検討
- カ. 新たな原料評価法の開発
- キ. 研究所内における研究・開発のサポート

令和 4 年度分析点数

分析項目	原料	配合飼料	畜産物	合計
一般成分	3,322	1,056	2,286	6,664
金属・ミネラル	712	1,100	458	2,270
ビタミン類	167	132	89	388
アミノ酸類	486	280	1,099	1,865
油脂関係	200	72	806	1,078
その他成分	504	154	869	1,527
合計	5,391	2,794	5,607	13,792

【養鶏研究室】

- ア. 鶏種性能に合った採卵鶏およびブロイラー飼料の開発
- イ. 鶏舎内環境調査と改善指導、格外卵低減取り組み
- ウ. 飼料原料の効率的利用に向けた検討

- エ. 各種飼料添加物および混合飼料の評価
- オ. 糞量低減飼料の性能向上に向けた検討
- カ. 官能評価に優れる鶏卵・鶏肉の開発

【養豚研究室】

- ア. 豚人工乳の開発
- イ. 種豚用飼料の性能強化に関する研究
- ウ. ハイコーブ豚用飼料の開発
- エ. 養豚用飼料における原料評価
- オ. 差別化豚肉の開発に関する研究
- カ. 養豚飼養管理の労務軽減に関する研究

【生物資源研究室】

- ア. 実験動物用ブタの生産と販売
- イ. 実験動物用遺伝子改変ブタの開発

【上土幌種豚育種研究室】

- ア. 肉質および産肉形質に優れたデュロック種豚の開発
- イ. 繁殖能力に優れたランドレース種、大ヨークシャー種の開発
- ウ. ゲノム情報を用いた遺伝的能力評価法の検証
- エ. 経済形質と関連する遺伝子マーカーの探索
- オ. 効率的な遺伝的能力評価のための新しい育種価予測モデルの開発
- カ. 永続的な遺伝資源の維持のための凍結保存技術の開発

【笠間乳肉牛研究室】

- ア. 肥育牛の効率的な飼養管理技術の開発
- イ. 養牛用飼料原料の効率的利用技術の開発
- ウ. 遺伝子情報に着目した新しい肉牛肥育飼養管理技術の開発
- エ. 都府県酪農に対応した飼養管理手法の検討
- オ. 養牛におけるストレス軽減手法・資材の開発
- カ. 哺乳子牛および育成牛の効率的な飼養管理技術の開発

5. 令和4年度試験研究進捗状況

令和4(2022)年度試験研究課題・項目一覧表

令和4年3月末

研究対象	研究区分	研究課題		研究項目	
		設定	継続	設定	終了
I. 配合飼料関係	1. 配合飼料の開発と改良	9	7	43	28
	2. 原料の開発とその実用化	1		1	1
	3. 飼料添加物の開発利用	1	1	2	1
	4. 品質、品質管理、製造技術	3	1	9	5
II. 飼養技術	5. 家畜家禽の飼養管理技術	7	7	37	18
III. 施設器材	6. 畜産資機材の開発と改良	1		1	1
IV. 畜産物	7. 畜産物の品質	4	3	8	4
V. 育種	8. 育種	10	5	24	15
計		36	24	125	73

6. 飼中研出願工業所有権出願状況、雑誌投稿、学会発表等

(1) 工業所有権出願状況

配合飼料・育種を中心に関連する工業所有権の出願を積極的に実施している。

令和5年3月31日現在（特許・商標）

	出願	公開	登録（内商標）
件数	12	8	16（3）

ア. 特許出願

(ア) 「子牛の症状又は状態を改善するための哺乳期子牛用サプリメント及び離乳期子牛用サプリメント」

特願2022-165759

発明者 武本智嗣、佐藤哲誠

(イ) 「哺乳期間中の又は離乳に伴う子牛の症状又は状態を改善する方法」

特願2021-165737

発明者 武本智嗣、佐藤哲誠

(ウ) 「分娩後の雌牛の健康状態を向上させる方法」

特願2021-165747

発明者 武本智嗣、佐藤哲誠

イ. 特許登録

(ア) 「動物体の体重推定測定装置及び体重推定方法」

特許第7057971号

(イ)「米の粉碎物が配合された家禽用飼料（こめたまご）」

特許第7076112号

(2) 雑誌投稿

ア. Generation of germ cell-deficient pigs by NANOS3 knockout

小賀坂祐平、村上奨、山下司朗、古本義則、木村大輔、井口佳那、千代豊

Journal of Reproduction and Development. 68(6): 361-368. 2022.

イ. 豚のオミクス解析と疾病に関する最近の話題と研究

宗田吉広、関山恭代、須田智子、宮崎綾子、新開浩樹、廣瀬健右、上西博英、北澤春樹

日本豚病研究会報. 81:30-38. 2023

ウ. ブタ, 肉牛におけるゲノミック選抜の実践

造田篤、廣瀬健右

水産育種. 52:1-10. 2023

(3) 学会発表

ア. 短距離輸送した育成牛における第一胃内保護メチオニン補給の影響

武本智嗣

日本畜産学会 第130回大会 令和4年9月14~17日 (オンライン (東京農業大学))

イ. 搾乳ロボット飼養管理における採食行動とルーメン pH の変化

石田恭平

日本畜産学会 第130回大会 令和4年9月14~17日 (オンライン (東京農業大学))

ウ. 乳房炎好発牛鑑別ゲノムマーカーの開発

永岡謙太郎、宮田紫帆、武本智嗣、伊藤昌彦

第27回 日本乳房炎研究会学術集会 令和4年10月22日 (KFC Hall&Rooms (東京都墨田区))

エ. 短距離輸送した育成牛における第一胃内保護リジン補給の影響

武本智嗣、佐藤哲誠

第59回 肉用牛研究会 令和4年11月3~4日 (和歌山県民文化会館)

オ. 高含量βカロテン補給による血清中ビタミンA濃度および肉質への影響

藤條亮宏、武本智嗣、佐藤哲誠

第59回 肉用牛研究会 令和4年11月3~4日 (和歌山県民文化会館)

7. 外部研究機関との共同研究

(1) 外部研究助成

ア. 家畜の伝染病の国内侵入と野生動物由来リスクの管理技術の開発
ワクチンによる豚群でのインフルエンザ制御手法の確立

令和4年度 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
研究担当者：村上奨

イ. 乳房炎高発牛の鑑別技術開発事業

乳房炎高発形質の総合的解析に係る試料の採取及び分析

令和4年度 日本中央競馬会（JRA）

研究担当者：武本智嗣

ウ. ムーンショット型農林水産研究開発事業

ルーメンマイクロバイオーームと代謝性水素の動態の徹底解明

令和4年度 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構
生物系特定産業技術研究支援センター

研究担当者：佐藤哲誠、石田恭平、渡部結人

以 上

Ⅱ 研 究 要 約

1. 配合飼料の開発・改良

(1) ブロイラー飼料における油脂の配合割合の低減に向けた取り組み

担当：小林駿斗、桑原徹平（養鶏研究室）

世界的な回収油の需要増加により将来的に国内の飼料用動物油脂（YGL）がひっ迫することが懸念される。そこで、YGL および代謝エネルギー（ME）水準が異なる飼料を商業ブルロイラー（チャンキー、UK 系統）に給与し、YGL の節約効果について検証した。試験では YGL を 5% 配合した対照飼料（ME3250kcal/kg）から段階的に YGL と ME 水準を引き下げ、最終的に YGL1% 配合（ME3150kcal/kg）とした 4 種類の飼料を 22 日齢から 44 日齢までの間、ブルロイラーに給与した。なお、対照飼料以外には飼料用酵素製剤、乳化剤および酪酸製剤をそれぞれメーカー推奨量添加し成績維持を試みた。その結果、期間中の増体重および飼料要求率は飼料中の YGL および ME 水準を引き下げるとともに悪化する傾向を示し（ $P=0.187$ 、 $P=0.062$ ）、YGL 価格が現状よりも 25,000 円/t を超えて値上がった場合のみ、YGL の節減によるメリットが生じると考えられたが、その際においても YGL は 3% 以上配合する必要があると考えられた。

(2) 採卵鶏飼料における油脂の配合割合の低減に向けた取り組み

担当：小林駿斗、桑原徹平（養鶏研究室）

飼料中の飼料用動物油脂（YGL）の配合割合を抑えながら採卵鶏の産卵成績を維持する方法について検証した。YGL を 3% 配合した対照飼料に対して代謝エネルギー（ME）を維持しながら、YGL をそれぞれ 1%、0% まで引き下げた計 3 種類の飼料を調整し、54 週齢から 61 週齢までの間、産卵鶏（ジュリアライト、雌）に給与した。なお、飼料中の ME 水準を維持したまま、YGL の割合を引き下げたため YGL を引き下げた飼料の飼料単価は対照飼料よりも増嵩した。給与開始後 5~8 週における期間中の産卵成績および飼料要求率は、飼料中の YGL を引き下げるとともに悪化する傾向を示した（ $P=0.11$ 、 $P=0.05$ ）。一方、YGL を 1% まで引き下げた飼料に対して、追加で ME 水準を 100kcal/kg 引き下げ、さらに飼料用酵素製剤、乳化剤および酪酸製剤をそれぞれメーカー推奨量添加し、対照飼料よりも飼料単価を引き下げた飼料を同じく給与したところ、給与期間中の産卵成績の低下幅が縮小し、対照飼料を給与した場合と比較して経済性が優れる結果となった。

(3) 加熱加工飼料における粗たん白質およびアミノ酸の水準の検討

担当：山下大河、岩藤伸治、赤坂大輔、木村大輔（養豚研究室）

過去の試験において、マッシュ飼料に対して加熱加工飼料は、粗たん白質の消化率が約 4% 改善する結果が得られている。そこで本試験では、加熱加工飼料における粗たん白質（CP）およびアミノ酸の下限値を検討するため、ペレットクランブル（PC）加工を施した低 CP、低ア

ミノ酸飼料を肥育豚に給与し、発育への影響を調査した。試験は体重約30kgの肥育豚を3区に分け、計108頭用いて35日間実施した。対照区の飼料はCP、アミノ酸を肥育前期の栄養要求量を満たす水準にした。試験1区はCPを対照区より0.5%下げ、各アミノ酸は対照区のアミノ酸設計値を1.04で除した値（期待下限値）を上回るように設計した。試験2区はCPを対照区より1.0%下げ、アミノ酸のうちリジン、メチオニン+シスチン、トレオニンが期待下限値を上回るように設計した。その結果、試験2区でも対照区と同等の日増体量を示し、本試験の低水準でも発育に影響を及ぼさないことが確認された。

(4) 子豚育成期飼料における DDGS の配合割合の検討

担当：森山咲、岩藤伸治、赤坂大輔、館野浩一（養豚研究室）

子豚育成期飼料における DDGS の配合割合を検証するとともに、トリプトファン単体の添加による補正効果について調査した。試験は体重約12kgの子豚を4区に分け、計96頭を用いた28日間の発育試験および対照区と各試験区の間で計36頭を用いた7日間の嗜好性試験を実施した。対照区はDDGS無配合とし、各試験区でDDGSを使用し、試験2区と3区は1区の倍量を配合した。試験3区には単体トリプトファンを添加した。その結果、試験2区および3区は試験開始から2週間の飼料摂取量および日増体量が対照区よりも低下する傾向があったものの、試験終了までの4週間通期ではほぼ同等となり、統計学的な有意差は認められなかった（ $P > 0.05$ ）。なお、試験2区は分析の結果、飼料中のトリプトファン水準が要求量を下回らなかった。嗜好性試験では、DDGSを配合したいずれの試験区も対照区より摂取量が少なく、嗜好性が劣る可能性が示唆された。

2. 品質・品質管理・製造技術

(1) 共通試料による粗蛋白質の試験室間共同試験(令和4年度)

担当：鵜田茉巳子、濱坂俊英（品質管理研究室）

配合飼料の設計では、余剰粗たん白質の管理を強化している。そのため、適正な粗たん白質分析結果を得ることは重要である。本試験では飼料工場23試験室を対象に粗たん白質分析精度向上を目的とした試験室間共同試験を実施した。この共同試験における測定値は、真値、室内変動および室間変動から構成されているため、室内変動を反復精度、室間精度を室間再現精度から評価した。その結果、室間再現精度に課題はなく全試験室一定範囲内に分析値が収まっていたが、反復精度で、配合飼料で1試験室、大豆粕で1試験室、グルテンミールで3試験室に課題があった。これらの試験室の分析値のばらつきはそれぞれ秤量誤差、装置更新による分析条件の変化、検量線最終更新日からの日数経過等が原因であると考え、対策を講じ、再分析を実施したところ反復精度が改善した。

3. 家畜家禽の飼養管理技術

(1) 黒毛和種繁殖牛における粗飼料キューブを活用した省力化飼料の開発

担当：柴田直美、渡部結人、佐藤哲誠（笠間乳肉牛研究室）

輸入粗飼料の不足および価格高騰に伴い、新規飼料原料としてイタリア産小麦ストローキューブ（WSC）の特性を評価するとともに、黒毛和種繁殖牛に給与した際の反芻性やルーメン内性状に及ぼす影響を調査した。WSCはフェスクストローと比較して、NDFやCPが同程度であったが、咀嚼を促す指標である物理的有効度がフェスクストローの半分程度であり、ルーメン機能維持能力を損なう可能性が示唆された。慣行のフェスクストロー7 kg/日を半量および全量WSCに置き換えて黒毛和種繁殖牛に給与したところ、半量置き換えた際は反芻性、ルーメン内性状に差はなかった。全量置き換えでは、ルーメン pH および VFA 量は差がなかったが、反芻時間は対照区の 52%である 208 分/日まで低下した。以上より、WSC の黒毛和種繁殖牛への給与は、粗飼料の全量代替では反芻が半減することが明らかとなり、半量代替であればルーメン環境に負の影響がなく、活用できる可能性があることが示唆された。

(2) 輸入粗飼料の給与量の低減が搾乳牛の生産成績に及ぼす影響

担当：渡部結人、石田恭平、佐藤哲誠（笠間乳肉牛研究室）

特に都府県の酪農家においては粗飼料の大半を輸入に依存しており、輸入粗飼料の情勢が経営を左右する要因となっている。そこで本試験では、搾乳牛への輸入粗飼料給与量を減らした TMR を 3 週間給与した際の影響を評価した。コンポストバーンで飼養するホルスタイン種搾乳牛 41 頭を供し、試験区分として、輸入粗飼料を 1 頭あたり 10 kg 原物/日とした慣行の TMR を給与する区、および輸入粗飼料を 1 頭あたり 7.4 kg 原物/日に減らし、ふすまやビートパルプで繊維源を代替した TMR を給与する区を設けた。粗飼料給与量を低減しても、乾物摂取量、乳量および乳成分生成量に負の影響は見られなかった。ただし、ルーメン液中の短鎖脂肪酸濃度（特に酢酸）および乳脂肪率が低下した。また反芻時間が有意に低下した。以上より、繊維含量を維持したまま粗飼料給与量を 10.0kg 原物/日から 7.4 kg 原物/日まで低減すると、飼料摂取量や乳量には影響がないものの、乳脂肪率低下および疾病のリスクが高まる可能性が示唆された。

4. 育種改良

(1) 抗病性関連遺伝子の簡易判定系確立

担当：山下司朗、濱坂俊英（品質管理研究室）

従来家畜の改良は親の血統や親の成績を基に仔の形質を予想し、交配を繰り返して行われてきた。しかし、近年では特定の形質に関わる遺伝子やその遺伝子の変異型が数多く報告されるようになり、遺伝子情報を用いた家畜改良が注目されている。当所においても SNP チップを用いたゲノム育種や、特定の形質に関連するマーカー遺伝子を利用した育種に取り組んでいる。NOD2 遺伝子は、肺・腸の炎症性疾患に関与しており、NOD2 遺伝子内にある SNP 型により抗病性に違いが認められている。また、サルモネラ抵抗性に関与する TLR5 遺伝子型を用いた育種

にも取り組んでいるが、既報の簡易判定系では結果が不安定となる問題が発生している。そこで本試験では、NOD2 および TLR5 遺伝子型の簡易判定系の確立を試みることにした。両遺伝子ともにアレル特異的 PCR 法による判定法を確立したが、TLR5 においては gDNA の質が悪い際に判定が不明瞭となった。このため、TLR5 については PCR-RFLP 法による簡易判定系も合わせて確立し、gDNA の質に関わらず判定が行えることを確認した。

(2) 免疫不全ブタの飼育方法の確立

担当：小賀坂祐平、村上奨、井方綾乃、古本義則、坂中優介、千代豊（生物資源研究室）

再生医療分野への供給を目的として、免疫不全ミニブタ（RAG1 遺伝子ノックアウト; RAG1-KO）の開発を行っている。免疫不全ブタは通常環境では長期生存が難しいことが報告されているため、本試験ではアイソレーターを用いたクリーン飼育による長期生存が可能か調べた。帝王切開により無菌的に分娩させアイソレーターで飼育した RAG1-KO ミニブタは、出荷想定体重である 10-15kg まで通常環境で飼育した野生型ミニブタと同等の増体を示した（不断給餌）。その後、試験エンドポイントである 4.5 ヶ月齢まで健康に生存した。アイソレーター内には 2 か月齢以降 2 種の細菌の混入が観察されたが、これらは RAG1-KO ミニブタの健康状態に影響を与えなかった。以上より、アイソレーターを用いたクリーン飼育により RAG1-KO ブタの長期飼育が可能であることが明らかとなった。

(3) 乗駕欲欠如と生殖ホルモン濃度および飼料摂取行動との関連調査

担当：伊藤哲也、上川舞、東間千芽、古川了一、普川一雄、廣瀬健右（上士幌種豚育種研究室）

協力分担：檜垣 信之介、伊藤仁、川手憲俊（大阪公立大学）、大川原佳伸、久下壮、二階堂聡（全農畜産サービス株式会社）

本研究ではデュロック種雄豚の乗駕欲欠如と血中ホルモン濃度、増体、飼料摂取行動との関連性について調査した。乗駕欲欠如個体群では正常個体群と比較して、増体、飼料摂取量、飼料摂取速度の低下が確認された。また、乗駕欲欠如個体群ではインスリン様ペプチド 3（INSL3）濃度の上昇と黄体形成ホルモン（LH）濃度の増加傾向がみられた。しかし、テストステロン、コルチゾールおよび IGF-1 濃度には変化がみられなかった。これらの結果から、乗駕欲欠如個体では増体、飼料摂取量や摂取速度が劣る傾向を示し、LH の増加により高 INSL3 濃度の上昇を誘発している可能性が示されたものの、本研究では乗駕欲欠如の発生機序を明らかにすることはできなかった。また、INSL3 が乗駕欲欠如の指標となる可能性が示されたが、ブタ INSL3 の測定系は市販化されていないため、本知見を基に新たな早期判定法の確立が望まれる。

(4) ハイコープ純粋種豚における暑熱ストレス評価指標の検討

担当：古川了一、伊藤哲也、上川舞、東間千芽、普川一雄、廣瀬健右（上土幌種豚育種研究室）

協力分担：二階堂聡（全農畜産サービス(株)）

暑熱ストレスの適切な評価指標を探索するために、東日本原種豚場における10年間の一日平均増体重の記録と周辺地域の気象データを用いて、複数パターンの暑熱ストレスを説明変数、一日平均増体重を目的変数とした回帰分析を実施した。結果、平均気温と湿度を用いた指標で閾値を20とし体測実施日の10週間前から暑熱ストレスを受けていると仮定した場合に、暑熱ストレスの有意な影響が推定された。ただし、 R^2 値自体は小さいため、本試験結果をそのまま育種価予測モデルなどに加えても正確度の向上には寄与しないと考えられた。今後は指標の効果的な使い方を探索するとともに、西日本などより暑さの厳しい地域での分析や、精子形質などのより強く暑熱の影響を受ける可能性のある形質での分析について暑熱ストレス指標の利用を検討していく。

Ⅲ 研 究 論 文

1. ブタ SRY 遺伝子ノックアウト細胞株の樹立および個体作出 千代豊、小賀坂祐平、村上奨、古本義則（生物資源研究室） 協力分担：山下司朗（品質管理研究室）

要約：

新生雄仔ブタ由来繊維芽細胞の2個のSRY遺伝子をゲノム編集法でノックアウト（KO）し、体細胞核移植操作によりKO個体を作成した。KO産仔（3頭）は全て性転換し雌の表現型を示した。KO産仔の外性器および内性器の外観は野生型雌ブタのそれと同等であった。また、成長の度合いにおいても野生型雌ブタと同等であった。一方、新生仔ブタの卵巣内の生殖細胞（卵母細胞）の発生状況を生殖細胞マーカー分子Ddx4の免疫染色法により調べた結果、卵母細胞の発達状況が野生型雌卵巣と比べて未発達であることが判明した。

目的：

実験動物事業において、本会が供給・販売している実験用ブタの7割以上はヒトの外科手術のトレーニングのために使用されている。また、手術トレーニングにおいては雄ブタより雌ブタの需要が大きいため（手術支援ロボット「ダヴィンチ」および「ヒノトリ」のトレーニングには雌ブタの使用が指定されている）、雌ブタの供給は常に逼迫した状況にある。ブタのY染色体上には2個のSRY遺伝子が存在し、胎仔発生の過程で雄性への分化に関与しており、2個のSRY遺伝子をKOすることにより、本来雄になる個体が性転換して雌になることが知られている。本試験においては、Y染色体上に有るSRY遺伝子をKOすることにより作成できる性転換XY雌ブタが手術トレーニングに使用できるか検証することを目的とし、SRY遺伝子KO細胞株の樹立および性転換XY雌ブタの作成を試みる。作成した性転換XY雌ブタが各種手術トレーニングに使用可能と判断できた場合、生殖細胞形成に関与するNanos3遺伝子をKOした胚を利用した生殖細胞置換技術を活用し、雌のみの生産（正常XX雌と性転換XY雌）を可能とする種雄ブタの開発が期待できる。

材料および方法：

ブタSRY遺伝子のKO操作はWL種新生仔由来繊維芽細胞を使用し、CRISPR/Cas9法により行った。次に、SRY遺伝子KO細胞をドナーした核移植法により、KO個体を作成した。作成したSRY遺伝子KOブタは体重50kgになるまで飼育した後、手術トレーニングの利用性を確認するため共同研究機関に移動した。また、KOブタの一部（SRY-KO 2086XY' 個体）は、安楽殺し内性器の解剖的調査および組織解析（ヘマトキシエオシン（HE）染色および生殖細胞マーカーDdx4免疫染色）を行った。

結果および考察：

CRISPR/Cas9法によりSRY遺伝子をKOした細胞を使用し、体細胞核移植操作を行いSRY-KOブタを作成した。作成したSRY-KOブタの外観は3頭とも性転換が起こり雌性の表

現型を呈していた (図 1)。3 頭中 1 頭 (SRY-KO 2086XY') が衰弱したため (原因不明)、10 日齢で安楽殺し内性器の状態を調べた結果、SRY-KO 2086XY' 性転換雌ブタは同齢の野生型雌ブタと同様の子宮および卵巣の形態を示していた (図 1)。一方、SRY-KO 2086XY' 性転換雌ブタの卵巣内の生殖細胞の発生状況を、卵巣切片を用いた生殖細胞マーカーDdx4免疫染色により調べた結果、卵母細胞の発達状況が野生型雌卵巣と比べて明らかに未発達であることが確認できた (図 2)。残り 2 頭の SRY-KO XY' 性転換雌ブタは良好な成育を示し、野生型雌ブタと同等の成長を示した。

今回作出した SRY-KO XY' 性転換雌ブタは生殖細胞の未発達以外は野生型 XX 雌ブタと同等の表現型を示すことから、各種の外科手術トレーニングでの利用が期待できると考える。一方、SRY-KO XY' 性転換雌ブタの卵巣機能はさらに成長しても未発達のままであることが予想されることから、雌性ホルモン投与の雌個体を使用するタイプの手術トレーニングには使用できない可能性がある。今後、手術トレーニングを実際に実施している共同研究機関での詳細な検証により、利用性が明確になると考える。

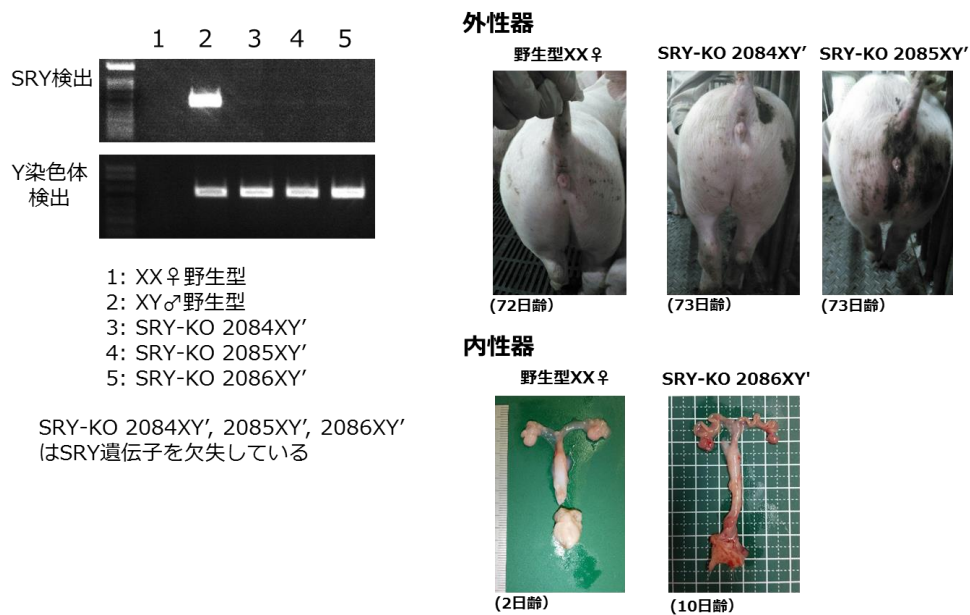


図 1. 野生型 XX 雌ブタおよび SRY-KOXY' 性転換雌ブタの外性器、内性器の外観

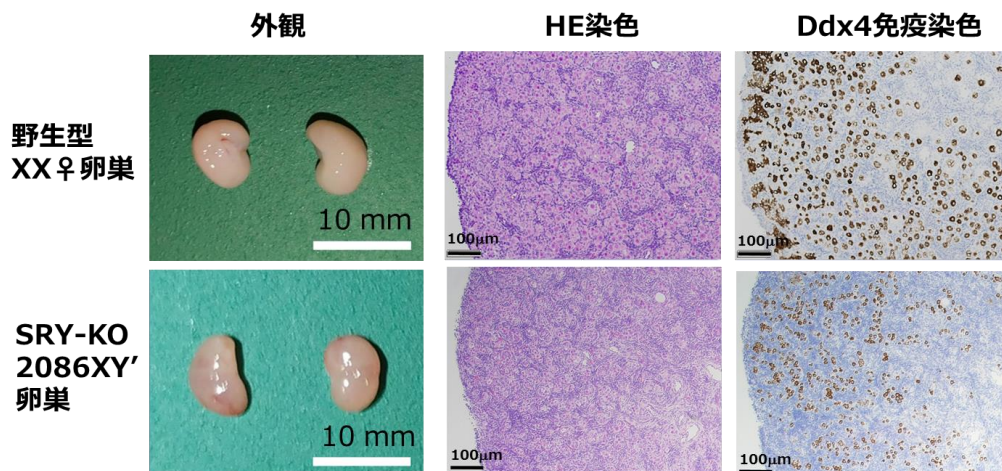


図 2. 野生型 XX 雌ブタ卵巣および SRY-KOXY' 性転換雌ブタ卵巣の精母細胞発生状況比較

2. ブロイラー飼料におけるクミアイゼ[®] 01 の ME, CP の節減効果に関する実用性評価 小林駿斗、桑原徹平 (養鶏研究室)

要約：

ブロイラーの後期および仕上段階において、全農のオリジナル開発酵素（クミアイゼ 01）の効果について評価した結果、対照区（CP20.5%、ME3250kcal/kg）に対して飼料の ME 水準とアミノ酸水準を引き下げてクミアイゼ 01 を 0.015%あるいは 0.030%添加給与することで、給与期間中の増体重および飼料要求率は対照区と試験区においてほぼ同等であった。以上のことから、クミアイゼ 01 を 0.015%以上添加することにより飼料中の ME とアミノ酸水準を一定程度引き下げることが可能であると考えられた。

目的：

当所で過去に実施したブロイラーの代謝試験によると、クミアイゼ 01 を用いることにより一定程度の飼料栄養の節減効果が確認され、クミアイゼ 01 の最適な添加率は 0.03%と推定された。そこで本試験では、21 日齢のコマーシャルブロイラー（チャンキー）を用いて一般的な後期および仕上用飼料（CP20.5%、ME3250kcal/kg）を対照区として設定し、対照区の飼料から ME 水準を▲70kcal/kg 引き下げ、アミノ酸水準についても相当量引き下げたうえでクミアイゼ 01 を 0.015%あるいは 0.030%添加した飼料をあわせて設定した。各区の飼料の給与期間中における飼養成績について確認した。

材料および方法：

表 1 の試験区にしたがい、各区の平均体重が等しくなるように 21 日齢のコマーシャルブロイラー（チャンキー、22 羽×4 反復×3 区分×雌雄、計 528 羽）を割り当て 42 日齢まで飼育した。対照区には一般的なブロイラーの後期および仕上用飼料（CP20.5%、ME3250kcal/kg、トウモロコシ-大豆粕主体）を給与し、対照区に対して ME 水準を▲70kcal/kg 引き下げ、かつ CP は維持しながらもアミノ酸水準を引き下げた飼料にクミアイゼ 01 を 0.015%あるいは 0.030%添加した試験飼料を調整し、それぞれ給与した。なお、試験期間中は不断給餌・不断給水とし、その他の飼養管理は当所の慣行に従った。

結果および考察：

ブロイラーの後期および仕上段階において、飼料にクミアイゼ 01 を 0.015%以上添加することで、飼養成績を維持しながら ME を▲70kcal/kg 引き下げかつアミノ酸水準も相当量引き下げることが可能であると考えられた。

表 1. 試験区¹⁾

試験区	CP (%)	ME (kcal/kg)	リン (%)	メチオン (%)	スレオン (%)	酵素		備考
						製剤	添加率(%)	
1区	20.5	3,250	1.31	0.67	0.89	-	-	対照区
2区	20.5	3,180	1.23	0.60	0.83	クミアイーズ01	0.015	▲ME70kcal/kg、アミノ酸低減、クミアイーズ01使用
3区							0.030	

1) 0～21日齢までは各区に共通飼料を給与した後、21日齢以降、上記飼料を給与した

表 2. 後期および仕上段階の飼養成績

雌雄	試験区	飼料			21-42日齢(後期・仕上)			
		CP (%)	ME (kcal/kg)	酵素	増体重 (g)	摂取量 (g)	飼料要求率	育成率 (%)
♂	1区 対照区		3250	-	2,433	3,790	1.558	96.6
	2区 酵素0.015%	20.5	3180	0.015%	2,457	3,862	1.572	95.5
	3区 酵素0.030%			0.030%	2,489	3,881	1.559	98.9
♀	1区 対照区		3250	-	2,028	3,512	1.732	100 ^{ab}
	2区 酵素0.015%	20.5	3180	0.015%	2,064	3,419	1.656	96.6 ^b
	3区 酵素0.030%			0.030%	2,061	3,412	1.656	100 ^a
♂ ♀	1区 対照区		3250	-	2,231	3,651	1.645	98.3 ^{ab}
	2区 酵素0.015%	20.5	3180	0.015%	2,261	3,641	1.614	96.0 ^b
	3区 酵素0.030%			0.030%	2,275	3,646	1.608	99.4 ^a
<i>P</i> 値 ¹⁾					0.9216	0.9963	0.5666	0.0262

1) Tukey 法による有意差検定を実施 (n=4、異符号間に有意差有り、P<0.05)

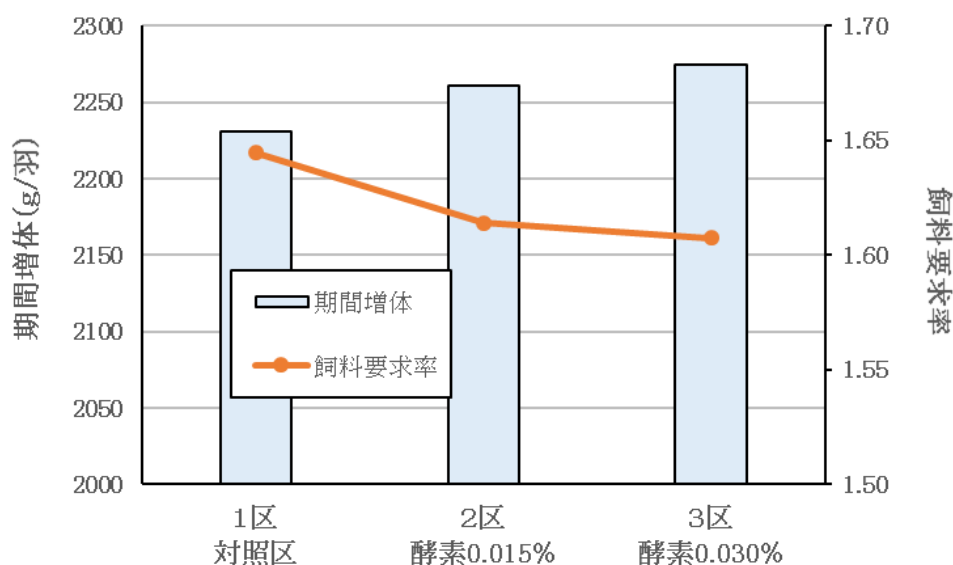


図 1. 後期・仕上段階の増体重および飼料要求率

3. 単体アミノ酸を活用した採卵鶏飼料の窒素排泄低減技術の開発

榮田拓起、桑原徹平

(養鶏研究室)

要約：

29 週齢の採卵鶏ボリスブラウン雌に対して、主要な制限アミノ酸の水準を維持したまま CP 水準のみを引き下げた飼料を給与し、産卵成績を維持しながら窒素排泄量を低減させる技術について検証した。

その結果、飼料の CP 水準を 17%から 16.5%、16.0%、15.5%へと引き下げるにともない給与期間中の産卵率および日産卵量は給与前と比較して低下する傾向を示した。一方、飼料の CP 水準を 17.0%から 16.5%に引き下げることで鶏糞由来の窒素排泄量は▲1.5%抑制され、CP 水準を 17.0%から 16.0%へ引き下げると同▲10.9%、CP15.5%とすると同▲8.5%抑制された。

目的：

近年、SDGs（持続可能な開発目標）の観点から温室効果ガスの排出削減が社会的に強く求められている。加えて、鶏の育種改良が進んでいることや多くの単体アミノ酸製剤が一般に流通するようになったことなどを踏まえ、直近の採卵鶏を用いてアミノ酸水準を維持したまま飼料の CP 水準を引き下げることにより鶏糞由来の窒素排泄量の抑制を試みた。

材料および方法：

表 1 の試験区にしたがい、各区に 50 羽（10 羽×5 反復）の採卵鶏成鶏雌（ボリスブラウン、29 週齢）を供試した。いずれの区も 2 週間の予備飼育期間を経た後、表 1 の試験飼料を各区に 12 週間に渡り給与し、試験前後の産卵成績、鶏糞排出量および鶏糞中窒素含量について測定した。なお、試験期間中は不断給餌・不断給水とし、その他の飼養管理は当所の慣行に従った。

結果および考察：

1. アミノ酸水準を維持したまま飼料の CP 水準を 17.0%から 15.5%まで 0.5%ずつ段階的に引き下げるにともない、産卵率および産卵量が低下する傾向を示した。
2. 一方で、鶏糞由来の窒素排泄量について比較したところ、飼料の CP 水準を 17.0%から 16.5%に引き下げることで▲1.5%抑制され、CP16.0%まで引き下げることで同▲10.9%、CP15.5%まで引き下げることで同▲8.5%抑制された。
3. 以上より、29 週齢のボリスブラウンにおいては、飼料のアミノ酸水準を維持したまま CP 水準を引き下げることで産卵率は低下するものの、鶏糞由来の窒素排泄量が抑制されることが示された。

表 1. 試験区および飼料内容

試験区	予備飼育期間 2週間 (29~30週齢)		試験期間 12週間 (31~42週齢)	
	1区	CP16% - ME2850kcal/kg		CP17.0%
2区	CP16.5%			
3区	CP16.0%			
4区	CP15.5%			

表 2. 産卵率 (%)

試験区	予備飼育期間		試験期間		変化率 B/A
	A	B	A	B	
1区	CP17.0%	99.0	99.0	99.0	100.0
2区	CP16.5%	98.9	97.4	97.4	98.5
3区	CP16.0%	99.0	98.7	98.7	99.7
4区	CP15.5%	98.1	97.3	97.3	99.1
<i>P</i> 値 ¹⁾		0.562	0.153	0.153	0.217

2) Tukey 法による有意差検定を実施 (n=5)

表 3. 産卵量 (g/羽/日)

試験区	予備飼育期間		試験期間		変化率(%) B/A
	A	B	A	B	
1区	CP17.0%	57.4	60.0 ^a	60.0 ^a	104.6
2区	CP16.5%	56.9	58.7 ^{ab}	58.7 ^{ab}	103.3
3区	CP16.0%	56.6	58.7 ^{ab}	58.7 ^{ab}	103.8
4区	CP15.5%	55.8	57.7 ^b	57.7 ^b	103.5
<i>P</i> 値 ¹⁾		0.213	0.009	0.009	0.728

1) Tukey 法による有意差検定を実施 (n=5、異符号間に有意差あり (P<0.01))

表 4. 鶏糞排泄量および鶏糞由来の窒素排泄量

試験区	鶏糞乾物量(g/羽/日)			鶏糞中窒素濃度(%)			鶏糞排泄量(g/羽/日)			
	予備期間	試験期間	変化率(%)	予備期間	試験期間	変化率(%)	予備期間	試験期間	変化率(%)	
									A/B	A/B
1区	28.6	29.3	102.5	5.63	5.88 ^a	104.5 ^a	1.61	1.72 ^a	108.0	
2区	27.0	29.0	107.3	5.95	5.88 ^a	98.8 ^a	1.61	1.70 ^a	106.5	▲ 1.5
3区	27.1	28.9	106.6	5.95	5.40 ^b	90.8 ^b	1.61	1.56 ^b	97.1	▲ 10.9
4区	26.3	28.5	108.7	5.69	5.20 ^b	91.3 ^b	1.49	1.48 ^b	99.5	▲ 8.5
<i>P</i> 値	0.234	0.835	0.607	0.340	0.000	0.000	0.330	0.000	0.191	

1) Tukey 法による有意差検定を実施 (n=5、異符号間に有意差あり (P<0.01))

4. 養豚配合飼料における炭酸カルシウムの形状がフィターゼに与える影響 菅沼彰太、赤坂大輔、舘野浩一（養豚研究室）

要約：

本試験では炭酸カルシウムの形状がフィチン酸分解酵素（以下、フィターゼ）の効果やカルシウム、りんおよび各栄養成分の消化吸収に与える影響を、豚を用いた代謝試験によって評価した。その結果、フィターゼを添加しない場合、粒状炭酸カルシウムの使用によりカルシウムやりんの見かけの消化率が改善する傾向が確認され、粗灰分の見かけの消化率が有意に改善された。一方、フィターゼを添加した場合、粒状炭酸カルシウムの使用によるカルシウム、りんおよび粗灰分の見かけの消化率改善は確認されなかった。またフィターゼの添加と粒状炭酸カルシウムの使用について、カルシウム、りんおよび粗灰分の見かけの消化率における相互作用は確認されなかった。

目的：

フィターゼは豚の上部消化管でフィチン酸を分解するが、その働きを阻害する要因として飼料中カルシウムが挙げられる。飼料中カルシウムは消化管内でフィチン酸と結合することでフィターゼの反応を妨げたり、消化管内のpHを上昇させてフィターゼの活性を低下させたりする。粒状炭酸カルシウムは粉状炭酸カルシウムと比較して消化管内における溶解速度が緩やかであり、フィターゼの働きを阻害にくい可能性がある。そこで本試験では、炭酸カルシウムの粒度がフィターゼによる見かけの可消化りん、見かけの可消化カルシウム改善量および各栄養成分の消化吸収に与える影響を代謝試験によって調査した。

材料および方法：

体重約30kgの去勢豚を対象とし、体重を揃えて6頭/区×4区の計24頭を用いた代謝試験を行った。全期間を通した飼料給与量は、試験開始体重の約3%として朝夕2回に分けて給与した。試験期間中は自由飲水とし、代謝試験室は空調設備により約20℃に調整した。試験豚は代謝ケージに収容し、全頭に慣行飼料を5日間給与して飼育環境に馴致させた後、試験飼料に切り替えた。切り替え後は、飼料馴致期間を5日間、採糞期間を5日間とし、採糞期間中は毎朝一定時間に全量糞をサンプリングした。サンプリングした糞は2%塩酸を噴霧し、60℃で2日間通風乾燥させ、乾燥糞全量を粉碎混合し、一部を分析に供した。試験区分として、試験1区は粉状炭酸カルシウム（75μm以下）を使用しフィターゼ無添加、試験2区は粉状炭酸カルシウムを使用しフィターゼ添加、試験3区は粒状炭酸カルシウム（300～1000μm）を使用しフィターゼ無添加、試験4区は粒状炭酸カルシウムを使用しフィターゼ添加する内容とした。りんは日本飼養標準・豚（2013年版）における体重30～50kgの有効りん要求量0.27%を満たさない内容とし、その他の栄養成分については試験区間で同程度となるように設計した。

結果および考察：

カルシウムの見かけの消化率は、1区で62.6%、2区で72.3%（1区対比116%）、3区で67.9%（1区対比108%）、4区で72.9%（1区対比116%）であり、フィターゼの添加

によって消化率が有意に改善した ($P < 0.05$)。また、フィターゼ無添加の1区と3区を比べると、粒状炭酸カルシウムの使用によりカルシウムの見かけの消化率が改善する傾向が確認された ($P > 0.05$)。一方、フィターゼ添加区の2区と4区を比べると、粒状炭酸カルシウムによるカルシウムの見かけの消化率の改善は見られず、フィターゼ添加と粒状炭酸カルシウムによる相互作用は確認できなかった。

りんの見かけの消化率は、1区で38.5%、2区で58.0% (1区対比151%)、3区で44.5% (1区対比115%)、4区で58.7% (1区対比152%)であり、フィターゼの添加によって消化率が有意に改善した ($P < 0.05$)。また、フィターゼ無添加の区を比べると、粒状炭酸カルシウムを使用するとりんの見かけの消化率が改善する傾向が確認された ($P > 0.05$)。一方、フィターゼを添加した区を比べると、粒状炭酸カルシウムを使用することによるりんの見かけの消化率の改善は見られず、フィターゼ添加と粒状炭酸カルシウムによる相互作用は確認できなかった。

各栄養成分の消化吸収について、粗たん白質、粗脂肪、粗繊維、可溶性無窒素物は、フィターゼの添加や粒状炭酸カルシウムによる消化率の改善は確認されなかった。粗灰分について、フィターゼの添加および粒状炭酸カルシウムによって消化率が有意に改善した ($P < 0.05$) が、相互作用は確認されなかった。

表1. カルシウムおよびりんの見かけの消化率 (%)

	1区	2区	3区	4区	二元配置分散分析のP値		
					フィターゼ	炭酸カルシウム	フィターゼ × 炭酸カルシウム
カルシウム	62.6	72.3 (116)	67.9 (108)	72.9 (116)	0.01	0.143	0.224
りん	38.5	58.0 (151)	44.5 (115)	58.7 (152)	0.00	0.182	0.282

注) 括弧内の数字は試験1区を100とした場合の相対値を示す。

表2. 各栄養成分の見かけの消化率 (%)

	1区	2区	3区	4区	二元配置分散分析のP値		
					フィターゼ	炭酸カルシウム	フィターゼ × 炭酸カルシウム
粗たん白質	85.8	86.3 (101)	86.3 (101)	86.5 (101)	0.672	0.634	0.861
粗脂肪	77.8	77.6 (100)	77.1 (99)	79.1 (102)	0.637	0.821	0.565
粗繊維	55.7	54.3 (97)	56.5 (101)	57.8 (104)	0.985	0.444	0.615
粗灰分	62.0	69.3 (112)	66.4 (107)	71.6 (115)	0.000	0.034	0.467
可溶性無窒素物	92.0	91.8 (100)	92.7 (101)	92.6 (101)	0.636	0.048	0.819

注) 括弧内の数字は試験1区を100とした場合の相対値を示す。

5. デュロック純粋種における産肉形質に関するMicrobiabilityの推定 廣瀬健右、伊藤哲也、上川舞、古川了一、普川一雄（上土幌種豚育種研究室）

要約：

腸内細菌叢情報を活用した新しい遺伝的能力評価法を開発するため、デュロック種集団を用いて腸内細菌叢の構成調査、産肉形質における腸内細菌叢遺伝率(Microbiability)の推定を行った。共通の飼育条件であれば、腸内細菌叢の菌叢構成は性別やサンプリング時期などの環境要因による影響は少ないことが示唆された。産肉形質におけるMicrobiabilityは0～0.2程度と推定され、さらに菌叢情報は遺伝子情報と独立していると考えられることから、腸内細菌叢の情報を育種改良に利用できる可能性が示唆された。

目的：

家畜の育種改良では選抜指標である遺伝的能力の予測精度が重要であり、表現型値を持たない個体の場合、表現型値を持つ個体との“似通い”情報が正確なほど予測精度が向上する。本会のブタの育種改良における遺伝的能力評価では血縁情報および高密度SNPチップ情報が似通いの指標として用いられ、これまでに産肉能力や繁殖能力の向上などで一定の成果を得られている。近年、個体の持つ腸内細菌叢の情報が後代世代に一定程度受け継がれることが明らかになり、従来の遺伝子情報だけでなく腸内細菌叢の情報を予測モデルに組み込むことで、個体の遺伝的能力の予測精度を向上させることができる可能性が出てきた。

そこで本研究では腸内細菌叢情報を活用した新しい遺伝的能力評価法を開発するための基礎的な知見を得るため、デュロック種を用いた腸内細菌叢の構成調査、産肉形質における腸内細菌叢遺伝率(Microbiability)の推定を行った。

材料および方法：

上土幌種豚育種研究室で生産されたデュロック種400頭から生体重80～110kg時点で直腸から綿棒で直腸便を採取した。直腸スワブからゲノムDNAを採取し、16S rRNA配列のV3-V4領域を読むシーケンス解析をイルミナ社MiSeqを用いて行った。シーケンス解析後、QIIME2 v.2019.7 platformにより、品質チェック、トリミング、ASV (amplicon sequence variant)決定を行った。Silva 132データベースを用いて各サンプルの細菌叢の属分類を行い、分類ユニット(OTU)を決定した。

産肉形質(1日平均増体重、背脂肪厚、ロース断面積、筋肉内脂肪割合、飼料要求率)の測定方法は上土幌種豚育種研究室および東日本原種豚場の慣行に従った。

形質の遺伝率(heritability)、菌叢遺伝率(Microbiability)について上土幌群の形質データ、血統情報、菌叢情報を用いて、下記3モデルで推定した。血統情報は個体間の血縁関係を表す分子血縁行列(A行列)、菌叢情報として個体の菌叢間の相関情報Camarinha-Silvaら(2017)のMicrobial行列(M行列)をモデルに使用した。

Aモデル : $y = \mu + YM + \text{sex} + bx + u + e$ (分子血縁行列モデル)

Mモデル : $y = \mu + YM + \text{sex} + bx + m + e$ (腸内細菌叢モデル)

A+Mモデル : $y = \mu + YM + \text{sex} + bx + u + m + e$ (複合モデル)

μ : 総平均、YM : 出生年・月の効果、sex : 性の効果、b : 検定終了時体重に対する一次回帰、x : 検定終了時体重、u : 育種価 * A は相加的血縁行列、m : 菌叢効果 * M は Microbial 関係行列、e : 誤差

結果および考察 :

上土幌で採取したサンプルについて、Shannon指数、FaithPd、Unweighted UniFrac距離はいずれも性別およびサンプル採取時期で数値の分布状況に大きな差はなかった。したがって共通の飼育条件であれば、腸内細菌叢の構成には性別やサンプル採取季節による影響は少ないことが示唆された。

各形質におけるAモデル（分子血縁行列モデル）による遺伝率の推定結果、Mモデル（腸内細菌叢モデル）によるMicrobiabilityの推定結果、A+Mモデル（分子血縁行列と腸内細菌叢の複合モデル）による遺伝率とMicrobiabilityの推定結果を表1に示した。

各形質ともに遺伝率がMicrobiabilityよりも高く、育種改良においては菌叢の効果よりも遺伝子情報の方が重要であると考えられた。

各形質ともにAモデルで推定された遺伝率、Mモデルで推定されたMicrobiabilityはA+Mモデルで推定された遺伝率、Microbiabilityとほぼ同等であった。これは産肉形質においては遺伝子の効果と菌叢効果は独立していることを示唆するものである。

本研究では1日平均増体重、背脂肪厚、筋肉内脂肪割合におけるMicrobiabilityはそれぞれ0.21、0.11、0.09と推定され、産子数などの繁殖形質における遺伝率（凡そ0.1~0.15）と同程度の値を示した。特に1日平均増体重でのMicrobiabilityは0.21（Mモデル）、0.17（A+Mモデル）と推定されたことから、菌叢情報を利用することで効率的に育種改良ができる可能性が示唆された。その一方で、ロース芯面積におけるMicrobiabilityは0と推定されたことから、菌叢情報を使って改良の効率化を図ることは難しいと考えられた。

本研究において各形質ともにAモデルで推定された遺伝率は通常の育種価計算で用いている遺伝率よりも高い結果となった。これは本研究で用いたサンプル数、世代数が遺伝率を推定するためには少ないことが要因と考えられる。したがって、サンプル数が増えた場合、Microbiabilityも推定値が大きく変化する可能性があるため、より正確なMicrobiabilityの推定のためにはさらなる調査が必要である。

表1. 遺伝率予測モデルによる遺伝率、Microbiabilityの推定値の比較

	Aモデル		Mモデル		A+Mモデル			
	h2	se	m2	se	h2	se	m2	se
一日平均増体重	0.72	0.15	0.21	0.06	0.68	0.14	0.17	0.05
背脂肪厚	0.74	0.15	0.11	0.05	0.66	0.15	0.05	0.04
ロース芯面積	0.81	0.14	0	0.02	0.81	0.14	0	0.01
筋肉内脂肪割合	0.29	0.11	0.09	0.05	0.26	0.11	0.06	0.04
体長	0.61	0.14	0.03	0.04	0.61	0.14	0	0
管囲	0.27	0.13	0.04	0.04	0.26	0.13	0.03	0.03
体高	0.53	0.14	0.06	0.04	0.49	0.14	0.04	0.03

6. 沖縄県産黒糖の給与が搾乳牛の乳成績およびルーメン性状に及ぼす影響

石田恭平、柴田直美、平野和夫

(笠間乳肉牛研究室)

要約：

沖縄県産黒糖の搾乳牛用飼料としての利用可能性を評価するため、黒糖を用いて糖含量を高めた完全混合飼料（TMR）を搾乳牛に給与した際の乳成績やルーメン性状に及ぼす影響を調査した。本試験に供した黒糖は紙袋内で固結が生じ、加水した TMR 内ではさらに硬い塊となりハンドリングを悪化させたが、嗜好性に問題はなく良好であった。黒糖を 0.9 kg/頭/日添加し、糖含量を乾物当たり 12.3%に高めた TMR を給与したところ、特に高泌乳牛（乳量>33 kg/日）において、乳量、乳脂肪および乳蛋白質の増加が認められ、成分補正乳量が有意に増加した。また黒糖給与によってルーメン発酵由来の有機酸濃度の増加が見られ、ルーメン微生物の増殖促進および発酵の活性化が示唆された。この微生物の増殖促進が、特に高泌乳牛における乳量や乳成分の増加につながったと考えられた。以上より、沖縄県産黒糖の飼料利用は、特に高泌乳牛の乳成績の改善に寄与すると考えられた。

目的：

黒糖製造は沖縄県の主幹産業であるが、需給均衡がとれておらず、近年では在庫過多の状況が続いている。食用需要の大幅な拡大は見込めないことから、地域産業維持のために非食用利用の検討を官民一体で進めており、その一つとして飼料利用が挙げられている。

そこで本試験では、沖縄県産黒糖を搾乳牛に給与した際の摂取量、乳成績およびルーメン性状に及ぼす影響を調査し、搾乳牛用飼料としての利用可能性を評価することを目的とした。

材料および方法：

本試験にはホルスタイン種搾乳牛 45 頭（2.6 ± 1.1 産、分娩後日数 101.0 ± 75.0 日）を供した。試験区分として、黒糖を含まない慣行の完全混合飼料（TMR）を給与する区（対照区）と、対照区の配合飼料と置換して黒糖を原物 0.9 kg/頭/日（乾物 3.2%）給与する区（黒糖区）を設け、馴致期間 18 日間・サンプリング期間 5 日間の反転法により供試した。供試牛はコンポストバーンにて群飼養し、一日 2 回給餌・2 回搾乳、自由飲水とした。その他の飼養管理は笠間乳肉牛研究室の慣行に従った。

調査項目は、飼料成分、飼料摂取量、乳成績およびルーメン性状とした。得られたデータは JMP[®] ver.15.0.0 (SAS Institute Japan, 東京)を用いて対応のある t 検定により統計解析した。

結果および考察：

1. 供試した沖縄県産黒糖は、糖分（スクロース）を乾物当たり約 85%含み、カルシウムやカリウム、鉄などのミネラル類も含有されていた。
2. 紙袋内で固結が生じ、加水した TMR 内ではさらに硬い塊となりハンドリングを低下させたが、嗜好性に問題は見られなかった。

3. 沖縄県産黒糖を原物 0.9 kg/頭/日添加し、糖含量を乾物当たり 12.3%に高めた TMR を給与したところ、乳脂肪率の増加傾向が認められた。
4. 高泌乳牛（乳量 > 33 kg/日）においては、さらに乳量および乳蛋白質率の増加傾向も見られ、成分補正乳量が有意に増加した。
5. 黒糖給与によってルーメン内有機酸濃度が増加し、ルーメン微生物の増殖促進およびルーメン発酵の活性化が示唆された。このルーメン微生物の増殖促進が、特に高泌乳牛における乳量や乳成分の増加につながったと考えられた。
6. 以上のことから、沖縄県産黒糖を用いて飼料中の糖含量を高めることは、特に高泌乳牛において乳量や乳成分の改善に寄与すると考えられた。

謝辞：

本試験に供した黒糖は「令和3年度沖縄黒糖安定供給支援事業」（沖縄県黒砂糖協同組合）の補助を受けて提供された。

表 1. 黒糖給与による乳量および乳成分への影響（高泌乳牛[†]）

	対照区	黒糖区	標準誤差	P 値
乳量 (kg/日)	38.79	40.66	1.00	0.07
乳脂肪率 (%)	3.93	4.11	0.18	0.05
乳蛋白率 (%)	3.22	3.25	0.03	0.08
乳糖率 (%)	4.59	4.57	0.01	0.17
MUN (mg/dL)	12.01	10.73	0.23	<0.01
4% FCM (kg/日)	38.21	41.19	0.87	<0.01
ECM (kg/日)	41.27	44.27	0.94	<0.01

MUN; 乳中尿素態窒素、FCM; 乳脂肪補正乳量、ECM; エネルギー補正乳量

[†] 試験開始時の乳量 > 33 kg/日を対象とした

表 2. 黒糖給与によるルーメン性状への影響

	対照区	黒糖区	標準誤差	P 値
pH	6.92	6.76	0.06	0.03
乳酸 (mM)	2.77	8.88	3.48	0.11
酢酸 (mM)	50.13	57.92	3.59	0.06
プロピオン酸 (mM)	16.45	20.41	1.55	0.03
酪酸 (mM)	11.05	15.25	1.74	0.04
吉草酸 (mM)	0.37	0.95	0.58	0.34
総有機酸 (mM)	80.92	103.56	5.98	<0.01

IV そ の 他

実験動物福祉に対する取り組み

(1) 機関内規程の整備

当所における実験動物福祉体制の充実を図るため、以下に示す規定類を定め、実行している。

実験動物福祉規程、実験動物福祉委員会規程、実験動物福祉自己点検・評価要領、実験動物豚舎飼養管理マニュアル、第2実験動物豚舎 SOP、実験動物豚舎危害防止・災害マニュアル、動物実験要領、組換えDNA実験要領、動物の移管・転用に関する手順書、肉豚出荷作業マニュアル、解体作業マニュアル、実験動物豚輸送緊急時対応マニュアル

(2) 教育訓練

当所における実験動物福祉推進のため、所内研修会の実施、各種学会への職員派遣を行った。また、動物への感謝の意を込めて令和4年9月に畜魂祭を行った。

(3) 自己点検・評価

令和4年11月に自己点検・評価を実施し、実験動物福祉委員会において規定類改正の必要性等について改善点が提案された。当該事項については速やかな改善を行い、適切な福祉への配慮の下、実験動物生産がなされていると評価された。

(4) 第三者認証について

平成28年度に公益社団法人日本実験動物協会の実験動物生産施設等福祉認証を取得した。また、令和4年度に同認証の定期更新のための調査を受け、実験動物福祉の観点から適切に運用・管理が行われていることが認められた。

家畜衛生研究所 年次報告

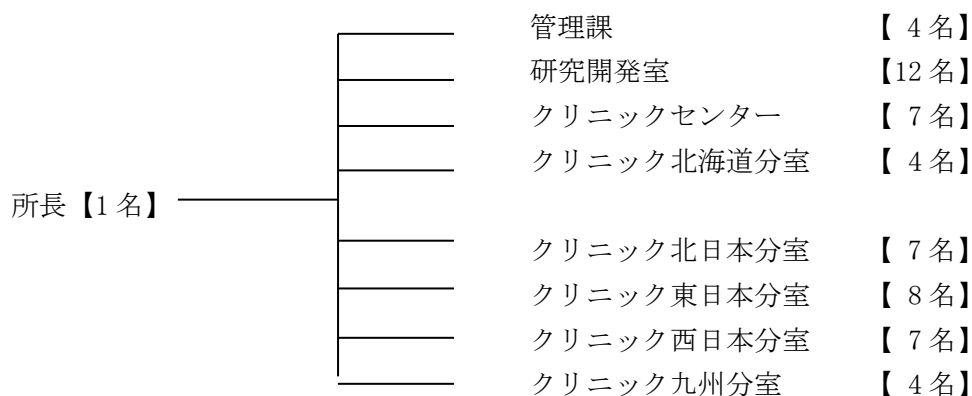
令和4年度 家畜衛生研究所 年次報告

I. 家畜衛生研究所の概況-----	27
1. 機構と要員	
2. 機構の変遷	
3. 施設の概要	
4. 家畜衛生研究所の運営方針	
5. 令和4年度事業方針	
6. 研究開発およびクリニック事業実績	
7. これまでの研究開発の成果	
8. 外部研究機関との共同研究・派遣など	
II. 主な研究・技術対応結果の要約-----	31
1. 衛生検査・指導技術の確立	
2. 疾病の疫学調査	
III. 外部報告とその主な要約-----	34
1. 学術雑誌および研究会報などへの投稿	
2. 学会・研究会報告	

I 家畜衛生研究所の概況

1. 機構と要員* (令和5年5月1日現在)

※嘱託・派遣・臨時職員を含む。



要員内訳	全農職員	40名
	派遣・臨時職員	7名
	嘱託職員	7名
合計		54名

2. 機構の変遷

- (1) 昭和 57年 千葉県佐倉市に家畜衛生研究所設立
- (2) 平成 4年 全国7ヶ所の家畜衛生検査室を家畜衛生研究所に集約
- (3) 平成 16年 機構変更によりクリニックセンター東北分室および大阪分室を設置
- (4) 平成 22年 遺伝子検査の増加に対応しPCR棟を新設
- (5) 平成 29年 機構変更によりクリニックセンター札幌分室設置
- (6) 平成 30年 クリニック検査棟建替
機構変更によりクリニック東日本分室および九州分室設置
クリニック3分室の名称変更(札幌分室→北海道分室、東北分室→北日本分室、大阪分室→西日本分室)
- (7) 平成 31年 クリニック東日本分室、西日本分室事務所移転
クリニック東日本分室：家衛研(千葉県佐倉市)⇒東京都江東区に移転
クリニック西日本分室：大阪府北区⇒岡山県岡山市に移転

3. 施設の概要

総敷地面積 約 4.8ha

施設名	用途
研究本館棟	事務室、会議室、各種実験室等
クリニック検査棟	事務室、各種検査室、検査ロボットエリア
研究棟	家畜・家禽試験施設
研究別館棟	図書室、食堂、株式会社全農ビジネスサポート事務室

4. 家畜衛生研究所の運営方針

「家畜の健康と食卓の安全を結ぶ研究所を目指す」

5. 令和4年度事業方針

「家畜・家禽の生産性向上に寄与する予防衛生の取り組み」

(1) 生産性を阻害する感染症の予防衛生対策

- ア. 肺炎などの呼吸器病を予防する研究開発・衛生検査・農場指導
- イ. 下痢症を予防する研究開発・衛生検査・農場指導
- ウ. 産卵低下を予防する研究開発・衛生検査・農場指導
- エ. 感染症による死産を予防する研究開発・衛生検査・農場指導
- オ. 安全な畜産物を生産する研究開発・衛生検査・農場指導

(2) 衛生指導ができる人材の確保と教育の取り組み

(3) 生産現場に密着した技術対応強化の取り組み

6. 研究開発およびクリニック事業実績

(1) 研究開発実績

ア. 研究課題

区分	課題数	終了項目数
A. 衛生検査・指導技術の確立	3	5
B. 生物学的製剤の研究開発	5	11
C. 機能性飼料の研究開発	3	6
D. 畜産物衛生に関する研究開発	2	3
E. 疾病の疫学調査	1	1
合計	14	27

イ. 技術対応課題 終了課題数 6

(2) クリニック検査実績

区分		平成4年度	令和3年度	前年比
受付件数		24,077 件	24,727 件	97.4%
検体数	家畜衛生検査	183,459 検体	185,083 検体	99.1%
	畜産物安全性検査	12,235 検体	12,703 検体	96.3%
	合計	195,694 検体	197,786 検体	98.9%
延べ検査数		466,327 検査	479,674 検査	97.2%

7. これまでの研究開発の成果

(1) 産業財産権出願状況

	出願 (累計)	登録 (令和3年3月31日有効なもの)
件数	46	4

(2) 開発商品

商品名	発売日
ア. マイコバスター (豚マイコプラズマ肺炎不活化ワクチン)	平成9年2月
イ. 核さんテスト・サルモネラ (DNAプローブ法を用いた食品検査キット)	平成7年
ウ. 核さんテスト・黄色ブドウ球菌 (DNAプローブ法を用いた食品検査キット)	平成10年
エ. コリテクト (子豚用ビタミン生菌剤入り混合飼料)	平成12年
オ. 強健シリーズ (豚用抗病性向上飼料)	平成元年
カ. F B Iシリーズ (鶏用サルモネラ対策飼料)	平成10年
キ. イモコリボブ (牛用大腸菌ワクチン)	平成2年6月
ク. AD (オーエスキー病) 抗原ラテックス	平成元年8月
ケ. S E P (豚マイコプラズマ肺炎) C F 抗原	昭和63年1月
コ. 豚コリネ免疫診断用ゲル沈抗原	平成元年4月
サ. C E テクト (鶏盲腸内容物培養飼料)	平成11年
シ. B b 凝集抗原 (ボルデテラ ブロンキセプティカ抗体測定用診断液)	平成16年10月
ス. マイコバスターARプラス (豚マイコプラズマ+パスツレラ+ボルデテラ混合不活化ワクチン)	平成17年8月
セ. 生菌剤 J A - Z K 株 (混合飼料→平成29年に飼料添加物として認可)	平成18年8月
ソ. オイルバスターEDS (EDS76不活化オイルワクチン)	平成19年9月
タ. オイルバスターMG (マイコプラズマ・ガリセプティカム感染症不活化オイルワクチン)	平成20年9月
チ. オイルバスターSE (サルモネラ・エンテリティディス感染症不活化ワクチン)	平成23年11月
ツ. グレーサーバスター (ヘモフィルス・パラスイス(2・5型)感染症不活化ワクチン)	平成24年12月
テ. IB生「科飼研」JPⅢ	令和3年10月

(3) 家畜衛生啓発資材

書名	発行日
ア. 鶏卵のサルモネラ対策ハンドブック	平成10年8月
イ. ウイークリー養豚マニュアル2000	平成12年3月
ウ. 自動哺乳機利用による子牛の集団哺乳・哺育の手引書	平成12年10月
エ. 家畜飼養 衛生環境浄化と消毒の手引き	平成12年12月
オ. 配合飼料 畜産技術ハンドブック — 衛生 —	平成14年3月
カ. 配合飼料工場における防疫対策手引書	平成15年2月
キ. 鶏卵のサルモネラ対策ハンドブック追加版	平成15年10月
ク. 配合飼料工場における防疫対策手引書、追補版	平成16年5月
ケ. 鶏卵のサルモネラ対策ハンドブック改定	平成18年
コ. 鶏卵内異物パンフレット	平成18年
サ. 和牛繁殖新規参入ガイドブック	平成19年7月

シ. くみあい養豚生産性向上ヒント集	平成 21 年 2 月
ス. くみあい養鶏生産性向上ヒント集	平成 21 年 3 月
セ. ウィークリー養豚マニュアル 2008 (衛生編)	平成 21 年 3 月
ソ. 家畜衛生生産性向上ヒント集	平成 22 年 9 月
タ. 高病原性鳥インフルエンザの発生を防ぐために	平成 23 年 2 月
チ. 家畜衛生啓蒙資材 (立入禁止ステッカー・バインダー)	平成 23 年 11 月
ツ. 牛用家畜衛生啓蒙資材 (ポスター)	平成 25 年 2 月
テ. 牛の健康チェックはじめませんか? (チラシ)	平成 28 年 6 月
ト. 感染症から牛を守る: DNAチップ検査でBRDC病原体を一括検出 (パンフレット)	平成 29 年 9 月
ナ. くみあい養豚生産性向上ヒント集 (改定版)	平成 29 年 3 月
ニ. 感染症から牛を守る: DNAチップ検査でBRDC病原体遺伝子を一括検出 (パンフレット、東芝メディカルシステムズ株式会社と共著)	平成 29 年 9 月
ヌ. 子豚を元気に育てるために...!! (パンフレット)	平成 29 年 11 月
ネ. 防疫マニュアル (冊子、リーフレット、動画)	令和元年 5 月
ノ. わかりやすい豚病衛生ハンドブック	令和 2 年 1 月
ハ. 飼養衛生管理基準ガイドブック (豚、いのしし編)	令和 2 年 7 月
ヒ. くみあい養牛 (肉用牛繁殖・子牛) 飼養管理ハンドブック 2020 年度版	令和 3 年 1 月
フ. 高病原性鳥インフルエンザの発生を防ぐために	令和 3 年 1 月
ヘ. 飼養衛生管理基準ガイドブック (鶏その他家きん編)	令和 3 年 11 月
ホ. 飼養衛生管理基準ガイドブック (牛、水牛、鹿、めん羊、山羊編)	令和 3 年 11 月
マ. 高病原性鳥インフルエンザの発生を防ぐために	令和 4 年 4 月
ミ. 豚熱発生を防ぐために	令和 4 年 4 月

8. 外部研究機関との共同研究・派遣など

(1) 国立大学法人東京大学

東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程

Ⅱ. 主な研究課題および技術対応課題結果の要約

1. 衛生検査・指導技術の確立

(1) IB JP-Ⅲ レイヤー試験

担当：中西 誠（研究開発室）

【要約】

当所が基礎開発を行った JP-Ⅲ型の鶏伝染性気管支炎（以下、IB）ウイルスに対応する IB 生「科飼研」JPⅢ（以下、本ワクチン）について、レイヤーにおける本ワクチンの安全性と免疫原性を評価するため、全農飼料畜産中央研究所のレイヤー（ジュリアおよびボリスブラウン）でワクチン接種後の育すうおよび成鶏期間の各種生産成績と IB 抗体価を調査した結果、本ワクチンをスプレー投与後に副反応は認められず、育すう期間においても増体重および飼料摂取量はマニュアルと同等以上であった。成鶏期間に関しても平均体重、生存率、飼料摂取量およびヘンディ産卵率はマニュアルと同等以上であった。IB 抗体価は、6 週令までに JP-Ⅲ型を含むすべての遺伝子型に対して 128 倍～2,048 倍の範囲で中和抗体価の上昇を認め、対照区と同等以上の値を示した。以上のことから、レイヤーに対する本ワクチンの優れた安全性と免疫原性が確認された。

(2) 鶏卵抗体 (PED 野外試験結果)

担当：中西 誠（研究開発室）

【要約】

豚流行性下痢（PED）は、水様性下痢を主徴とする豚の急性伝染病である。PED の対策資材として、抗 PED ウイルス鶏卵抗体を含有し、強制的に経口給与する混合飼料（以下、プッシュ式）を作成した。これまでに、PED 発生野外農場において、0 日齢の哺乳豚に、1 日 2 回、8 日間プッシュ式を給与することで、PED による死亡率を減少させることを明らかにしてきた。この結果を踏まえ、プッシュ式の給与期間、給与回数を低減させた場合の有効性について、PED 発生農場において評価を行った結果、PED 発生から間もなく、PED ウイルスの感染圧が高い時期においては 1 日 2 回 5 日の給与により死亡率の低下、日増体量が増加した。また、PED 発生から 1 週以降においては、1 日 1 回 5 日間、あるいは 2 日間の給与によって死亡率の低下、日増体量が増加した。これらのことから、プッシュ式は農場の状況や作業体制などに応じて、給与方法を設定することで有効性と作業性の両立が可能であると考えられた。

(3) 初生ひなへの CE テクト給与による菌叢変化の確認

担当：松本 弘輝（研究開発室）

【要約】

CE テクトは SPF 鶏の盲腸内容物をもとに製造されており、初生雛に給与することにより、安定した正常腸内細菌叢の確立および盲腸粘膜の発達を促す。今回 CE テクトを給与

した雛の腸内細菌叢について次世代シーケンサー (Miseq) を用いて解析した。CE テクトを給与することにより、盲腸内の菌叢において多様性が得られていることが明らかとなった。また、両区で大きく相対存在率が異なる菌 (*Veillonellaceae*, *Proteus*, *Bacteroides caccae* 等) および q 値が高く明確に異なる菌 (*Veillonellaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Proteus* 等) を明らかにすることができ、知見の蓄積につながった。

(4) 食鳥処理場における本冷チラーでのビネパワー活用の検討

担当：松本 弘輝 (研究開発室)

【要約】

本冷チラーでの次亜素殺菌に加え、800 ppm 以上の過酢酸 (PAA) でと体表面を殺菌することで、一般生菌数、大腸菌群数の有意な低減が確認され、消費期限が 3-4 日延長されることが示唆されている。一方、本手法では新たな設備投資が必要など課題も多い。設備投資が最小であると考えられる PAA 活用法として、本冷チラーでの殺菌を次亜素から PAA に置き換え、消費期限の延長が可能であるかを検証した。200 ppm の PAA を 40 分間浸漬することにより、現行よりも消費期限が延長される可能性が示唆された。一方、今回の試験は他の細菌による汚染が抑えられた実験室内での結果であり、食鳥処理場で殺菌し、処理ライン通過後も消費期限が延長するかを確認する必要がある。

(5) MALDI 導入へむけた *Staphylococcus* 属菌および *Streptococcus* 属菌同定手法の評価

担当：土屋厚人、相馬茉莉絵、江浪誠俊 (クリニックセンター)

【要約】

過去の調査にて、クリニック検査へ MALDI TOF-MS (以下 MALDI) の技術を用いた微生物同定手法が導入可能か評価した結果、1 属および 10 菌種の検査で導入可能と評価された。しかしながら、*Staphylococcus* 属菌および *Streptococcus* 属菌については結果一致率が低く、導入については更なる検討が必要となった。結果が一致しなかった菌株について Api、MALDI 機器および 16SrDNA 遺伝子解析による菌種同定をもとに評価を行った結果、MALDI 機器での同定精度が Api よりも高いこと、一部菌種のみ誤同定のリスクがあることから Api と併用することで誤同定リスクを回避することが可能であることがわかった。これらの結果から *Staphylococcus* 属菌および *Streptococcus* 属菌検査における菌種同定において MALDI 機器を導入し、クリニック検査における細菌検査の迅速化を図る。

2. 疾病の疫学調査

(1) レイヤー農場における QX-like 型浸潤状況調査

担当：中西 誠 (研究開発室)

【要約】

当所が 2020 年に行った九州地域のブロイラー農場における鶏伝染性気管支炎ウイルス (以下、IBV) 疫学調査において、海外で流行する抗原変異株「QX-like 型」を国内で初めて検出し、分離した。今回全国のレイヤー農場(のべ 122 農場)において「QX-like 型」の

浸潤状況を調査した。122 農場中 64 農場(52.5%)から IBV 遺伝子が検出され、内訳として 64 農場中 44 農場(68.8%)は野外株、13 農場(20.3%)はワクチン株および 7 農場(10.9%)は型別不能に分類された。この 44 農場から検出された野外株の S1 遺伝子型は、検出数が多い順に JP-I 型(22 農場, 50.0%)、JP-III 型(16 農場, 36.4%)、JP-II 型(5 農場, 11.3%)および 4/91 型(1 農場, 2.3%)であり、16 農場で検出された JP-III 型野外株のうち 7 農場(43.8%)が QX-like 型に識別された。なお本調査で検出された QX-like 型野外株は、2019～2021 年の国内検出株ならびに 2016～2019 年の中国および韓国流行株と近縁であることが示唆された。

Ⅲ. 外部報告とその主な要約

1. 学術雑誌および研究会報などへの投稿

(1) 鳥病カラーシリーズ 採卵鶏雌成鶏の卵管腺癌

相馬 茉莉絵 (クリニックセンター)

鶏病研究会報 第 58 巻:163 (2022)

動物: 鶏, ジュリア種, 雌, 768 日齢

当研究所にて長期飼養していた採卵鶏 4 羽を解剖した際、1 羽の腹腔において、間膜および漿膜の白色充実性結節、卵管粘膜の結節状隆起を数か所で観察した。卵管膨大部の組織では、粘膜固有層管状の腫瘍細胞が、管腔を経て漿膜へ、正常な管状腺細胞から連続するように浸潤していた。また、腹腔の間膜や漿膜にみられた結節でも、同様の管状腺細胞の腫瘍性増殖が認められた。いずれも被膜はなく、周囲との境界は明瞭であった。腫瘍細胞は細胞質に PAS 陽性の好酸性顆粒を含んでおり、鶏卵白オボアルブミン ウサギポリクローナル抗体 (Novus 社) を用いた免疫染色では、腫瘍細胞の細胞内顆粒および分泌物に一致して、陽性抗原を確認した。

採卵鶏の非感染性腫瘍として、卵巣腺癌や卵管腺癌などの生殖器腫瘍が知られている。本症例は、卵管から腹腔に移行するような腺管状の細胞増殖が主体で、卵巣に著変を認めなかったこと、腫瘍細胞の細胞質に好酸性顆粒を含み、この顆粒が鶏卵白抗体に対し良好な染色性を示したことから、組織由来を卵管の卵白分泌管状腺細胞とし、卵管腺癌と診断した。

(2) **Detection and isolation of QX-like infectious bronchitis virus in Japan**

Makoto Nakanishi, Junichi Soma, Sayaka Takahashi, Kie Matsune, Masaaki Ono, Takayuki Oosumi (研究開発室、クリニックセンター)

J Vet Med Sci. 2022 ;84(11):1520-1526.

The antigenic variant QX-like infectious bronchitis virus (IBV) is endemic in several countries. In Japan, the QX-like genotype is classified as the JP-III genotype based on the partial S1 gene and as the GI-19 genotype based on the complete S1 gene. This study showed that QX-like IBVs and JP-III IBVs can be identified based on the amino acid polymorphism of the S1 glycoprotein. Furthermore, genetic analysis of several IBV field strains detected in commercial broiler farms across the Kyushu area in 2020 revealed Japanese QX-like IBVs, which are highly homologous to the QX-like IBVs recently detected in China and South Korea. Herein, QX-like IBV field strains were isolated for evaluating commercial vaccine efficacy in our future studies.

(3) **Anti-BLV antibodies in whey correlate with bovine leukemia virus disease progression and BoLA-DRB3 polymorphism**

Ayumi Nakatsuchi (研究開発室) et al.
Front Vet Sci. 2022;9:1038101.

Introduction: Bovine leukemia virus (BLV) belongs to the family Retroviridae and is a causative agent for enzootic bovine leucosis, the most common neoplastic disease affecting cattle worldwide. BLV proviral load (PVL) is associated with disease progression and transmission risk but requires blood collection and quantitative PCR testing. Anti-BLV antibodies in whey have been used as a diagnostic tool for BLV infection; however, quantitative utilization has not been fully investigated. Furthermore, bovine leukocyte antigen (BoLA)-DRB3 is a polymorphic gene associated with BLV infectivity and PVL, but its effect on anti-BLV antibody levels in whey from BLV infected dams is unknown. Therefore, we aimed to investigate whether it is possible to correctly predict PVL in the blood and milk based on the amount of anti-BLV antibodies in milk, and whether the BoLA-DRB3 alleles associate with the amount of anti-BLV antibodies in milk.

Methods: We examined whey from 442 dams from 11 different dairy farms located in 6 prefectures in Japan, including susceptible dams carrying at least one BoLA-DRB3* 012:01 or * 015:01 allele related with high PVL, resistant dams carrying at least one BoLA-DRB3 * 002:01, * 009:02, or * 014:01:01 allele related with low PVL, and neutral dams carrying other alleles.

Results: First, our results provided compelling evidence that anti-BLV antibody levels in whey were positively correlated with the anti-BLV antibody levels in serum and with BLV PVL in blood and milk, indicating the possibility of estimating BLV PVL in blood and milk by measuring anti-BLV antibody levels in whey. Thus, our results showed that antibody titers in milk might be effective for estimating BLV transmission risk and disease progression in the field. Second, we demonstrated that anti-BLV antibody levels in whey from BLV resistant dams were significantly lower than those from susceptible and neutral dams. Discussion: This is the first report suggesting that the BoLA-DRB3 polymorphism affects anti-BLV antibody levels in whey from BLV-infected dams. Taken together, our results suggested that anti-BLV antibody levels in whey, measured by enzyme-linked immunosorbent assay, may be a useful marker to diagnose the risk of BLV infection and estimate PVL in blood and milk.

(4) **Influence of BoLA-DRB3 Polymorphism and Bovine Leukemia Virus (BLV) Infection on Dairy Cattle Productivity**

Ayumi Nakatsuchi (研究開発室) et al.
Vet Sci. 2023;10(4):250

Enzootic bovine leukosis caused by the bovine leukemia virus (BLV) results in substantial damage to the livestock industry; however, we lack an effective cure or vaccine. BoLA-DRB3 polymorphism in BLV-infected cattle is associated with the proviral load (PVL), infectivity in the blood, development of lymphoma, and in utero infection of calves. Additionally, it is related to the PVL,

infectivity, and anti-BLV antibody levels in milk. However, the effects of the BoLA-DRB3 allele and BLV infection on dairy cattle productivity remain poorly understood. Therefore, we investigated the effect of BLV infection and BoLA-DRB3 allele polymorphism on dairy cattle productivity in 147 Holstein dams raised on Japanese dairy farms. Our findings suggested that BLV infection significantly increased milk yield. Furthermore, the BoLA-DRB3 allele alone, and the combined effect of BLV infection and the BoLA-DRB3 allele had no effect. These results indicate that on-farm breeding and selection of resistant cattle, or the preferential elimination of susceptible cattle, does not affect dairy cattle productivity. Additionally, BLV infection is more likely to affect dairy cattle productivity than BoLA-DRB3 polymorphism.

2. 学会・研究会報告

(1) 国内で分離した QX-like 型鶏伝染性気管支炎ウイルス野外株に対する市販 JP-III型生ワクチンの防御効果の評価

中西誠、相馬順一、大角貴幸（研究開発室）

第 165 回日本獣医学会学術集会(令和 4 年 9 月 6 日～8 日)

【背景と目的】

鶏伝染性気管支炎ウイルス(以下、IBV)の抗原性には S タンパク質をコードする S1 遺伝子が関与し、野外株の抗原性と一致しないワクチン株は防御効果が低い。海外で流行している抗原変異株「QX-like 型 IBV」は、真瀬らが報告した S1 遺伝子型別では JP-III型に分類される。我々は S1 遺伝子配列に基づき、QX-like 型と識別される野外株を国内で分離した。新たに国内に侵入した QX-like 型への有効な対策を見出すため、QX-like 型野外株に対する市販 JP-III型生ワクチンの防御効果を評価した。

【材料および方法】

斃死プロイラー由来の JP/ZK-B7/2020 株を供試した。この野外株の S1 遺伝子配列について、国内の JP-III型野外株・ワクチン株(13 株)および海外の QX-like 型野外株(18 株)との相同性を解析した。SPF 鶏を用いた攻撃試験には、JP-III型の「千葉株」をワクチン株とする市販生ワクチンを供試した。

【結果と考察】

JP/ZK-B7/2020 株との S1 遺伝子配列の相同性は、JP-III型野外株は 89.8～92.8%、千葉株は 92.3%、QX-like 型野外株は 93.8～99.3%であった。攻撃 4 日後の平均気管線毛運動スコア（スコア 0：異常なし～3：完全停止）は、攻撃対照区の 2.88 に対し、JP-III型ワクチン区は 0.20 と顕著に低下した。攻撃 4 日後の気管と腎臓の平均ウイルス遺伝子量（log copies/g）は、それぞれ攻撃対照区の 7.03、6.05 に対し、JP-III型ワクチン区は 4.53、4.84 と顕著に減少した。以上より、QX-like 型野外株に対して、市販 JP-III型生ワクチンは高い防御効果が認められた。

(2) BoLA-DRB3 遺伝子が牛伝染性リンパ腫ウイルス感染牛の乳汁に与える影響

中土 亜由美（研究開発室）

第 30 回日本組織適合性学会大会(令和 4 年 9 月 18 日～19 日)

○中土亜由美^{1,2)}、綿貫園子¹⁾、Bao Aronggaowa¹⁾、陸拾七³⁾、Lanlan Bai³⁾、佐藤洋隆³⁾、小原潤子⁴⁾、松本安喜¹⁾、竹嶋伸之輔⁵⁾、間陽子^{1,3)}

- 1) 東京大学大学院農学生命科学研究科
- 2) JA 全農 家畜衛生研究所
- 3) 理研分子ウイルス学特別研究ユニット
- 4) 北海道立総合研究機構畜産試験場
- 5) 十文字学園女子大学食物栄養学科

【目的】

牛主要組織適合抗原(*BoLA*-*DRB3*) 遺伝子は牛伝染性リンパ腫ウイルス(BLV)の感染性、病態進行、血中のプロウイルス量(PVL)および母牛から子牛への垂直感染リスクと関連することが報告されているが、BLV感染牛の乳汁中のPVL、抗体量および感染性に与える影響については十分に明らかになっていない。本研究では、これらについて *BoLA-DRB3* 遺伝子を与える影響について評価したので報告する。

【方法】

BLV感染ホルスタイン雌牛263頭から血液および乳汁を採材した。血液と乳汁からDNAを抽出後、*BoLA-DRB3* タイピング法により *BoLA-DRB3* タイピングに基づきアレルを同定、それに基づき感受性、抵抗性の型別を行った。さらに、BLV-CoCoMo-qPCR法によりPVLの定量を行った。血清と乳清中の抗BLV抗体量はELISA法で、乳汁中細胞の感染性はTax応答性レポーター細胞を用いた蛍光発光シンシチウム法(LuSIA)で評価した。

【結果・考察】

BoLA-DRB3 タイピングに基づくBLV感受性牛(S牛)、抵抗性牛(R牛)およびその他牛の割合は49%、19%および32%であった。BLV感染牛の乳汁中のプロウイルス検出率およびPVLは共に、S牛はR牛と比較し有意に高かった。乳汁中のプロウイルスを3年間にわたって経時的に解析した結果、S牛はR牛よりも検出率が低かった。また、乳清中の抗BLV抗体量もR牛と比較してS牛では有意に高かった。さらにLuSIAの結果、蛍光シンシチウムが形成されたのはS牛で5/9頭(56%)、R牛で0/7頭(0%)でS牛の乳汁は感染性を有していた。本研究において、*BoLA-DRB3* 遺伝子がBLV感染牛の乳汁中のPVL、抗BLV抗体量および感染性に影響を与えることを初めて明らかにした。本研究結果から、*BoLA-DRB3* 遺伝子に基づき乳汁を介した垂直感染リスクを制御することで、BLV清浄化対策の一助となることが期待される。

(3) 過酢酸製剤を用いて殺菌した鶏中抜きと体における冷蔵保存での微生物増殖遅延効果の検証

松本 弘輝 (研究開発室)

第118回日本食品衛生学会学術講演会 (令和4年11月10日-11日)

【目的】

過酢酸(PAA)は高い殺菌力を有しており、2016年には食品添加物として認可されているが、中抜きと体殺菌におけるPAA活用方法の国内知見は乏しい。本研究では、食鳥処理場において現行法による殺菌(次亜塩素酸ナトリウム)に加え、さらにPAAにと体を浸漬して殺菌することにより、微生物増殖の遅延効果があることを見出した。また、MALDI-TOF MSを用いて、検出される菌種の違いについて検証したので報告する。

【方法】

評価には、現行法による殺菌処理を済ませた中抜きと体を15羽用いた。PAA製剤を800 (PAA800区) もしくは1,000 ppm (PAA1,000区) に調整し、4℃以下に保ちながら各5羽ずつ30秒間の浸漬を実施した。また、浸漬をしなかった5羽をコントロール (Control区) とした。浸漬後、もも肉を採材 (20サンプル/区) し4℃で保存した。保存0、8、12、16日目に各区から5サンプルずつ採取し、微生物検査 (一般生菌数、大腸菌群数、低温細菌数、乳酸菌数) を実施した。さらに、検出されたコロニーを純培養し、MALDI-TOF MSによる菌種同定を実施した。

【結果】

一般生菌数 (log₁₀ cfu/g) は、保存0日目において、Control区で僅かに多かったものの試験区との間に有意な差はなかった。Control区では8日目以降に増殖が認められ、16日目には5.7まで達した。一方、PAA800区では、16日目で3.8と有意に菌数が低く、増殖遅延が確認された。PAA1,000区でも、16日目で2.4と有意に菌数が低く、増殖遅延が確認された。大腸菌群数は、PAA800区、PAA1,000区で一般生菌数と同様に増殖遅延が確認された。低温細菌数は、保存0日目では、Control区で2.4、PAA800区で1.2、PAA1,000区で0.7と、PAAにより有意に減少した。その後の増殖は一般生菌数等と同様に増殖遅延が確認された。乳酸菌数は、Control区で僅かに確認されたものの、試験期間中の増殖は認められなかった。また、MALDI-TOF MSにより主に、*Pseudomonas* spp. および *Aeromonas* spp.、*Serratia* spp. が経時的に増殖していることが確認され、それらはControl区で有意に高いものであった。

【考察】

現行法による殺菌に加え、PAAへの浸漬殺菌により、と体表面の細菌の増殖が遅延することが明らかとなった。また、低温細菌数が保存0日目で有意に減少していたことから、PAAへの浸漬殺菌は、現行法で殺菌しきれない低温細菌をより多く殺菌する可能性が示唆された。本研究では、PAAを食鳥処理場で活用することにより、冷蔵保存における鶏肉の可食期間延長の可能性が示唆された。

(4) 第6回獣医微生物学フォーラム(令和5年3月4日)

日本語：ウシ主要組織適合遺伝子複合体による乳汁を介した牛伝染性リンパ腫ウイルスの伝播リスクの制御

英語：Effect of bovine major histocompatibility complex (BoLA)-DRB3 polymorphism on transmission risk of bovine leukemia virus in milk

著者：○中土亜由美 1.2)、綿貫園子 1)、Bao Aronggaowa 1)、陸拾七 3)、Lanlan Bai 3)、佐藤洋隆 3)、小原潤子 4)、松本安喜 1)、竹嶋伸之輔 5)、間陽子 1.3)

- 1) 東京大学院 農・地球規模感染症制御学講座
- 2) JA全農 家畜衛生研究所
- 3) 理研分子ウイルス学特別研究ユニット
- 4) 北海道立総合研究機構畜産試験場
- 5) 十文字学園女子大学食物栄養学科

【目的】

牛主要組織適合抗原(BoLA)-DRB3 を解析することで、牛伝染性リンパ腫ウイルス(BLV)に対する感受性牛(S牛)と抵抗性牛(R牛)を識別可能になり、R牛とS牛の識別を活用した清浄化対策が注目されている。これまで、S牛は水平感染および胎内感染リスクが高く、R牛は低いことが明らかとなっているが、乳汁を介した垂直感染リスクについては明らかとなっていない。そこで、本研究ではBoLA-DRB3が乳汁中のプロウイルス量(PVL)、抗BLV抗体量および感染性に及ぼす影響を明らかにし、BoLA-DRB3を活用したBLV垂直感染制御法の確立に資することを目的とした。

【材料と方法】

BLV感染ホルスタイン雌牛263頭から血液および乳汁を採取し、それぞれからDNAを抽出後、BoLA-DRB3タイピング法によりアレルを同定し感受性、抵抗性の型別を行った。さらに、BLV-CoCoMo-qPCR法によりPVLの定量を行った。血清と乳清中の抗BLV抗体量はELISA法で、乳汁細胞の感染性はTax応答性レポーター細胞を用いた蛍光発光シンシチウム法(LuSIA)で評価した。

【結果・考察】

S牛、R牛およびその他牛はそれぞれ130頭(49%)、50頭(19%)および83頭(32%)であった。BLV感染牛の乳汁中のプロウイルス検出率およびPVLは共に、S牛はR牛と比較し有意に高かった。乳汁中のプロウイルスを3年間の経時的解析を行った結果、S牛の検出率はR牛のそれよりも有意に高かった。また、乳清中の抗BLV抗体量もS牛がR牛より有意に高かった。さらにLuSIAの結果、感染性が認められたのはS牛で5/9頭(56%)、R牛で0/7頭(0%)であった。本研究において、BoLA-DRB3がBLV感染牛の乳汁中のPVL、抗BLV抗体量および感染性に影響することを初めて明らかにした。本研究結果から、乳汁を介した垂直感染リスクをBoLA-DRB3に基づき制御することが可能であり、BLV清浄化対策に活用できることが期待される。

(5) PRRSV 実験感染豚における口腔液を用いた qPCR および抗体検査法の評価

相馬 順一、中西 誠 (研究開発室)

令和4年度千葉県獣医師会獣医学術年次大会(令和5年3月12日)

【はじめに】

家畜感染症への対応は、検査により農場に浸潤している病原体を特定することから始まる。養豚場におけるPRRS浸潤状況調査として用いる検体としては血清が一般的であるが、採血は飼育豚群から一部の個体を抽出して採取した検体となること、保定等含め豚へのストレスを伴うことが課題である。ロープによる口腔液の採取は採材方法が簡便であり、多くの個体から採取が可能であることから近年養豚場でのPRRS浸潤状況調査としての検討が報告されている。今回、PRRS実験感染試験を行った豚からロープにより口腔液を採取、qPCRによる病原体遺伝子の検出・定量、ELISAによる抗体検査を行い、検査方法としての評価を行った。

【材料と方法】

SPF豚4頭を1つのケージで群飼育し、7週齢時にPRRSVを鼻腔内に噴霧し感染させた。

感染後 8 週間、採血およびロープを用いた口腔液の採取を行った。血液は血清分離し、個体別に検査を行った。ロープを用いた口腔液採取はケージにロープを 4 本、20-30 分設置し、ビニール袋をかぶせて搾り取った。血清および口腔液を用いて qPCR によるウイルス遺伝子の検出・定量、ELISA による抗体検査を行った。口腔液の ELISA では検体を希釈せず 4°C 一晚抗原に感作した。また、口腔液採取後の冷蔵時間による保存安定性を評価するため、口腔液を 4°C で 1, 4, 7 日間保管後 qPCR、ELISA を実施し採材当日の検査結果と比較を行った。

【成績】

qPCR による血清中の PRRSV 遺伝子検出は感染後 1, 2 週においては全頭陽性、3 週においては 3 頭、4 週においては 1 頭で陽性であり、以降は全頭陰性であった。陽性個体の平均ウイルス遺伝子量は、感染後 1 週の 6.25 log copies / mL をピークに漸減した。qPCR による口腔液中の PRRSV 遺伝子検出は感染後 1 週では 4 本すべてで陽性、感染後 2 週では 3 本で陽性、以後陰性であった。感染後 1 週における口腔液中ウイルス遺伝子量の平均は 4.16 log copies / mL であり、血清中のウイルス遺伝子量の 100 分の 1 程度であった。血清中の PRRS に対する ELISA 抗体価は、感染後 1 週で全頭陽性となり、平均 S/P 比は 0.93 であった。感染後 2 週から 8 週まで全頭陽性を維持し、平均 S/P 比は 2.5-2.8 を推移した。口腔液中の PRRS に対する ELISA 抗体価は、感染後 1 週においては採取した 4 本すべてで陽性となり、平均 S/P 比は 1.38 であった、感染後 2 週から 8 週までも同様に 4 本すべてで陽性となり S/P 比は 0.67-1.76 とばらつきが認められた。感染後 8 週までの口腔液検体を 4°C で 7 日間保管した結果、qPCR ではいずれの検体も 7 日間保管後まで 4.20-4.33 log copies/ml 検出され、採材当日と同程度を維持した。採材当日の ELISA 抗体価を 100% とし、平均 S/P 比を比較すると保管後 1, 4, 7 日目はそれぞれ 90.1%、92.9%、85.7% であり、期間中に採取した 32 本中 30 本 (93.8%) は保存期間を通じて抗体陽性であった。

【考察】

今回は、高度に環境を清浄にコントロールしている実験感染豚において PRRS の浸潤状況調査に用いる検査材料として口腔液を用いた qPCR および抗体検査法を検討した。口腔液中の PRRSV 遺伝子量は、血中ウイルス遺伝子量に比べ 100 分の 1 程度であるものの、感染から 2 週間は高率に検出が可能であること、口腔液中の PRRS 抗体価は血清と同時期に陽転することから、頻回に検査を行うことで PRRS 浸潤状況をモニタリングできることが示唆された。また、口腔液の 4°C 保管は 7 日程度であれば qPCR、ELISA いずれも使用可能であるが、採取後迅速に検査を行うことが望ましいことが明らかになった。

(6) *Mycoplasma bovis* におけるフルオロキノロンの薬剤感受性と耐性遺伝子の推移について

高橋直之 (研究開発室)

第 96 回日本細菌学会総会 (令和 4 年 3 月 13 日)

【目的】

Mycoplasma bovis (*M. bovis*) は、気管支肺炎や乳房炎などの原因菌であり、多くの経

済的損失をもたらしている。*M. bovis* の対策には、早期診断と抗菌薬治療が主である。フルオロキノロン (FQ) は *M. bovis* に対して有効な薬剤の一つであるが、使用量が増えていることから耐性化が懸念されている。そこで、FQに対する薬剤感受性および耐性遺伝子について経時的な変化を調べた。

【材料】

2008年から2016年に日本国内で分離された *M. bovis* 127株について、フルオロキノロン (FQ) を用いた抗菌薬感受性の試験を実施した。抗菌薬感受性は微量液体希釈法で最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。また、*gyrA*と*parC*のキノロン耐性領域 (QRDR) は、Miseqを用いた全ゲノム配列解析により、アミノ酸変異の有無を確認した。

【結果】

FQのMIC50には変化が認められなかったが、MIC90は2015年を境に2 μ g/mLから32 μ g/mLに上昇していた。このことから、MICが高い菌株が出現しはじめFQに対して耐性化が進行していることが示唆された。*gyrA*または*parC*のアミノ酸に変異が認められる菌株の割合は、2015年を境に56.2%から72.4%に増加していた。また、これまでに報告されている変異とは異なるアミノ酸変異を有する株が確認された。これらの結果から、*M. bovis* はFQに対し耐性化が進んでおり、QRDRの変異も多様化していることが確認された。

以上

E T研究所 年次報告

令和4年度 ET 研究所 年次報告

I. ET 研究所の概要 ----- 43

1. はじめに
2. 機構と要員
3. 機構の遍歴
4. 施設の概要等
5. 受精卵移植関連分野の情勢
6. 実施課題
7. 工業所有権出願状況
8. 研究業績
9. おわりに

II. 研 究 要 約 ----- 48

1. 黒毛和種雌牛の採卵性のゲノム育種価予測に関する検討
2. 未経産ホルスタイン牛の AMH 濃度を指標とした採卵性予測
3. 体外受精卵の耐凍性に及ぼす細胞内脂質の影響

I. ET研究所の概要

1. はじめに

私たち ET 研究所職員は、牛受精卵移植関連技術の研究開発の積極的な実施、ならびに、その成果の応用である生産事業部門の確立と本技術の生産者への活用法を種々提言させていただきながら、現在に至っております。

牛受精卵移植関連技術においては、特に体外受精卵技術も向上してきてはおりますが、まだまだ未開の部分が残されており、それらを解決することにより、生産者の方々により広く利用していただける重要な技術に、今後さらに進化していくものと確信しております。また、急速に進展するゲノム評価技術の応用、ならびに、遺伝子関連技術を応用して、畜産・酪農にとって有用な遺伝子の探索も始まっています。

そこで、牛受精卵移植技術を取り巻く現在の情勢と、それを受けた当研究所の研究開発方針ならびに近年実施してきた主たる研究開発課題をここに紹介させていただきます。

2. 機構と要員（令和 5 年 5 月 1 日時点）

上士幌本場	33 名
所長	1 名
管理課	9 名
生産課	20 名
研究開発室	3 名
北日本分場	2 名
東日本分場	5 名
九州分場	6 名
<hr/>	
合計	46 名

3. 機構の遍歴

- (1) 昭和 62 年 飼料畜産中央研究所に受精卵移植研究室を設置
- (2) 平成 11 年 北海道河東郡上士幌町に ET センターを設置
- (3) 平成 13 年 飼料畜産中央研究所から本所生産振興課に移管
- (4) 平成 19 年 茨城県笠間市に ET センター東日本分場を設置
- (5) 平成 21 年 岩手県岩手郡滝沢村に ET センター北日本分場を設置
- (6) 平成 23 年 福岡畜産生産事業所に ET 専門技術員を配属
- (7) 平成 24 年 ET 研究所へ改名
- (8) 平成 28 年 繁殖技術研修制度の取り組み開始
- (9) 平成 30 年 福岡県福岡市に ET 研究所九州分場を設置

4. 施設の概要等

(1) 上士幌本場

ア. 場所 北海道河東郡上士幌町 町営ナイタイ高原牧場敷地内

イ. 敷地面積 約 2.5ha

ウ. 施設

(ア) 管理棟 1 棟

(イ) 供卵牛舎 3 棟

(ウ) 受卵牛舎 1 棟

(エ) 種雄牛舎 1 棟

(オ) 閉鎖系牛舎 1 棟

(カ) 堆肥舎 1 棟

エ. 飼養頭数 令和 5 年 3 月 31 日時点

(ア) 供卵牛 525 頭

(イ) 受卵牛 235 頭 (その他、委託先牧場に 787 頭)

(ウ) 種雄牛 4 頭 (候補牛を含む)

(2) 北日本分場

ア. 場所 岩手県滝沢市

イ. 敷地面積 約 0.6ha

ウ. 施設

(ア) 管理棟 1 棟

(イ) 牛舎 1 棟

(3) 東日本分場

ア. 場所 茨城県笠間市

(4) 九州分場

ア. 場所 福岡県福岡市 福岡畜産生産事業所内

5. 受精卵移植関連分野の情勢

- (1) 令和4年度のET研究所における体内受精卵の供給実績は、32,080個であった。また、受精卵移植実績は本場（場内）と各分場（一般生産者）を合わせて、9,695頭であった。
- (2) 和牛生産基盤の維持・拡大、酪農家の子牛販売による収入源を目的として、黒毛和種受精卵の需要は高い。一方で、求められる受精卵は、血統・価格など多岐にわたる。
- (3) 酪農家において、経産牛の生産寿命が短縮している。その要因に1つとして繁殖成績の低下が挙げられるが、繁殖成績改善対策として受精卵移植が活用されている。特に、夏の暑熱環境下の人工授精受胎率の低下は深刻であるが、受精卵移植を用いることにより、夏場の受胎率の改善が期待される。
- (4) ゲノミック選抜は乳牛で積極的に利用されてきたが、近年は黒毛和種でも普及しており、遺伝子関連育種の研究も行われている。

6. 実施課題

(1) 事業課題

- ア. 牛受精卵は年間30,000個の安定供給を努力目標とする。
- イ. 人材の育成（採卵や受精卵移植の技術向上・生産者対応等）を行なう。
- ウ. 本場・分場ともに、それぞれの地域に求められるET事業を展開する。

(2) 研究課題

研究区分	研究内容	課題数
供卵牛に関する研究	採卵性向上、作業効率、ゲノム育種	10
受卵牛に関する研究	受胎率向上、性判別	4
体外受精卵に関する研究	OPU-IVF、体外受精卵の活用	3

7. 工業所有権出願状況（令和5年3月31日時点）

	出願	公開
件数	7	14

8. 研究業績

(1) 学会発表

- ア. 膣内留置型プロジェステロン製剤を用いた定時 ET プログラムの検討
裕野健、村岡真也、櫻井皓介、大野喜雄
第 53 回道東 3 地区家畜人工授精技術研修大会 令和 4 年 8 月 4 日
- イ. 黒毛和種の採卵性形質と体型審査形質における遺伝相関の推定
造田篤、香川梨乃、大野喜雄、浦川真実、大日方墨、小川伸一郎、上本吉伸、佐藤正寛
日本畜産学会 130 回大会 令和 4 年 9 月 14 日～17 日 (東京農業大学)
- ウ. 黒毛和種雌牛の採卵性に関する遺伝的改良
造田篤
第 17 回統計遺伝育種研究会 令和 5 年 2 月 3 日～4 日

(2) 論文投稿

- ア. Genetic relationship between superovulatory response traits and carcass traits in Japanese Black cattle.
Atsushi Zoda, Rino Kagawa, Rui Obinata, Manami Urakawa, Yoshio Oono, Shinichiro Ogawa, Yoshinobu Uemoto, Masahiro Satoh
Animal science journal. 93(1) e13731 2022
- イ. Bayesian estimation of genetic parameters for superovulatory response traits in Japanese Black donor cows using count data models.
Shinichiro Ogawa, Atsushi Zoda, Rino Kagawa, Rui Obinata, Manami Urakawa, Yoshio Oono
Theriogenology. 190 38-45 2022
- ウ. Comparing Methods to Select Candidates for Re-Genotyping to Impute Higher-Density Genotype Data in a Japanese Black Cattle Population: A Case Study.
Shinichiro Ogawa, Atsushi Zoda, Rino Kagawa, Rui Obinata
Animals. 13(4)2023
- エ. ブタ、肉牛におけるゲノミック選抜の実践, 造田篤、廣瀬健右, 水産育種研究会報, 52 2023

(3) 畜産関連雑誌等への投稿

ア. エストラジオールとプロジェステロンを組み合わせた定時人工授精～原理と注意点について～

裕野健

家畜人工授精, Vol. 314 : 29-35, 2022

イ. 排卵同期化プログラムの受精卵移植への応用

裕野健

家畜人工授精, Vol. 314 : 51-54, 2022

9. おわりに

わが国の畜産・酪農の発展、また、生産者の経営安定に寄与するために、当研究所職員一同、生産事業ならびに研究開発に、更に努力してまいります。今後も関係機関の御指導・御支援を、よろしくお願い申し上げます。

II. 研究要約

1. 黒毛和種雌牛の採卵性のゲノム育種価予測に関する検討

担当：造田篤・香川梨乃・塚原隼人・大野喜雄・浦川真実・大日方塁

本研究では、①採卵性形質の遺伝的パラメーターの推定、②採卵性形質の選抜が枝肉形質に与える影響、③採卵性形質のゲノミック選抜に関する検討を行い、黒毛和種の採卵性に関する遺伝的能力評価法の確立および採卵性の遺伝的改良の可能性を検討した。

まず、採卵性形質の遺伝的パラメーターの推定を行ったところ、一般的な繁殖形質よりも高い中程度の遺伝率が推定された。記録のばらつき大きさも考慮すると採卵性形質は遺伝的改良が可能な形質であると考えられた。また、枝肉形質との遺伝的関連性を推定し、採卵性形質とほぼ遺伝的関連性がないことを明らかにした。さらにゲノム情報を加えた分析により、記録の収集の少ない若齢個体で特にゲノミック評価の利点が大きいことを明らかにした。本研究から、採卵性形質はゲノム育種価を利用することで効率的に改良ができ、その選抜は枝肉形質にも悪影響を与えないことが明らかとなった。

2. 未経産ホルスタイン牛の AMH 濃度を指標とした採卵性予測

担当：造田篤・塚原隼人・三浦遥香・櫻井皓介・村岡真也・大野喜雄・大日方塁

アンチミュラー管ホルモン (AMH) は、発育過程にある卵胞から分泌されるホルモンで卵巣の予備能の指標として用いられており、血漿中 AMH 濃度が高い個体は過剰排卵処置への反応性が高いことが知られており、採卵性予測のマーカーとしての使用が考えられる。本研究では AMH 濃度を選抜指標としたドナー選抜の効果を検証した。

AMH 濃度、体型、生殖器を基準に選抜したホルスタインドナーの採卵成績を昨年度の同時期の採卵成績と比較したところ、総回収卵数で平均 6.4 個、高品質胚数について約 4.0 個の採卵成績の向上が認められた (いずれも p 値 <0.01)。本研究より、生殖器、体型および AMH 濃度を考慮してホルスタイン採卵牛を選抜することで、採卵成績が向上することが明らかとなった。また、寒さの厳しい季節の採卵をさけることで、さらに採卵成績が向上する可能性がある。

3. 体外受精卵の耐凍性に及ぼす細胞内脂質の影響

担当：塚原隼人・造田篤・大日方塁

ウシの体外受精卵移植は広く用いられている技術であるが、体内受精卵に比べて耐凍性が低く凍結卵の受胎率は低い。体外受精卵の耐凍性を向上させることができれば受胎率も向上させることができるため、体外受精卵をより有効に利用することができる。本研究では体外受精で用いる無血清培地に脂質合成阻害剤を添加し、凍結融解後の受精卵の状態について調査した。

卵管合成培地 (mSOF) に脂質合成阻害剤 (A922500) を 10 μ M 添加し体外培養を行うことで、体外受精卵の胚盤胞期において総細胞数が増加した。また、凍結融解後の胚盤胞期胚においてミトコンドリアの呼吸活性が上昇していた。本研究より、無血清培地に脂質合成阻害剤を添加することにより、体外受精卵の胚の品質が向上する可能性が示された。

全農畜産生産部研究所年報

令和5年12月発行

発行者 **全国農業協同組合連合会（JA全農） 畜産生産部**

〒100-6832
東京都千代田区大手町 1-3-1
電話 (03) 6271-8236

飼料畜産中央研究所

〒300-4204
茨城県つくば市作谷 1708-2
電話 (029) 869-0171

家畜衛生研究所

〒285-0043
千葉県佐倉市大蛇町 7
電話 (043) 486-1011

E T研究所

〒080-1407
北海道河東郡上士幌町字上音更西 6 線 331-11
電話 (01564) 2-5811