平成２７年度　成績概要書

研究課題コード：3101－214651（経常研究）

１．研究課題名と成果の要点

１）研究成果名：採卵成績予測による黒毛和種受精卵ドナー牛選定技術
（**予算課題名**：牛の過剰排卵処理における採卵成績予測技術の開発）

２）キーワード：過剰排卵処理、AMH（抗ミューラー管ホルモン）、GRIA1（AMPA 型グルタミン酸受容体）

３）成果の要約：黒毛和種受精卵ドナー牛を血中 AMH 濃度水準で 3 区分し、高濃度区分の牛を用いることにより採卵成績の向上が可能である。GRIA1 遺伝子型頻度は黒毛和種の系統により異なっており、系統内でのドナー牛の選定に活用できる。さらに、両者を組み合わせることにより、全きょうだい内でのドナー牛の選定に活用できる。

２．研究機関名

１）担当機関・部・グループ・担当者名：畜試基盤研究部生物工学 G 研究主幹　森安悟、家畜研究部肉牛 G

２）共同研究機関（協力機関）：（家畜改良センター十勝牧場、北海道農業公社十勝育成牧場、帯広市農業振興公社）

３．研究期間：平成 25～27 年度　（2013～2015 年度）

４．研究概要

１）研究の背景

育種改良における受精卵移植の効果は大きく、北海道黒毛和牛産地高度化促進事業では、受精卵移植が繁殖雌牛の能力向上のための重要な技術となっている。しかし、ドナー牛の過剰排卵処理における採卵成績は個体差が大きく、安定して受精卵を生産できない問題がある。これらのことから、過剰排卵処理による採卵成績を予測して受精卵の生産性の高いドナー牛を選定する方法の開発が望まれている。

２）研究の目的

ドナー牛の血中ホルモン濃度および遺伝的多型を利用し、採卵成績を予測するための技術を開発する。

５．研究の内容

１）血中 AMH 濃度によるドナー牛選定技術

・**ねらい**：採卵成績予測のための血中 AMH 濃度（AMH 濃度）の判定基準（AMH レベル）を設定し、農場で利用可能な AMH 測定手法を示す。採卵成績を出生後早期に予測するために、黒毛和種育成牛の成長に伴う AMH 濃度の変化を明らかにする。

・**試験項目等**：A～D 農場のドナー牛 223 頭の血中 AMH 濃度、うち 122 頭の延べ 295 回の採卵成績、A、C および D 農場の育成牛 20 頭の 2 から 13 ヶ月齢までの血中 AMH 濃度、「かんたん遠心機」による血漿分離と臨床検査センターを利用した場合の血中 AMH 濃度測定精度

２）遺伝的多型によるドナー牛選定技術

・**ねらい**：黒毛和種牛における GRIA1 遺伝子型（GRIA1 型）と系統および採卵成績との関係を解析し、GRIA1 型単独または AMH 濃度との組み合わせによるドナー牛選定技術を示す。

・**試験項目等**：A～D 農場のドナー牛 158 頭の GRIA1 型、延べ 1008 回の採卵成績、父の系統（気高、藤良、田尻）別の GRIA1 型割合

３）ドナー牛選定技術の活用事例

・**ねらい**：AMH レベルと GRIA1 型によるドナー牛の選定を実施し、有用性を確認する。

・**試験項目等**：D 農場における同母由来の雌牛 9 頭の AMH レベルおよび GRIA1 型とドナー牛の選定結果

６．成果概要

１）ドナー牛の AMH 濃度を第一四分位（0.118 ng/ml）および第三四分位（0.488 ng/ml）を基準に L、M、H の 3 段階の AMH レベルに分類した結果、回収卵数、受精卵数および正常卵数は AMH レベルが高いほど有意に多かった（表 1）。育成牛の AMH 濃度は成長に伴う変動が大きく、値の安定する 10 ヶ月齢以降に測定すべきであると考えられた。「かんたん遠心機」による血漿分離は AMH 濃度測定結果に影響せず、臨床検査センターを利用して AMH 濃度の測定が可能であった。これらから、農場で採取した血液から AMH 濃度を測定し、採卵成績の予測が可能であることが示された。

２）GRIA1 型ごとの平均回収卵数、受精卵数、正常卵数はいずれも GG 型が AG 型に比べ有意に多かった（表 2）。気高系は GG 型が 56%と多く、AA 型は 3%と少なかった。藤良系は GG 型が 54%、AA 型 13%であり、田尻系は GG 型が 16%、AA 型が 15%であった（図 1）。これらから、田尻系および藤良系は、GG 型をドナー牛として選定することにより、採卵成績の向上が期待できると考えられた。さらに AMH レベルと GRIA1 型を組み合わせることによって、採卵成績の予測精度が向上すると考えられた。

３）父母が同じである全きょうだいであっても AMH レベルや GRIA1 型に違いが認められ、全きょうだい内からドナー牛を選定する際の指標のひとつとして活用可能だった（表 3）。

以上の成果をもとに、生産現場において AMH 濃度と GRIA1 型を指標に受精卵の生産性の高いドナー牛を選定するためのマニュアルを作成した。

＜具体的データ＞

表１　血中 AMH 濃度レベル別の採卵成績

AMH レベル	農場	頭数	採卵回数	採卵月齢 ±SD	採血採卵間隔（日） ±SD	回収卵数 ±SD	受精卵数 ±SD	正常卵数 ±SD
L	**全農場**	**25**	**71**	**81 ±44**	**41 ±46**	**9.3 ±6.7 a**	**7.6 ±6.5 a**	**5.9 ±5.6 a**
	A	19	59	91 ±42	32 ±39	8.1 ±5.7 a	6.4 ±5.4 a	5.1 ±5.1 a
	B	4	10	38 ±7 a	89 ±52	16.3 ±8.4 ab	14.6 ±8.1 ab	10.8 ±6.1
	D	2	2	14	69	7.0	7.0	4.0
M	**全農場**	**66**	**148**	**67 ±34**	**53 ±50**	**15.6 ±10.6 b**	**12.5 ±9.0 b**	**9.0 ±7.0 b**
	A	25	69	86 ±38	23 ±22	13.0 ±8.3 b	10.5 ±7.1 b	8.5 ±6.4 b
	B	32	70	54 ±13 b	85 ±53	19.0 ±11.9 a	15.2 ±10.0 a	10.1 ±7.4
	C	3	3	38 ±8	34 ±4	7.0 ±4.1 a	2.7 ±1.7 a	2.0 ±1.4 a
	D	6	6	15 ±4	32 ±30	10.8 ±6.1	8.3 ±6.7	6.0 ±4.8
H	**全農場**	**31**	**76**	**68 ±26**	**52 ±49**	**24.3 ±14.2 c**	**19.4 ±13.7 c**	**13.2 ±9.9 c**
	A	10	30	84 ±29	20 ±21	21.3 ±14.9 c	17.3 ±14.7 b	12.7 ±11.6 b
	B	17	42	58 ±17 b	77 ±51	26.7 ±13.5 b	21.6 ±13.0 b	13.7 ±8.8
	C	3	3	43 ±12	22 ±8	26.3 ±4.5 b	15.0 ±2.4 b	13.3 ±2.5 b
	D	1	1	69		6.0	5.0	4.0

a, b, c：異文字は全農場または各農場における AMH レベル間の有意差を示す（p<0.05）

表２　GRIA1 型別の採卵成績

GRIA1 型	頭数	採卵回数	回収卵数±SD	受精卵数±SD	正常卵数±SD
AA	14	88	19.3　±11.0 ab	14.9　±9.5 ab	10.6　±8.1 b
AG	78	493	19.7　±12.4 b	15.2　±10.4 b	11.0　±7.4 b
GG	66	427	22.7　±13.3 a	17.9　±12.0 a	13.0　±9.1 a

a, b：異文字間に有意差あり（p<0.05）

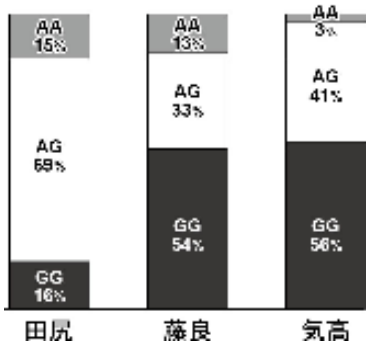

図１　ドナー牛の系統別 GRIA1 型比率

表３　D 農場における採卵成績予測を活用した全きょうだいからのドナー牛の選定事例

血縁関係 1)	牛番号	父	AMH 濃度 2)	AMH レベル	GRIA1 型	選定結果	選定理由等（採卵成績）
全きょうだい 1	1	勝忠平	0.555	H	AG	受胚牛	産子の肥育成績、AMH 濃度、GRIA1 遺伝子型が全きょうだいよりも良好なため（黄体 6 回収 6）。
	2	勝忠平	0.657	H	GG	ドナー	
全きょうだい 2	3	光平照	0.142	M	AG	なし	受胎中のため、今後の参考とする。
	4	光平照	0.208	M	AG	ドナー	体型、AMH 濃度、GRIA1 遺伝子型が全きょうだいよりも良好なため（黄体 6 回収 3）。
	5	光平照	0.059	L	AA	受胚牛	
全きょうだい 3	6	平茂晴	0.492	H	AG	なし	受胎中のため、今後の参考とする。採卵性からみた優先順位 2
	7	平茂晴	0.098	L	AG	受胚牛	産子の肥育成績を見て判断
	8	平茂晴	0.594	H	GG	受胚牛	産子の肥育成績を見て判断。採卵性からみた優先順位 1
	9	平茂晴	0.066	L	GG	受胚牛	産子の肥育成績を見て判断

1) 全きょうだい 1～3 の母は同一牛　2) ng/ml

７．成果の活用策

１）成果の活用面と留意点

（１）受精卵移植を黒毛和種牛群の改良に活用している農場、機関等が、採卵成績向上を目的に受精卵ドナー牛を選定する場合に活用する。

２）残された問題とその対応

８．研究成果の発表等

第 105 回日本繁殖生物学会大会（平成 25 年）、第 107 回日本繁殖生物学会大会（平成 27 年）