

## 令和元年度 成績概要書

課題コード（研究区分）： 5101-514681（一般共同研究）、3101-724691、724601（受託研究（民間））

### 1. 研究課題名と成果の要点

- 1) 研究成果名：黒毛和種受精卵における産肉能力のゲノム選抜技術  
（研究課題名：牛受精卵ゲノム育種実用化に向けた受精卵 SNP 解析技術の開発）
- 2) キーワード：黒毛和種、受精卵、産肉能力、一塩基多型、ゲノム育種価
- 3) 成果の要約：黒毛和種受精卵から約 15 細胞を採取し、全ゲノム増幅を行うことで産肉能力のゲノム育種価を評価できる。ゲノム育種価評価した凍結受精卵の受胎率は約 40%と実用水準にある。本技術の活用により、受精卵段階で高能力個体を選抜でき、効率的な道内黒毛和種種雄牛造成および繁殖雌牛改良が可能となる。

### 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・研究主任 藤井貴志  
畜試・家畜研究部・肉牛 G

- 2) 共同研究機関（協力機関）：（一社）ジェネティクス北海道

### 3. 研究期間：平成 28 年度（2016 年度）、平成 29～30 年度（2017～2018 年度）

### 4. 研究概要

#### 1) 研究の背景

黒毛和種の育種改良では、DNA 上の一塩基多型（SNP<sup>\*1</sup>）を解析し、SNP 情報から各個体の産肉能力の遺伝的能力を直接推定するゲノム育種価<sup>\*2</sup>評価が実用段階にある。現状、ゲノム育種価は、出生後の子牛の段階で算出され、期待育種価に代わる早期能力指標として活用されている。受精卵の段階でゲノム育種価を算出し、受精卵移植により高能力個体を選択的に生産することができれば、より効率的かつ計画的な黒毛和種種雄牛造成および繁殖雌牛改良が可能になる。しかし、黒毛和種では、受精卵由来微量細胞を用いた SNP 解析および産肉能力のゲノム育種価評価の精度は明らかではなく、受精卵ゲノム選抜技術の実用性も検証されていない。

#### 2) 研究の目的

受精卵由来微量細胞を用いた SNP 解析手法を確立するとともに、受精卵ゲノム選抜技術の効率を検証し、黒毛和種受精卵における産肉能力のゲノム選抜技術を開発する。

### 5. 研究内容

#### 1) 受精卵由来微量細胞を用いた SNP 解析手法の確立

- ・ねらい：全ゲノム増幅<sup>\*3</sup>の有無およびバイオブシー<sup>\*4</sup>により採取された細胞（バイオブシー細胞）数が SNP 解析精度に及ぼす影響を解析し、受精卵由来微量細胞を用いた SNP 解析手法を確立する。また、バイオブシー細胞と残りの受精卵を移植して産まれた子牛（同受精卵由来子牛）の産肉能力のゲノム育種価を比較する。
- ・試験項目等：供試卵：授精後 7-8 日目の牛体内受精卵（胚盤胞）、解析項目：バイオブシー細胞（約 15 個または約 5 個）における Call rate<sup>\*5</sup>、バイオブシー細胞と残りの受精卵の SNP 型一致率、バイオブシー細胞と同受精卵由来子牛（4 組）の SNP 型一致率および枝肉 6 形質（枝肉重量、ロース芯面積、脂肪交雑、バラ厚、皮下脂肪厚、推定歩留）のゲノム育種価（G-BLUP 法<sup>\*6</sup>により算出）

#### 2) 黒毛和種受精卵における産肉能力のゲノム選抜技術の効率の検証

- ・ねらい：SNP 解析の成功率、ゲノム育種価評価のためにバイオブシーした後ガラス化法で凍結保存した受精卵（ゲノム評価卵）の移植後の受胎率、父および母が同一の受精卵（全きょうだい受精卵）におけるゲノム育種価のばらつき等を調査し、受精卵ゲノム選抜技術の実用性を明らかにする。また、受精卵ゲノム選抜技術を活用した黒毛和種種雄牛造成および繁殖雌牛改良法を示す。
- ・試験項目等：黒毛和種体内受精卵計 208 個における SNP 解析の成功率（Call rate85%以上を成功と判定）、ゲノム評価卵計 31 個の移植後の受胎率および子牛生産率、バイオブシー細胞とゲノム評価卵を移植して産まれた子牛（ゲノム評価卵由来子牛、13 組）の SNP 型一致率および枝肉 6 形質のゲノム育種価、2 組（A、B）の全きょうだい受精卵（各組 12 個）における枝肉 6 形質のゲノム育種価のばらつき

### 6. 成果概要

1) バイオブシー細胞において、Call rate および残りの受精卵との SNP 型一致率が最も高かったのは、バイオブシー細胞約 15 個で全ゲノム増幅を行った試験区であり、それぞれ  $98.1 \pm 0.3\%$  および  $99.9 \pm 0.02\%$  であった（表 1）。また、バイオブシー細胞（約 15 個・全ゲノム増幅有り）と同受精卵由来子牛の枝肉 6 形質のゲノム育種価はほぼ同等の値であった。以上のことから、バイオブシーにより約 15 個の栄養膜細胞を採取し、全ゲノム増幅を行うことで、精度の高い SNP 解析および産肉能力のゲノム育種価評価ができることを示した。

2)-(1) 黒毛和種体内受精卵計 208 個における SNP 解析の成功率は 88.5% であり、凍結保存したゲノム評価卵の移植後の受胎率および子牛生産率はそれぞれ 41.9%（13/31 頭）および 38.7%（12/31 頭、死産 1 頭）であった。バイオブシー細胞およびゲノム評価卵由来子牛の産肉能力のゲノム育種価は、6 形質全てにおいて概ね一致していた（図 1）。また、全きょうだい受精卵のゲノム育種価にばらつきが認められ、受精卵段階で全きょうだいの産肉能力の遺伝的能力の差異を識別できることを示した（図 2）。以上より、黒毛和種受精卵における産肉能力のゲノム選抜技術の実用性を示した。

2)-(2) 受精卵ゲノム選抜技術を活用して、道内種雄牛造成機関や和牛改良組合等が、種雄牛造成および繁殖雌牛改良を促進する手法を示した（図 3）。優良種雄牛と優良ドナー牛を組み合わせることで採卵し、ゲノム育種価評価と性別判別を行い、高ゲノム育種価の雄卵を選択的に移植することで、種雄候補牛の遺伝的能力を効果的に高めることができる。また、ゲノム育種価上位の雌卵は、次世代の種畜造成用のドナー牛や繁殖雌牛として活用することで、道内繁殖雌牛群の改良や種雄牛造成を促進できる。受精卵ゲノム選抜では、高能力個体を選択的に生産するため、生産子牛頭数を増やすことなく選抜強度を上げることができ、遺伝的改良量を高めることができる。

<具体的データ>

表 1. 全ゲノム増幅の有無およびバイオプシー細胞数が SNP 解析精度に及ぼす影響

試験区	試験条件			Call rate (%)	SNP型一致率 <sup>2)</sup> (%)
	サンプルの種類	細胞数 or 受精卵のステージ	全ゲノム増幅 <sup>1)</sup>		
A	バイオプシー細胞	約15細胞	-	90.5±8.7 <sup>b</sup>	98.7±2.5
	残りの受精卵	胚盤胞～拡張胚盤胞	-	97.4±3.5 <sup>a</sup>	
B	バイオプシー細胞	約15細胞	+	98.1±0.3 <sup>a</sup>	99.9±0.02
	残りの受精卵	胚盤胞～拡張胚盤胞	-	99.5±0.3 <sup>a</sup>	
C	バイオプシー細胞	約5細胞	+	91.5±2.4 <sup>b</sup>	99.2±0.4
	残りの受精卵	胚盤胞～拡張胚盤胞	-	99.0±0.2 <sup>a</sup>	

<sup>1)</sup>illustra Single Cell Genomphi DNA Amplification kit (GEヘルスケア)

<sup>2)</sup>バイオプシー細胞と残りの受精卵の両方で SNP 型判定結果が得られた SNP の一致率  
各試験区に供試した受精卵：5個 異文字間に有意差あり (P < 0.05)

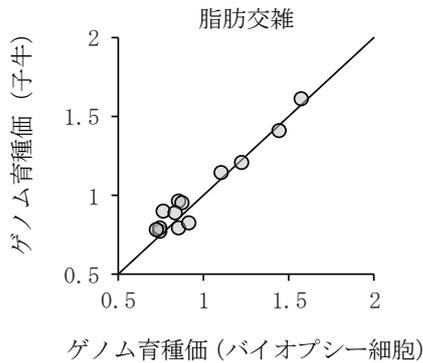


図 1. バイオプシー細胞とゲノム評価卵由来子牛の脂肪交雑のゲノム育種価の比較 (n=13)

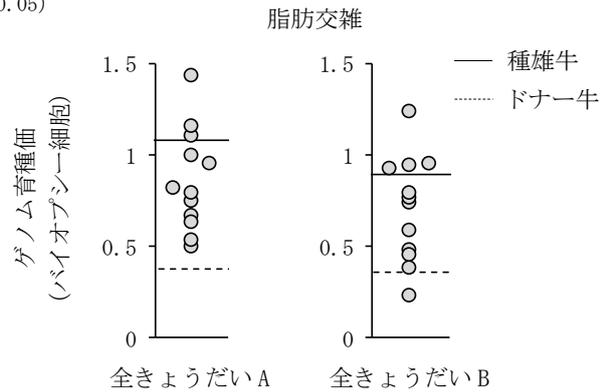


図 2. 全きょうだい受精卵における脂肪交雑のゲノム育種価のばらつき Call rate85%以上のみ解析 (n=12)

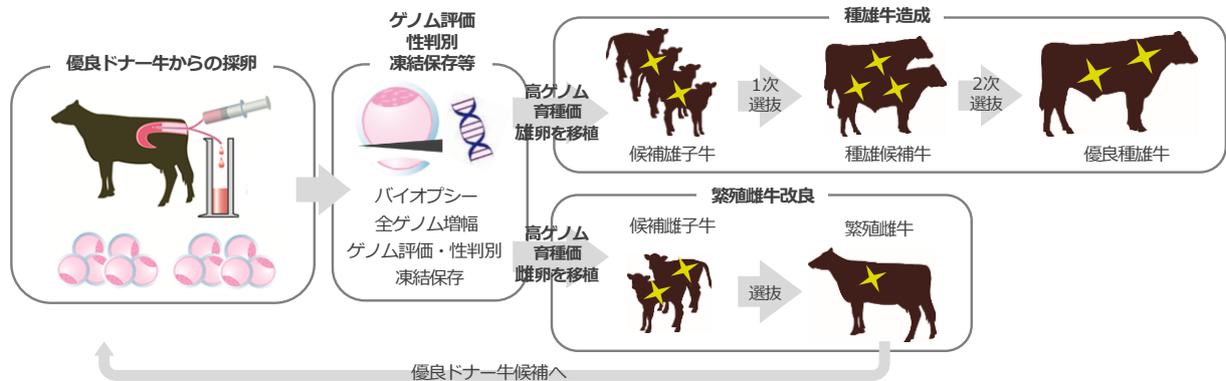


図 3. 受精卵ゲノム選抜技術を活用した黒毛和種種雄牛造成および繁殖雌牛改良法

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

- ・道内種雄牛造成機関、および受精卵移植技術を用いて繁殖雌牛改良を行う和牛改良組合等が、黒毛和種の育種改良を促進するために活用する。
- ・本技術の活用には、受精卵から細胞採取するためのマイクロマニピュレーター等の設備と技術を必要とする。
- ・全ゲノム増幅は、1細胞からゲノム DNA の増幅が可能とされる市販のキットを用いて実施した。

2) 残された問題とその対応

なし

8. 研究成果の発表等

- ・Fujii *et al.* (2019) Journal of Reproduction and Development、Vol. 65、No. 3、p251-258

用語解説

<sup>\*1</sup>SNP：DNA上に存在する多型のある一塩基配列。個体差を生み出す要因。<sup>\*2</sup>ゲノム育種価：個体の SNP 情報から算出される育種価。<sup>\*3</sup>全ゲノム増幅：DNA 合成酵素を用いて鋳型となるゲノム DNA からゲノム全体のコピーを多量に生産すること。<sup>\*4</sup>バイオプシー：マイクロブレードを用いて受精卵から一部の栄養膜細胞を切断採取すること。<sup>\*5</sup>Call rate：SNP 解析において SNP 型判定結果が得られた SNP の割合。数値が高いほど SNP 解析の精度（正確性）も高い。<sup>\*6</sup>G-BLUP 法：BLUP 法（推定育種価算出手法）において、血縁関係行列（血統データから構築）を用いる代わりにゲノム関係行列（SNP データから構築）を用いる手法。