

[成果情報]牛の分割胚を用いたゲノム育種価評価法の検討および実証事例

[要約]2細胞期胚を分割し7日間培養したペア胚の一方をDNA材料、もう一方を胚移植に用いる手法により胚のゲノム育種価評価は可能であり、発育不良胚をDNA材料に活用することで分割胚の発生率を補うことが期待できる。

[キーワード] 分割胚、ゲノム育種価評価、発生率

[担当]佐賀県畜産試験場・大家畜部・家畜育種研究担当

[代表連絡先]電話 0954-45-2030

[分類]研究成果情報

[背景・ねらい]

ゲノム育種価評価は、対象牛のDNAを得た時点で実施することが可能である。若齢の雌牛で実施されることが多いが、胚由来DNAを用いることができれば胚移植前にゲノム育種価評価が可能となるため、より効率的な育種改良が期待できる。一方、胚からDNAを得るための手法として、胚盤胞の部分切除による細胞採取が挙げられるが、胚の損傷を抑えながら十分な細胞数を確保する必要があることから高度な技術が求められる。また、ゲノム育種価は、DNAの一塩基多型 (SNP) 情報を基に評価されるが、胚を切除して得た細胞由来のDNAでは、毛根等をDNA材料とした場合と比較し、SNP型の判定率 (判定されたSNP数/解析対象SNP数) が低くなる事例が報告されている。そこで、2細胞期胚を分割して培養することで同じDNAを持つペア胚を作成し、ペア胚の一方をDNA材料に、もう一方を胚移植に用いる手法について検証する。

[成果の内容・特徴]

1. 2細胞期に分割し7日間培養した胚 (発育不良胚含む) からSNP解析に必要なDNA量 (200ng) が得られる (表1)。
2. 発育不良胚をDNA材料に活用することで、ペア胚の一方のみが良好に発育した場合でもゲノム育種価評価と胚移植を実施できる。
3. 分割胚由来DNAのSNP解析において、ゲノム育種価評価可能な基準とする0.95以上のSNP型判定率を得ることが可能である (表2)。
4. SNP型判定率がともに0.95以上であったペア胚の標準化ゲノム育種価 (枝肉重量、ロース芯面積、バラ厚、皮下脂肪厚、推定歩留および脂肪交雑) には、非常に強い相関がある (表3)。
5. 分割胚移植により得た産子とそのペア胚のSNP解析において、ともに0.95以上のSNP型判定率を得る事は可能である (表4)。

[成果の活用面・留意点]

1. 本研究では、当场におけるこれまでの実験結果から、胚盤胞まで発育した胚であっても長径110 μ m未満の場合は発育不良胚と判定した。当基準は暫定的なものであり、更なる検討を要する。
2. 胚移植前にゲノム育種価評価をするためには、ガラス化等による移植胚の保存が必要である。

[具体的データ]

表1 胚由来DNA量と供試胚の長径 (n=61)

	最小	最大	平均
胚由来DNA量 (ng)	726.6	15819.0	5042.9
胚長径 (μ m)	74.0	215.0	136.9

注1) 胚の分割は、アクチナーゼ処理により透明帯を除去した後ピペット操作により行った。

注2) 分割胚は、分割後7日間培養した。

注3) 分割胚からは、市販の全ゲノム増幅キットを用いてDNAを得た。

注4) 胚由来DNAは、フェノール・クロロホルム抽出処理後、30 μ lのTE溶液に溶解した。

表 2 分割胚由来 DNA の SNP 解析結果

供試分割胚数	平均SNP型判定率	SNP型判定率0.95以上の割合
52	0.94	78.8%

表 3 判定率 0.95 以上のペア胚の標準化ゲノム育種価*の相関係数

	枝肉重量	ロース芯面積	バラ厚	皮下脂肪厚	推定歩留	脂肪交雑
相関係数 (n=12)	0.99	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00

※各検体のゲノム育種価を訓練群の標準偏差で除した値

注) ゲノム育種価評価は、和牛ゲノミック評価コンソーシアムの訓練群を用いた G-BLUP 法により行った。

表 4 分割胚移植および産子とペア胚の SNP 解析結果の一例

分割胚移植数	受胎数 (産子数)	SNP型判定率		産子とペア胚の SNP型一致率 (n=1)
		産子 (n=1)	ペア胚 (n=1)	
3	1	1.00	0.99	100.0%

※判定できた SNP 型の一致率

注) 産子の SNP 解析は、毛根から抽出した DNA を用いて行った。

(松田浩典)

[その他]

予算区分：県単 (DNA 解析は JRA 事業の補助を受けて実施)

研究期間：2019～2023 年度

研究担当者：松田浩典、宮原雅明 (佐賀県畜産課)、片渕直人、一関可純 (家畜改良センター)、吉成加奈子 (畜産技術協会)、内山勝雄 (家畜改良センター)、笹子奈々恵 (家畜改良センター)、竹田将悠規 (家畜改良センター)、小島孝敏 (家畜改良センター)

発表論文等：

- 1) 松田ら (2024)、令和 6 年度獣医学術九州地区学会講演要旨、41