

【注意】発行当時の原稿をそのまま掲載しております。農薬について記載のある場合は、最新の農薬登録内容を確認し、それに基づいて農薬を使用してください。また、成果情報によっては、その後変更・廃止されたものがありますのでご注意ください。

[成果情報名] 多項目遺伝子診断胚からの子牛生産

[要 約] 培養増殖したウシ胚由来栄養膜細胞を用いることにより、胚の段階で 10 項目の遺伝子診断を実施することが可能である。また、胚移植により受胎し、遺伝子診断結果どおりの正常な産子を得ることができる。

[部 署] 山形県農業総合研究センター 畜産試験場・家畜改良科

[連 絡 先] TEL 0233-23-8819

[成 果 区 分] 普

[キーワード] ウシ胚、栄養膜細胞、培養増殖、多項目遺伝子診断、胚移植

[背景・ねらい]

胚の段階での高精度な多項目の遺伝子診断やマーカー解析を可能にするため、ウシ胚からバイオブシーした栄養膜細胞の培養方法を確立した。そこで、本技術を用いた多項目遺伝子診断を実証するため、生体胚からバイオブシーして培養増殖させた栄養膜細胞を用いて 10 項目の遺伝子診断を行い、遺伝子診断済み胚からの子牛の生産を試みる。

[成果の内容・特徴]

- 1 . バイオブシー栄養膜細胞は 14 日間培養すると約 19600 個に増殖し (表 1)、PCR 解析用バッファー (表 2) で抽出した DNA サンプルを用いることにより、胚の段階で 10 項目 (性、B3、F13、CL16、CHS、MCSU、MSHR、SCD、BLAD、CVM) の遺伝子を判定することが可能である (表 3)。
- 2 . 10 項目の遺伝子診断を実施したバイオブシー凍結胚を移植することにより、診断結果どおりの正常な産子が得られる。(表 3、図 1)。

[成果の活用面・留意点]

- 1 . 性判別は Loopamp 牛胚性判別キットにより実施し、その他 9 項目の診断は (社) 家畜改良事業団家畜改良技術研究所に依頼した。
- 2 . 今後、新たな遺伝子診断やマーカー解析が可能になれば、さらに診断項目数を増やすことができる。
- 3 . 診断する遺伝子やマーカーにより検出感度が異なるため、診断項目数や種類に応じて十分量の細胞数に達するまで栄養膜細胞の培養期間を調整する。

【注意】発行当時の原稿をそのまま掲載しております。農薬について記載のある場合は、最新の農薬登録内容を確認し、それに基づいて農薬を使用してください。また、成果情報によっては、その後変更・廃止されたものがありますのでご注意ください。

[具体的データ]

表1 ウシ生体胚由来バイオブシー栄養膜細胞の培養における生存数および推定細胞数

n	バイオブシー直後			培養7日後			培養14日後		
	推定細胞数	生存数	推定細胞数	生存数	推定細胞数	生存数	推定細胞数		
	平均	(%)	平均 最小 最大	(%)	平均 最小 最大				
38	39	28 (73.7)	1977 509 5636	27 (71.1)	19612 2612 92100				

注1) ヘルニア法でバイオブシーし、ESM-2+10%FBSで培養した

注2) 推定細胞数は、ヘキスト33342で染色しカウントした単位面積あたりの細胞数と栄養膜細胞の表面積から算出した

表2 PCR解析用バッファの組成

10mM Tris-HCl
50mM KCl
2mM MgCl
0.45% Tween-20
60 μg/ml ProteinaseK

表3 遺伝子診断結果

診断項目	培養栄養膜細胞			子牛の血液		
	No.1	No.2	No.3	No.1	No.2	No.3
性別						
B3 牛バンド3欠損症	正常	正常	正常	正常	正常	正常
F13 牛第13因子欠損症	正常	正常	正常	正常	正常	正常
CL16 牛クロロゲン16欠損症	保因1	保因1	保因1	保因1	保因1	保因1
CHS 牛チェデアック・ヒガン症候群	正常	正常	正常	正常	正常	正常
MCSU 牛モリブデン補酵素欠損症	正常	正常	正常	正常	正常	正常
MSHR (毛色に関する遺伝子型)	E / E	E / E	E / E	E / E	E / E	E / E
SCD (脂肪酸の不飽和化に関する遺伝子型)	HH	HH	HH	HH	HH	HH
BLAD 牛白血球粘着不全症	正常	正常	正常	正常	正常	正常
CVM 牛複合脊椎形成不全症	正常	正常	正常	正常	正常	正常



図1 10項目遺伝子診断済み産子

[その他]

研究課題名：多項目遺伝子診断胚の実用化

予算区分：県単

研究期間：平成17年度(平成15～17年度)

研究担当者：青柳和重、菅和寛