

平成22年 4月 30日現在

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2007～2010
課題番号：19580308
研究課題名（和文） 新世界ウズラ及び旧世界ウズラにおける生殖細胞の移植とその発現
研究課題名（英文） Transfer and expression of germ cells between New and Old World quails
研究代表者
小野 珠乙（ONO TAMAO）
信州大学・農学部・教授
研究者番号：10177264

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 ・ 畜産学・草地学

キーワード：家畜生産システム，家禽繁殖，ニホンウズラ，コリンウズラ，ニワトリ，ヒメウズラ，新世界ウズラ，旧世界ウズラ

1. 研究計画の概要

キジ目ナンベイウズラ科に分類される新世界ウズラであるコリンウズラ (*Colinus virginianus*) とキジ目キジ科に分類される旧世界ウズラであるヒメウズラ (*Coturnix chinensis*) とニホンウズラ (*Coturnix japonica*) を広くライフサイエンスのため及び発生工学研究用の実験動物として開発・確立することを目的とする。実験動物の開発を行う場合、最も重要なことは、その種の全発生過程の解明、繁殖の統御、遺伝的特製の把握、ならびに遺伝的プロファイルの明らかな系統の造成である。本研究では (1) 胚の全発生段階表を作成して、それぞれの動物種の発生段階が基準となっているニワトリ胚発生段階との対比が容易にできるようにする。(2) クローズドコロニーの作出、系統造成をして、広く研究者が使用できるようにする。(3) 胚培養法の開発と確立をして、広く発生工学・遺伝子工学研究に用いることができるようにする。(4) 始原生殖細胞の異属及び異種間移植による発現の追跡を試み、導入細胞の系譜追跡、減数分裂、配偶子形成の分化過程を調べる。(5) 染色体を比較する。

2. 研究の進捗状況

ヒメウズラ、コリンウズラの体外培養系を構築し、孵化に成功した。コリンウズラとニホンウズラのゲノムを識別できる PCR システムを開発した。染色体レベルではニホンウズラとニワトリは構造やその特徴において類似点が多いが、コリンウズラとの間には構造変化が起こっており、染色体を構成する反復配

列も大きく異なっていた。

コリンウズラの雌雄識別のために性特異的 PCR プライマーを用いた雌雄鑑別を実用化した。それぞれのウズラの生物学的類似性、異質性の一部が明らかにされたのでコリンウズラは新規実験動物として有用であることが示唆された。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。ヒメウズラおよびコリンウズラの胚の発生段階はニワトリと比較して対応させた。培養システムは完成させたが更なる効率化が必要である。動物種及び雌雄を特定する PCR システムを構築した。新世界ウズラと旧世界ウズラの染色地構成は相違点が多いという予備的観察結果を得た。

4. 今後の研究の推進方策

新世界ウズラと旧世界ウズラの間で染色体レベルでの違いを観察するとともに、PCR による識別を用いて生殖細胞を移植した際の動態を観察する。

5. 代表的な研究成果 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 20 件)

Usui F, Ono T and Kagami H. (他 4 名, 6 番目) A novel concentrating system of chicken stem cells by bone marrow side population cells. *J Poultry Sci*, 47(1):53-56, 2010, 査読有

- . Mizushima S, Ono T and Shimada K. (他4名, 3番目) Phospholipase C α mRNA expression and its potency during spermatogenesis for activation of quail oocyte as a sperm factor. *Mol Reprod Dev* 76(12):1200-1207, 2010, 査読有
 - . Usui F, Ono T and Kagami H. (他3名, 4番目) Analysis of developmental changes in avian DNA methylation using a novel method for quantifying genome-wide DNA methylation. *J Poult Sci*, 46(4):286-290, 2009, 査読有
 - . Usui F, Ono T and Kagami H. (他2名, 3番目) Novel system for degeneration of blood vessels by UV irradiation and subsequent regeneration using chick bone marrow cells. *Cells Tissues Organs*, 188(5):348-355, 2009, 査読有
 - . Atsumi Y, Kagami H and Ono T. (他3名, 6番目) Depletion of primordial germ cells (PGCs) by X-irradiation to extraembryonic region of chicken embryos and expression of xenotransplanted quail PGCs. *J Poult Sci*, 46(2):136-143, 2009, 査読有
 - . Nakamura Y, Ono T, Kagami H and Tagami T. (他6名, 3番目) Effects of busulfan sustained-release emulsion on depletion and repopulation of primordial germ cells in early chicken embryos. *J Poult Sci*, 46(2):127-135, 2009, 査読有
 - . Fujiwara A, Ono T, Hiramatsu K and Kagami H. Complete regeneration of muscular dystrophy chickens by mating of male and female offspring derived from germline chimeras. *J Poult Sci*, 46(2):123-126, 2009, 査読有
 - . Fujiwara A, Ono T and Kagami H. Regeneration of muscular dystrophy chickens by transplantation of early blastodermal cells into recipient embryos. *J Poult Sci*, 46(1):46-51, 2009, 査読有
 - . Nakamura Y, Ono T, Kagami H and Tagami T. (他6名, 6番目) Increased proportion of donor primordial germ cells in chimeric gonads by sterilisation of recipient embryos using busulfan sustained-release emulsion in chickens. *Reprod, Fert Develop*, 20(8):900-907, 2008, 査読有
 - . Atsumi Y, Tagami T, Kagami H and Ono T. Restriction of germline proliferation by soft x-ray irradiation of chicken embryos and its application to chimera production. *J Poult Sci*, 45(4):292-297, 2008, 査読有
 - . Mizushima S, Ono T and Shimada K. (他4名, 3番目) (2008) Developmental enhancement of intracytoplasmic sperm injection (ICSI)-generated quail embryos by phospholipase C α cRNA. *J Poult Sci*, 45(2):152-158, 2008, 査読有
 - . Koba N, Ono T and Shimada, K. (他5名, 7番目) Effects of aromatase inhibitor (fadrozole)-induced sex-reversal on gonadal differentiation and mRNA expression of P450arom, AMH and ER in embryos and growth in posthatching quail. *J Poult Sci*, 45(2):116-124, 2008, 査読有
 - . Mizushima S, Ono T and Shimada K. (他4名, 3番目) Possible role of calcium on oocyte development after intracytoplasmic sperm injection in quail (*Coturnix japonica*). *J Exp Zool A*, 307A(11):647-653, 2010, 査読有
 - . Nakamura Y, Ono T, Kagami H and Tagami T. (他6名, 5番目) Migration and proliferation of primordial germ cells in the early chicken embryo. *Poultry Sci*, 86(10):2182-2193, 2007, 査読有
 - . Takagi S, Ono T and Shimada K (他4名, 2番目) Fertilization and blastoderm development of quail oocytes after intracytoplasmic injection of chicken sperm bearing a W chromosome. *Poultry Sci*, 86(5):937-943, 2007, 査読有
 - . Yamamoto Y, Ono T and Kagami H. (他6名, 8番目) A novel method to isolate primordial germ cells and its use for the generation of germline chimeras in chicken. *Biol Reprod*, 77(1):115-119, 2007, 査読有
 - . Takagi S, Ono T and Shimada, K. (他4名, 2番目) Z-chromosome specific primers for chicken-quail hybrid blastoderm. *J Poult Sci*, 44(2):209-212., 2007, 査読有
- [学会発表](計40件)
- . Atsumi Y and Ono T. (他6名, 8番目) Restriction of proliferation of primordial germ cells by soft X-ray irradiation in chick embryos. 23rd World Poultry Congress, Brisbane, Australia. 2008年6月29日
- [図書](計2件)
- . 白井文武・小野珠乙・鏡味裕 (2009) ニワトリ初期胚における DNA メチル化状態の変化. DNA 多型 VOL. 17 (日本 DNA 多型学会編), 東洋書店 pp. 216-218.