

自己評価報告書

平成23年 4月25日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008 ~ 2011

課題番号：20380152

研究課題名 (和文) マーカーアシスト選抜と先端生殖技術を利用したデザイナーズ家畜の生産

研究課題名 (英文) Production of gene-designed animals using marker assisted selection and advanced reproductive technologies

研究代表者

吉澤 緑 (YOSHIZAWA MIDORI)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号：60114162

研究分野：動物育種繁殖学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 ・ 応用動物科学

キーワード：ウシ、遺伝子、体外受精、マーカーアシスト、胚移植、OPU

1. 研究計画の概要

本研究では、マーカーアシスト選抜と先端生殖技術を組み合わせて、消費者に受け入れられる需要の高い優良な形質を有し、生産性の高いウシを迅速で効率的に作出する技術の確立を目指す。すなわち、牛においてマーカーアシスト選抜と先端生殖技術を併用して、望む遺伝子を有する卵子、精子を選別・受精させ、既知の遺伝子構成の個体を作成し、さらに着床に関連する遺伝子検索や正常性診断、卵子や胚の凍結保存技術などを組み合わせて、受胎率向上を図る。

本研究により、種々の遺伝子を有するデザイナーズ家畜を効率的に作出・生産する一連の技術を構築することで、今後の家畜育種の新たな展開を示す。

2. 研究の進捗状況

これまで、黒毛和種ウシにおいてマーカー遺伝子として GH、IGF、SCD 遺伝子の多型を解析して、体外受精胚の作出を行っている。また黒毛和種における Tumor protein p53 (TP53) 遺伝子の塩基配列決定を行い、多型を明らかにし報告した。さらに栃木県酪農試験場の乳牛について、BoLA 遺伝子 (BoLA: Bovine leukocyte antigen、乳房炎罹患牛群において DQA1 および DR3 遺伝子において特異的な配列が既報告)、BRCA 1 遺伝子 (Breast cancer1、ヒトにおいて乳癌との関わりが既報告)、AZ-1 遺伝子 (AZ-1: Adrenocortical zonation factor 1、着床関連遺伝子) の解析を進めた。そして、これらの遺伝子の組み合わせによるデザイナーズ子牛の作出を目指し、遺伝子構成既知の雌牛より生体卵子吸引法 (Ovum Pick Up: OPU) により得られた卵子と遺伝子構成既知の精液を用いて体外受精

により胚を作成し、体外培養により作出胚の発生能と遺伝子多型との関連を調べ報告した。さらに、これらの胚の一部を受胎雌ウシへ移植して3頭の妊娠を得ており、2011年7月初旬に出産予定である。これら子牛の誕生後に、その遺伝子を解析し遺伝子多型を判定する。また胚のバイオブシーや凍結を組み合わせ、デザイナー胚の選別・保存を行い、望む遺伝子構成の胚を望む時に得られるよう、さらに技術的な改善、進化を目指す。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

論文の公表や学会発表などの成果報告も順調に行っており、デザイナーズ子牛が7月初旬に生まれる予定である。このデザイナーズ子牛は、遺伝子構成がヘテロの雌ウシの卵子からのものであるので、誕生後に遺伝子分析を行い、遺伝子型を判定する。これら子牛の誕生は本研究目的の達成を大きく前進させるものである。

4. 今後の研究の推進方策

現在、遺伝子をデザインされた胚を移植して3頭の受胎雌が妊娠中であり、7月上旬までには出産予定である。これらの子牛の誕生後には、その末梢血などのサンプルから遺伝子解析を行い、当該子牛があらかじめデザインされた遺伝子の組み合わせのいずれに該当するかを調査、確定する。さらに同様に作出されたウシ胚盤胞において品質評価および正常性診断を染色体検索や内部細胞塊および栄養外胚葉の細胞数計測などにより行う。また内部細胞塊の未分化能の指標となる Oct-4 遺伝子の発現、栄養外胚葉に発現し胎盤など胚体外組織として胎子の着床後発生

をサポートする Cdx2 遺伝子、AZ-1 遺伝子の発現などについてマウスを用いて解析する。これらの解析結果のウシへの応用はデザイナー胚の着床率向上へとつながるものである。また、遺伝子の組み合わせをデザインして体外受精ウシ胚を作成し、作出胚の一部の割球をバイオブシーして核酸キャピラリー電気泳動装置により DNA 分析を行い、求めるデザイナー胚であるとの確定を行う。さらに、胚移植によって目的の遺伝子型を有する個体を生産する際の効率化を図るために、移植適期に雌へ移植できるようにバイオブシーホスト胚を凍結保存し、求める形質の遺伝子構成の子牛を望む時に生産できるというデザイナー家畜生産のゴールを目指す。

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 1 件)

1. Yuzawa T., Fukui E., Matsumoto H., Kawada T., Kawanobe A., Niira K., Ochi M., Yoshizawa M. Tumor protein p53 gene polymorphism and developmental competence of embryos derived from in vitro fertilization in old-aged and long-term-infertile Japanese Black cows. Journal of Mammalian Ova Research 査読有, 28(1) in press, 2011.

[学会発表] (計 5 件)

1. 手塚尚樹、福井えみ子、星一美、新楽和孝、稲葉浩子、川野辺章夫、白井幸路、野澤久夫、湯澤知子、松本浩道、吉澤 緑、「ウシ T I N A G L 1 遺伝子の多型解析」、日本畜産学会 113 回大会、2011 年 3 月 27-30 日、神奈川県 東京農大。

2. 星一美、新楽和孝、稲葉浩子、福井えみ子、川野辺章夫、松本浩道、吉澤 緑、「ホルスタイン種雌ウシにおける BoLA-DQA1 遺伝子型と乳房炎罹患との関係」、日本畜産学会 113 回大会、2011 年 3 月 27-30 日、神奈川県 東京農大。

3. 湯澤知子、福井えみ子、松本浩道、川野辺章夫、新楽和孝、星一美、白井幸路、川田智弘、越知正憲、吉澤 緑、「長期不受胎高齢雌ウシにおける体外受精由来胚盤胞の作出」、第 65 回関東畜産学大会、2010 年 11 月 5 日、神奈川県 海老名市民会館。

4. 湯澤知子、福井えみ子、松本浩道、越知正憲、吉澤 緑、「長期不受胎高齢牛の体外受精成績と Tumor protein p53 (TP53) 遺伝子の関連について」、第 142 回日本生殖医学会関東地方部会、2010 年 6 月 12 日、栃木県 自

治医大。

5. 湯澤知子、福井えみ子、松本浩道、越知正憲、吉澤 緑、「黒毛和種雄牛における Tumor protein p53 (TP53) 遺伝子の塩基配列解析」、第 51 回哺乳動物卵子学会、2010 年 5 月 29-30 日、新潟県 朱鷺メッセ。