

通し番号	3947
------	------

分類番号	14-7B-22-19
------	-------------

(成果情報名) 始原生殖細胞利用によるキメラ鶏作成のための迅速性判別技術	
[要約] ドナーとレシピエントの性を一致させて始原生殖細胞を移植する方法で、キメラ鶏生産効率を向上させる、迅速なDNA抽出及びPCR反応条件の検討を行った。ドナーの胚組織からのDNA抽出はPCRNT buffer-proteinase KをレシピエントのDNA抽出は血液1μlをQIAENのDNA抽出キットDneasy Tissue Kitを用いて行った。PCRの反応液はプライマーを2つ追加して、反応時間を約3時間から約1時間12分と1/3に短縮した。ドナー鶏の性判別は雄152個、雌160個、判別不可153個でレシピエント鶏は雄43個、雌79個であった。性を一致させて移植を行った種卵のふ化率は4.1%と低かったが、窓開けのみの処理でのふ化率も10.3%程度であった。	
(実施機関・部名)	神奈川県畜産研究所 畜産工学部 連絡先 046-238-4056

[背景・ねらい]

直販主体の都市型養鶏では常に新しい商品開発が求められており、新しい・珍しい鶏種の鶏卵も要望されている。しかし、現在の始原生殖細胞の移植方法ではキメラ鶏生産率が低いため効率的な生産技術の開発が必要である。そこで、本試験ではドナーとレシピエントの性を一致させて移植することによってキメラ鶏生産効率向上の検討を行った。

[成果の内容・特徴]

- 1 ドナー(黒烏骨鶏)の胚組織からのDNA抽出はPCRNT buffer-proteinase Kをレシピエント(白レグ)のDNA抽出は血液1μlをQIAENのDNA抽出キットDneasy Tissue Kitを用いた。
- 2 PCRの反応液はプライマーGAP3とGPA5の2つ追加して、反応時間を約3時間から約1時間12分と1/3に短縮した。
- 3 ドナー鶏の性判別は雄152個、雌160個、判別不可153個でレシピエント鶏は雄43個、雌79個であった。
- 4 性を一致させて移植を行った種卵のふ化率は4.1%と低かったが、窓開けのみの処理でのふ化率も10.3%程度であった。

[成果の活用面・留意点]

- 1 凍結保存始原生殖細胞での性一致移植を検討し、生産効率の向上を図る。

[具体的データ]

当 初		改 善 後	
Adw	14.4 μ l	Adw	23.5 μ l
10Xz-taq Buffer	2.0	10Xz-taq Buffer	5.0
dNTP Mixture	1.6	dNTP Mixture	4.0
Primer(USP1)	1.0	Primer 1-a(USP1)	3.0
Primer(USP3)	1.0	Primer 1-b(USP3)	3.0
Z-Taq	0.1	Primer 2-a(GAP3)	3.0
Template DNA	0.5	Primer 2-b(GAP5)	3.0
Total	20.6	Z-Taq	0.5
		Template DNA	5.0
		Total	50.0

図 1 PCR反応液の改善

当 初			改 善 後		
pre-denature	95	3min	pre-denature	94	10s
Denature	95	80s	Denature	94	10s
Annealing	60	90s	Annealing	58	10s
Extend	72	60s	Extend	72	10s
Last Extend	72	9min	incubate	4	
incubate	4	5min			
Total 反応時間 約3時間			Total 反応時間 約1時間12分		

図 2 PCR反応条件の改善

表1 ドナー鶏とレシピエント鶏の性判別の結果

	判別 計			
	不可			
ドナー鶏	152個	160個	153個	465個
レシピエント鶏	43	79	-	121

表2 移植を行った白色レグ種卵の発生状況

n=10	移 植	採血のみ	窓開けのみ
入卵個数	49個	55個	39個
中止卵	47	48	35
発生羽数	2	7	4
	(4.1%)	(12.7%)	(10.3%)
え付け	2羽	--	--

()は入卵個数に対する比率

[資料名] 平成14年度試験研究成績書(繁殖工学・養鶏)

[研究課題名] 銘柄素材鶏作出のための生殖細胞利用技術の検討

[研究期間] 平成13～14年度

[研究者担当名] 岸井誠男・引地宏二