

## 第52巻(2015年)

### 1号(英文誌)

#### 総説

細胞系列の分化転換に伴う細胞形態の変化

Yukiko Nakaya・Guojun Sheng

ニワトリ胚操作

内藤 充

#### 研究報告

##### 飼料・栄養

飼料中サンギナリンがブロイラーの成長成績、臓器重量、盲腸微生物叢、血清コレステロール濃度及び肉品質に及ぼす影響

Kyung-Woo Lee・Ji-Suk Kim・Sung-Taek Oh・Chang-Won Kang・Byoung-Ki An

(研究ノート)

トリプトファン過剰添加飼料を給与したニワトリの血漿中糖化トリプトファン

牧野良輔・川島淑美・梶田有紀・生魚利治・小川 智・村岡宏樹・藤村 忍・喜多一美

(研究ノート)

グルコースの中枢投与はニワトリヒナの脳内アミノ酸代謝に影響を及ぼす

荻野 ユミ・友永 省三・吉田 惇紀・長澤 麻央・古瀬 充宏

(研究ノート)

卵への分岐鎖アミノ酸投与がニワトリの胚成長と孵化時間に及ぼす影響

喜多一美・伊藤 謙・菅原美咲・小林美香・牧野良輔・高橋夏生・中原穂香・高橋孝介  
・西向めぐみ

##### 解剖・生理

単離ストレス条件下におけるニワトリヒナ終脳モノアミン側性に及ぼす敷料の影響

豊後貴嗣・中斉えり子・高脇美南・谷澤 宏・河上眞一

##### 生理・繁殖

(研究ノート)

ニワトリプロラクチン制御エレメント結合タンパク質の同定と胚発生期及び繁殖周期中の下垂体における発現

檜山 源・神作宜男・田中智夫・和久井信・David Zadworny

## 免疫・衛生

サルモネラ菌感染実験条件下の卵用鶏および肉用鶏におけるプロバイオティクス、プレバイオティクスおよびシンバイオティクスの効果

Leticia S. Murate • Fernanda G. Paião • Adriana M. de Almeida • Angelo Berchieri Jr • Massami Shimokomaki

ブロイラーヒナ腺胃におけるトリ  $\beta$ -ディフェンシンの発現と局在に及ぼすプロバイオティクス給与の影響

Elsayed S. I. Mohammed • 五十嵐靖美 • 磯部直樹 • 吉村幸則

(研究ノート)

三種の異なるプロモーターを用いた七面鳥ヘルペスウイルスベクター鳥インフルエンザ(H5亜型)ワクチンの血清学的評価

江崎素之 • ローレン ノーランド • クリスティ M ドーシー • 安田幹司

## 生産物・加工

ブロイラーの電気水槽式と鳥：ムネ肉の肉質におよぼす影響

Cassiana Kissel • Adriana L. Soares • Alexandre Oba • Massami Shimokomaki

## ニワトリ胚操作

内藤 充

農業生物資源研究所，茨城県つくば市観音台 2-1-2 305-8602

ニワトリ胚操作，特に生殖系列操作は，胚の体外培養法や始原生殖細胞操作法などの重要な実験手法の開発により，近年大きな進展を見せている。ニワトリにおける胚形成とその後の胚発生は重力の影響を強く受けている。一方で，始原生殖細胞の移植により生殖系列キメラが作出されているが，始原生殖細胞は胚発生の初期には異性生殖巣において正常な配偶子形成が認められるものが存在すると考えられる。このような始原生殖細胞は，培養下では消失してしまう傾向にある。また，ニワトリ始原生殖細胞の長期培養法が開発され，外来遺伝子の導入や遺伝資源の保存へ応用されている。さらに，異種間生殖系列キメラは希少鳥類の人工増殖に有用となる可能性があり，体細胞由来の個体作出技術は将来的に鳥類生殖系列操作に有用となるであろう。

**キーワード：** 胚発生，遺伝資源，生殖系列キメラ，始原生殖細胞，  
遺伝子導入

## 研究ノート

### トリプトファン過剰添加飼料を給与したニワトリの血漿中糖化トリプトファン

牧野良輔<sup>1</sup>・川島淑美<sup>2</sup>・梶田有紀<sup>2</sup>・生魚利治<sup>3</sup>・小川 智<sup>4</sup>・村岡宏樹<sup>4</sup>・  
藤村 忍<sup>5</sup>・喜多一美<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 岩手大学大学院連合農学研究科, 岩手県盛岡市 020-8550

<sup>2</sup> 岩手大学農学部, 岩手県盛岡市 020-8550

<sup>3</sup> 岩手大学技術部, 岩手県盛岡市 020-0066

<sup>4</sup> 岩手大学工学部, 岩手県盛岡市 020-0066

<sup>5</sup> 新潟大学農学部, 新潟県五十嵐 950-2181

トリプトファンはグルコースと糖化反応を起こし、グルコース-トリプトファンアマドリ化合物と (1R,3S)-1-(D-gluco-1,2,3,4,5-pentahydroxypentyl)-1,2,3,4-tetrahydro- $\beta$ -carboline-3-carboxylic acid (PHP-TH $\beta$ C) という 2 つの糖化トリプトファンを形成する。高血糖と高体温は鳥類の特徴であり、そのためトリプトファンを過剰に添加した飼料をニワトリに与えると、ニワトリ血漿中の糖化トリプトファンの濃度が増加すると推測される。しかしながら、グルコース-トリプトファンアマドリ化合物および PHP-TH $\beta$ C の血漿中濃度はこれまで測定されてこなかった。そこで、ニワトリにトリプトファンを過剰添加した飼料 (1, 2 または 3% 過剰) を 14 または 21 日間与え、高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) を用いて 2 種類の糖化トリプトファンの濃度を測定した。本研究において、我々は血漿中のグルコース-トリプトファンアマドリ化合物および PHP-TH $\beta$ C の検出および定量に成功し、グルコース-トリプトファンアマドリ化合物と PHP-TH $\beta$ C の血漿中濃度がそれぞれ約 1 および 2-4  $\mu$ M であることを明らかにした。さらに、血漿中のトリプトファンと糖化トリプトファン化合物の間には相関関係が認められるとともに、糖化トリプトファン化合物は血漿中トリプトファンのおおよそ 10% 程度を占める。

キーワード：鳥類，アマドリ化合物， $\beta$ -カルボリン，グルコース，糖化，  
トリプトファン

## 研究ノート

### グルコースの中枢投与はニワトリヒナの脳内アミノ酸代謝に影響を及ぼす

荻野ユミ<sup>1</sup>・友永省三<sup>1,2</sup>・吉田惇紀<sup>1</sup>・長澤麻央<sup>1</sup>・古瀬充宏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院, 福岡市東区箱崎 6-10-1 812-8581

<sup>2</sup>京都大学大学院農学研究科, 京都市左京区北白川追分町 606-8502

ニワトリヒナにおけるグルコースの脳室内投与は, 社会的単離ストレス条件下において鎮静効果を誘導しうる。更に, グルコースの脳内投与は受動的回避行動試験における記憶形成の改善に働く。本研究では, ニワトリヒナにおけるグルコースの脳室内投与が, 終脳のアスパラギン酸, アルギニン, グルタミン酸,  $\beta$ -アラニン, グリシンおよびフォスフォセリン含量に影響を及ぼすことを確認したが, これらアミノ酸はニワトリヒナにおいて鎮静効果を有する。更に, グルコースの脳室内投与は終脳のグルタミン酸含量だけでなくその代謝産物であるグルタミン含量にも影響を及ぼしたが, グルタミン酸受容体の1種はニワトリヒナの記憶形成に関与する。以上より, 幾つかのアミノ酸代謝は, ストレス反応の緩和や記憶形成の改善といった脳内グルコースの作用機序に関連する可能性が示唆された。

キーワード: アミノ酸, ニワトリヒナ, グルコース, 記憶形成, ストレス反応,  
終脳

## 研究ノート

### 卵への分岐鎖アミノ酸投与がニワトリの胚成長と孵化時間に及ぼす影響

喜多一美<sup>1,2</sup>・伊藤 謙<sup>1</sup>・菅原美咲<sup>1</sup>・小林美香<sup>1</sup>・牧野良輔<sup>2</sup>・高橋夏生<sup>1</sup>・  
中原穂香<sup>1</sup>・高橋孝介<sup>1</sup>・西向めぐみ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>岩手大学農学部，盛岡市上田 020-8550

<sup>2</sup>岩手大学大学院連合農学研究科，盛岡市上田 020-8550

ニワトリ受精卵への各種分岐鎖アミノ酸（イソロイシン，ロイシン，バリン）投与が胚成長および孵化時間に及ぼす影響を調査した。孵卵開始前に，受精卵に分岐鎖アミノ酸の一つを投与した。投与した分岐鎖アミノ酸の量は，卵に含まれる各アミノ酸の1%とした。孵卵14日目に胚重量を測定した。孵卵21日目に孵化時間を測定し，孵化時の雛の体重を測定した。卵への分岐鎖アミノ酸の投与は，対照区と比較して胚の重量を増加させた。卵へのロイシンまたはバリンを投与は，対照区と比較して孵化時間を短縮させた。全ての処理区の間で孵化時の雛の体重に有意な差は認められなかった。以上より，卵への分岐鎖アミノ酸，特にロイシンまたはバリンの注入は胚の成長速度を加速し，結果として孵化時間を早める可能性が示された。

キーワード：イソロイシン，胚成長，バリン，孵化時間，分岐鎖アミノ酸，  
ロイシン

## 単離ストレス条件下におけるニワトリヒナ終脳モノアミン側性に及ぼす 敷料の影響

豊後貴嗣<sup>1,2</sup>・中斉えり子<sup>1</sup>・高脇美南<sup>1</sup>・谷澤 宏<sup>1</sup>・河上眞一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>広島大学大学院生物圏科学研究科，東広島市 739-8528

<sup>2</sup>広島大学日本鶏資源開発プロジェクト研究センター，東広島市 739-8528

飼育環境を客観的に評価することは、アニマルウェルフェアの観点において重要な課題である。本研究では、ニワトリヒナにおける単離ストレスの影響およびその緩和効果について、終脳モノアミン側性を軸に調査した。単離（15分）後の左右終脳モノアミン濃度、血漿グルコースおよび遊離脂肪酸濃度ならびに鳴き回数および移動距離を調査した。また、緩和効果については、敷料（オガクズ）を用いて調査した。敷料の有無にかかわらず単飼群の終脳セロトニン濃度は、無処理（群飼）群のそれよりも左側で高いことが示された。ドーパミン代謝産物比において、無処理群のそれは敷料のない群よりも終脳右側の方が低値を示したが、敷料群では差は認められなかった。行動については、敷料群ヒナの方が移動距離は有意に長かったが、鳴き回数には敷料の有無は影響しなかった。しかし、敷料群では終脳セロトニン側性と鳴き回数との間に負の相関関係が示された。以上の結果から、終脳のドーパミンあるいはセロトニン神経系の活動側性を調査することでニワトリヒナにおける情動変化の把握の可能性が示されるとともに、敷料設置がヒナのストレスを緩和させる可能性が示された。

**キーワード：**側性，ドーパミン，セロトニン，オガクズ敷料，ニワトリヒナ

研究ノート

## ニワトリプロラクチン制御エレメント結合タンパク質の同定と 胚発生期及び繁殖周期中の下垂体における発現

檜山 源<sup>1</sup>・神作宜男<sup>2</sup>・田中智夫<sup>2</sup>・和久井信<sup>2</sup>・David Zadworny<sup>3</sup>

<sup>1</sup>静岡大学大学院農学研究科，静岡市駿河区大谷 422-8529

<sup>2</sup>麻布大学獣医学部，相模原市中央区淵野辺 252-5201

<sup>3</sup>Depart. of Animal Sci. McGill University, Ste Anne de Bellevue, PQ, H9X 3V9,  
Canada

プロラクチン制御エレメント結合タンパク質 (PREB)はラットプロラクチンプロモーターに結合する転写因子としてサウスウエスタン法によりクローニングされた転写因子である。ほ乳類の PREB は下垂体においては Pit-1 と協調して PRL 遺伝子の発現を誘起する。ニワトリの PREB cDNA 及び遺伝子構造は断片がクローニングされてはいるものの，全長は判明していない。従って，鳥類においてもほ乳類と同様の作用を有しているかどうかは不明である。また，下垂体においてその発現がどのように変化するかは不明である。本研究では胚発生及び異なる繁殖期の下垂体における PREB, PRL, Pit-1 の発現を定量し，関連性の有無を検討した。胚発生期（12日，14日，16日，18日，20日及び孵化1日）および異なる繁殖期（非光刺激期，産卵期及び就巢期）の下垂体を採取し，RNA 抽出後にランダムヘキサマーにより逆転写を行った。ニワトリ PREB cDNA をもとに設計したプライマーを用いて PCR を行った。胚発生期の増幅は 28 サイクル，異なる繁殖期における増幅は 25 サイクルで PREB cDNA 断片を増幅し，内部標準として GAPDH を用いて，LAS4000 により産物の量を定量した。PRL および Pit-1 は胚発生期及び異なる繁殖期ともに 25 サイクルの増幅により検出した。胚発生期の PREB mRNA は 12 日から 16 日までは大きな変化は示さず，18 日に有意な上昇を示し孵化 1 日まで上昇したが，20 日と孵化後 1 日との差は認められなかった。PREB の発現レベルの上昇は PRL の発現上昇より先行することが示された。繁殖周期では非光刺激期がもっとも発現が低く，産卵期に上昇し就巢期でもっとも高い発現を示した。以上の結果より PREB が下垂体における PRL 遺伝子の発現に関与している可能性が高いことが示唆された。

キーワード：下垂体，mRNA，PREB，PRL



## ブロイラーヒナ腺胃におけるトリ $\beta$ -ディフェンシンの発現と 局在に及ぼすプロバイオティクス給与の影響

Elsayed S. I. Mohammed<sup>1</sup>・五十嵐靖美<sup>3</sup>・磯部直樹<sup>1,2</sup>・吉村幸則<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>広島大学大学院生物圏科学研究科，東広島市 739-8528

<sup>2</sup>広島大学畜産研究センター，東広島市 739-8528

<sup>3</sup>東亜薬品工業株式会社，渋谷区笹塚 151-0073

本実験はブロイラーヒナ腺胃におけるトリ  $\beta$ -ディフェンシン (AvBD) の発現とその蛋白質の局在に及ぼすプロバイオティクス給与の影響を明らかにすることを目的とした。ブロイラー雄ヒナを，対照区，プロバイオティクス I 区および同 II 区に分け，それぞれプロバイオティクスを 0，0.2 または 0.4% 添加した飼料を初生時(D0)から 14 日目(D14)まで給与した。D0，D7 および D14 に腺胃を採取し，AvBD の遺伝子発現を解析するとともに，免疫染色による AvBD12 の局在解析を行った。AvBD の遺伝子発現は RT-PCR 法で同定するとともに，プロバイオティクス給与の影響はリアルタイム PCR 法で解析した。AvBD12 の免疫染色はウサギ抗ニワトリ AvBD12 抗体を用いて行い，反応産物の分布密度は顕微鏡画像解析した。14 分子種の AvBD のうち，腺胃では AvBD1，2，4，6，7，10，12 の 7 つの発現が認められた。D7 および D14 の AvBD 発現を解析すると，いずれの AvBD も対照区とプロバイオティクス給与区との間で発現の差を示さなかった。AvBD12 免疫反応産物 (ir-AvBD12) は腺胃の表面上皮と深胃腺結合組織の細胞に検出された。対照区では表面上皮の ir-AvBD12 密度は D0 より D7 で増加し，D14 で D0 程度となった。D7 と D14 では，表面上皮 ir-AvBD12 密度は対照区よりプロバイオティクス I および II 区で低かった。深胃腺の AvBD12 陽性細胞の密度は加齢とともに増加したが，D7 と D14 では対照区とプロバイオティクス I および II 区との間で差を示さなかった。これらの結果から，プロバイオティクス給与は，ヒナ腺胃の AvBD 遺伝子発現には影響しないが，表面上皮の ir-AvBD12 密度を減少させると考えられた。この ir-AvBD12 密度の減少はプロバイオティクスが AvBD12 の分泌を促したことによる可能性が推察され，AvBD12 が分泌されると消化管の微生物感染の抑制に寄与することが考えられる。

キーワード：トリ  $\beta$ -ディフェンシン，ヒナ腺胃，自然免疫，  
プロバイオティクス

研究ノート

### 三種の異なるプロモーターを用いた七面鳥ヘルペスウイルスベクター 鳥インフルエンザ（H5 亜型）ワクチンの血清学的評価

江崎素之<sup>1,2</sup>・ローレン ノーランド<sup>2</sup>・クリスティ M ドーシー<sup>2</sup>・安田幹司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>セバ・ジャパン（株），横浜市鶴見区末広町 230-0045

<sup>2</sup>セバ・バイオミュン，米国カンザス州レネクサ市 66215

七面鳥ヘルペスウイルス（HVT）を含むマレック病ウイルスは，外来抗原遺伝子を発現し，その抗原に対する免疫応答を惹起するニワトリ用ベクターとして利用されている。そのようなベクターワクチンの開発に当たって，プロモーターの選択は，ベクターワクチンの効果に影響を及ぼす重要な要素の一つである。本研究では，HVT ベクターにおける，鳥インフルエンザウイルス H5 亜型のヘマグルチニン遺伝子の発現制御に適したプロモーターを探索するため，三種の異なるプロモーター，①サイトメガロウイルス（CMV）プロモーター，②ニワトリベータアクチン（Bac）プロモーター，③CMV/Bac 融合（Pec）プロモーター，を用いた組換え HVT ベクター鳥インフルエンザ（H5 亜型）ワクチン（HVT/AI）を作製した。これら三種の HVT/AI を初日齢の鶏に接種したところ，CMV プロモーターを持つ組換えワクチンが，Bac プロモーターもしくは Pec プロモーターを持つ組換えワクチンに比べて，有意に高い鳥インフルエンザ赤血球凝集抑制活性を誘導した。また，市販の ELISA キット 2 種を用いて ELISA 抗体価を評価したところ，HVT/AI 接種鶏の血清は陽性反応を示さなかった。従って，これらの HVT/AI ワクチンを用いることにより，ワクチン接種したニワトリと，鳥インフルエンザウイルス野外株に感染したニワトリの区別を容易に行うことができると考えられる。

キーワード：鳥インフルエンザ H5 亜型，DIVA，プロモーター，  
七面鳥ヘルペスウイルス，ベクターワクチン