

第55巻(2018年)

第4号(英文誌)

研究報告

遺伝・育種

ヒメウズラ (*Coturnix chinensis*) の暗褐色羽装突然変異に関する遺伝解析

景山実帆・竹之内 惇・木下圭司・中村隼明・都築政起

栄養・飼料

Effect of Amino Acids on Growth Performance, Carcass Characteristics, Meat Quality, and Carnosine Concentration in Broiler Chickens

Gordana Kralik, Milan Sak-Bosnar, Manuela Grčević and Zlata Kralik

ソバを含むリン欠乏飼料を摂取したブロイラーの成長成績, 骨強度およびリン利用性

ラーキ チョウドリ・神 勝紀

鶏筋管細胞のオートファジーに対するインスリン、インスリン様成長因子-I ならびにアミノ酸の影響

中島一喜・石田藍子

Effects of Sucrose-based High-lysine Diet on Blood Chemistry, Growth Performance, and Gastrointestinal Morphology of Broiler Chickens During the Growing Stage

Ghaid J. Al-Rabadi, Mustafa S. Al-Rawashdeh, Marwan A. Al-Hijazeen and Hasan Y. Al-Omari

(研究ノート)

絶食及び再給餌が肝臓及び脳のインスリン様成長因子結合タンパク質の mRNA 量に及ぼす影響

藤田昇一・山口実華・平本大地・實安隆興・本田和久・上曾山博

(研究ノート)

ソバ飼料を給与したブロイラーにおける消化管各部位の内容物のフィターゼ活性と栄養素の回腸消化率

ラーキ チョウドリ・神 勝紀²

生理

ブロイラー胚とヒナの腸管におけるトリ β -ディフェンシン (AvBDs) と炎症性サイトカインの遺伝子発現および AvBD2 局在の成長に伴う変化

寺田拓実・新居隆浩・磯部直樹・吉村幸則

繁殖

ニワトリ卵胞膜における Toll 様受容体リガンド刺激によるサイトカイン発現の誘導とその過程における NF κ B の役割

康 曄・新居隆浩・磯部直樹・吉村幸則

連続人工授精の実施時刻と実施間隔が受精卵の父性に及ぼす影響

イエン T. ブイ・中村有希・竹之内惇・都築政起・前田照夫

ヒメウズラ (*Coturnix chinensis*) の暗褐色羽装突然変異に関する遺伝解析

景山実帆¹・竹之内 惇¹・木下圭司^{1,2}・中村隼明^{1,3}・都築政起^{1,3}

¹ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市 739-8528

² 現所属 : State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

³ 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

ヒメウズラ (*Coturnix chinensis*) における、暗褐色羽装突然変異 (extended brown: EB) の遺伝様式ならびに本形質発現に係る分子基盤を明らかにした。EB 羽装には、より暗色のもの (extended brown-dark: EB-D) とそうでないもの (extended brown-light: EB-L) が存在した。EB-D と野生型羽装個体 (WT) に基づく交配実験の結果、本突然変異は常染色体性の不完全優性遺伝子によって支配されていると考えられた。本遺伝子に対し、遺伝子記号 *Eb* を提唱する。EB-D および EB-L は、それぞれ本遺伝子に関しホモ接合体およびヘテロ接合体であると考えられた。さらに、DNA-sequencing により EB-D と WT がもつメラノコルチン1受容体 (melanocortin 1-receptor) 遺伝子 (*MC1R*) の比較を行った結果、EB-D は c.274G>A 塩基置換をホモ型でもつことが明らかになった。また、EB-D と WT に基づく交配から得られた F₁、F₂ および検定交配世代において、PCR-RFLP 法を用いて *MC1R* 遺伝子における c.274G>A 置換の有無を調査した結果、全ての EB 個体が本置換を有する一方で、全ての WT 個体はこの置換を有さず、例外は1例も認められなかった。尚、EB-D および EB-L は、本置換をそれぞれホモ型およびヘテロ型で保有していた。以上の結果から、*MC1R* 遺伝子における c.274G>A 塩基置換 (アミノ酸レベルでは、Glu92Lys の非同義置換) が、ヒメウズラの暗褐色羽装発現の原因である可能性が極めて高いと考えられた。

The Journal of Poultry Science 55: 233-238, 2018

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/55/4/55_0180006/_article/-char/en

ソバを含むリン欠乏飼料を摂取したブロイラーの成長成績、骨強度およびリン利用性

ラーキ チョウドリ¹・神 勝紀²

¹信州大学大学院総合工学系研究科 長野県上伊那郡南箕輪村 399-4598,

² 信州大学農学部 長野県上伊那郡南箕輪村 399-4598

ソバ種子はフィターゼ活性を持つことから、本研究ではソバ種子粉砕物 (BU) あるいは発芽ソバ種子粉砕物 (GBU) を添加した非フィチンリン欠乏飼料をブロイラーに給与したときの成長成績、骨強度指標およびリン出納を測定し、ソバ由来フィターゼの効果を評価した。実験飼料は対照飼料 2 種類 (全栄養素要求量を充足した陽性対照飼料 (PC 飼料) および非フィチンリンだけが 1.6g/kg 不足した陰性対照飼料 (NC 飼料)), 実験飼料 6 種類 (BU10% 飼料, BU15% 飼料, BU20% 飼料, GBU10% 飼料, GBU15% 飼料, GBU20% 飼料) とした。実験飼料は NC 飼料の原料のうち主としてメイズを BU あるいは GBU で 10%, 15% および 20% 置換して作成した。これら 8 飼料区にブロイラー雄ヒナ (8 日齢) を 15 羽ずつ割り当てて、8 日齢から 21 日齢までは CP 23.5%, ME 3,200 kcal/kg, 22 日齢から 42 日齢までは CP 20.5%, ME 3,250 kcal/kg に調整した実験飼料を給与して、飼養試験を行った。排泄物は回収してリン出納の測定に用いた。飼養試験終了後に屠殺して、大腿骨と脛骨の強度指標 (骨重量, 破断強度, 灰分とリン含量) を測定した。PC 飼料給与鶏と比較して、NC 飼料給与鶏は成長成績および骨強度 (特に脛骨) 指標において劣っていたが、これら数値は殆どの場合において BU および GBU の添加量増加に伴って用量依存的に回復した。このとき BU 区と GBU 区の対応する数値を比較すると GBU 区の方が高い回復を示した。リン排泄量は NC 区で減少し、BU および GBU 添加量に伴って用量依存的にさらなる減少を示した。一方、リン蓄積量は NC 区で減少し、BU および GBU の添加に伴う P 排泄の減少と反比例的に増加した。以上から、非フィチンリン欠乏によって悪化した各指標の値は BU および GBU の飼料添加によって回復し、この回復効果は BU よりも GBU の方が大きいことが明らかになった。この結果から非フィチンリン欠乏飼料の一部をソバと置換した場合、ソバ、特に発芽ソバはブロイラー飼料の効果的なフィターゼ源として機能することが示唆された。

キーワード: 骨強度, ブロイラー, ソバ, 成長成績, リン利用性

The Journal of Poultry Science 55: 249-256, 2018

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/55/4/55_0170178/_article/-char/en

鶏筋管細胞のオートファジーに対するインスリン、インスリン様成長因子-I ならびにアミノ酸の影響

中島一喜・石田藍子

農研機構 畜産研究部門 茨城県つくば市池の台2 305-0901

オートファジーは、異化的条件下で細胞内タンパク質をバルクに分解するシステムである。哺乳類の骨格筋において、インスリン、インスリン様成長因子 (IGF) -I ならびにアミノ酸がオートファジーを抑制することが知られているが、鶏骨格筋においては十分に検討されていない。本研究では、鶏骨格筋細胞を用いて、インスリン、IGF-I ならびにアミノ酸のオートファジーへの影響を調べた。鶏筋管細胞をインスリン (1 µg/ml)、IGF-I (100 ng/ml) を添加した培地、または、アミノ酸添加培地で3時間培養した。オートファジーの指標として LC3-II 量を測定し、また、オートファジー関連遺伝子 (LC3B、GABARAPL1、ATG12、カテプシン B) の発現量についても測定した。鶏筋管細胞において、培地へのインスリン、IGF-I ならびにアミノ酸添加により LC3-II 量が減少した。LC3B 遺伝子発現は、インスリンならびにアミノ酸添加により減少した。GABARAPL1 遺伝子発現は、インスリン添加で減少した。ATG12 およびカテプシン B 遺伝子発現は、インスリン、IGF-I ならびにアミノ酸添加の影響はなかった。また、ユビキチン-プロテアソーム系の律速酵素であるアトロジン-1 発現は、インスリン、IGF-I ならびにアミノ酸添加により減少した。以上の結果から、鶏骨格筋において、インスリン、IGF-I ならびにアミノ酸は、ユビキチン-プロテアソーム系と同様に、オートファジーを制御している可能性が示唆された。

The Journal of Poultry Science 55: 257-262, 2018

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/55/4/55_0170196/_article/-char/en

絶食及び再給餌が肝臓及び脳のインスリン様成長因子結合タンパク質の mRNA 量に及ぼす影響

藤田昇一¹・山口実華²・平本大地¹・實安隆興¹・本田和久¹・上曾山博¹

¹神戸大学大学院農学研究科 神戸市 657-8501

²神戸大学農学部 神戸市 657-8501

哺乳類においては、インスリン様成長因子 (IGFBPs) の生理的作用に関する多くの研究が報告されている。一方、ニワトリの IGFBPs の生理的役割については未だ明らかにされていない。本研究では、短時間 (6 時間) の絶食及び再給餌が、ニワトリヒナの肝臓と脳の IGFBPs の mRNA 量に及ぼす影響について調べた。18 羽の 8 日齢のニワトリヒナを体重が等しくなるよう 3 群に分け、0 時間絶食、6 時間絶食、或いは 6 時間絶食後 6 時間再給餌条件下で安楽死させた。肝臓と脳を摘出後、脳は 6 部位 (終脳、視葉、小脳、脳幹吻側部、脳幹中部、及び脳幹尾部) に分けた。肝臓の IGFBP-1 及び-2 の mRNA 量は、絶食により有意に増加し、その後の再給餌によって有意に減少した。脳幹中部 IGFBP-3、及び視葉 IGFBP-5 の mRNA 量は 6 時間の絶食と再給餌によって有意に減少した。これらの結果は、肝臓 IGFBP-1 及び-2、脳幹中部 IGFBP-3、及び視葉 IGFBP-5 は、ニワトリヒナにおける短時間の栄養状態の変化に応じ、何らかの生理的役割を果たしているのかもしれない。

キーワード：脳, 絶食, インスリン様成長因子, 肝臓, 再給餌

The Journal of Poultry Science 55: 269-273, 2018

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/55/4/55_0180005/_article/-char/en

ソバ飼料を給与したブロイラーにおける消化管各部位の内容物の

フィターゼ活性と栄養素の回腸消化率

ラーキ チョウドリ¹・神 勝紀²

¹信州大学大学院総合工学系研究科 長野県上伊那郡南箕輪村 399-4598,

² 信州大学農学部 長野県上伊那郡南箕輪村 399-4598

ソバフィターゼが作用する消化管部位および飼料中のソバが栄養素消化率に及ぼす影響を調査する目的で、ソバ種子粉碎物 (BU) あるいは発芽ソバ種子粉碎物 (GBU) を添加した飼料をブロイラーに給与して、消化管各部位の内容物におけるソバフィターゼの活性および栄養素の消化率を調査した。合計 80 羽の雄ブロイラー (29 日齢) を 1 区 20 羽の 4 区に分け、36 日齢になるまで以下の飼料のいずれかを給与した。すなわち、全栄養素要求量を充足した陽性対照飼料 (PC 飼料)、有効リンだけが 1.5g/kg 不足した陰性対照飼料 (NC 飼料)、NC 飼料のトウモロコシを BU または GBU で 20%置換して作成した実験飼料 (BU 飼料と GBU 飼料)。実験終了時の 36 日齢時にブロイラーを屠殺して、嗦嚢、筋胃、十二指腸、空腸、回腸および盲腸の消化物を回収した。フィターゼ活性は PC および NC 飼料では低かったが、BU 飼料では高くなり GBU 飼料ではさらに高くなった。このパターンは嗦嚢消化物においても同じであったが、20%BU 飼料区と 20%GBU 飼料区におけるフィターゼ活性は、飼料で得られた数値よりも若干低下した。消化物のフィターゼ活性は、消化物が嗦嚢から筋胃に移動したときに最も急激に減少し、その後も漸減して回腸消化物ではいずれの区も極めて低い値を示した。消化物のフィターゼ活性について、発芽と消化管部位の 2 つを要因として二元配置分散分析を行った結果、発芽の影響は有意ではなかったが、消化管部分の影響および両者の交互作用は有意であった。飼料中の BU と GBU は乾物と CP の回腸消化率に殆ど影響しなかったが、フィチンリンの回腸消化率を有意に増加させた。以上から、ブロイラーにおいて、ソバフィターゼによるフィチン分解は主として嗦嚢で生じること、および飼料中のソバは栄養素の消化率に負の影響を及ぼさないことが示唆された。

キーワード：ブロイラー、ソバ、消化管内容物、回腸消化率、フィターゼ活性

The Journal of Poultry Science 55: 274-279, 2018

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/55/4/55_0170209/_article/-char/en

ブロイラー胚とヒナの腸管におけるトリ β -ディフェンシン (AvBDs) と炎症性サイトカインの遺伝子発現および AvBD2 局在の成長に伴う変化

寺田拓実¹・新居隆浩^{1,2}・磯部直樹^{1,2}・吉村幸則^{1,2}

¹ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市 739-8528,

² 広島大学日本(型)畜産・酪農技術開発センター, 東広島市 739-8528

本研究はブロイラー胚とヒナの成長に伴う腸管のトリ β -ディフェンシン (AvBD) と炎症性サイトカインの遺伝子発現及び AvBD2 局在の変化を明らかにすることを目的とした。19 日目胚 (ED19), 初生ヒナ (D0), 7 日齢ヒナ (D7) から回腸と盲腸を採取した。その後、10 の AvBDs (AvBD1-8, 10 と 12) と炎症性サイトカイン (*IL-1 β* , -6 と -8) の遺伝子発現量を real-time PCR 法で解析し、AvBD2 局在を免疫染色法で解析した。ED19 の回腸における AvBD1, 2 と 6 の発現量は D7 より有意に高く、盲腸における AvBD1 と 4 の発現量は D7 より有意に高かった。D0 の回腸における AvBD10 の発現量は ED19 と比較して有意に高かった。一方で、D0 の盲腸における AvBD8 と 10 の発現量は ED19 と比較して有意に高く、AvBD10 の発現量は D0 から D7 にかけて有意に減少した。*IL-1 β* , -6 と -8 の発現量は、回腸では D7 が ED19 より有意に高かった。盲腸では、D0 における *IL-1 β* , -6 と -8 の発現量は ED19 より有意に高く、*IL-1 β* , -6 の発現量は D0 から D7 にかけて有意に減少した。粘膜組織における AvBD2 陽性細胞は絨毛と腸腺の上皮下の粘膜固有層に局在していた。盲腸粘膜組織の単位面積あたりの AvBD2 陽性細胞数は、D0 が ED19 と D7 より有意に多かった。

以上の結果より、ブロイラー胚と孵化後初期のヒナの回腸と盲腸で AvBDs と炎症性サイトカインが発現し、AvBDs の発現は孵化前後に高く、7 日後までに減少することが示された。炎症性サイトカインの発現は回腸では孵化 7 日まで上昇し、盲腸では孵化直後が最も高いことが示された。これらの AvBDs と炎症性サイトカインは初生ヒナの腸管粘膜の感染防御に働くものと思われる。

キーワード: ブロイラー胚とヒナ, 腸管, 自然免疫, トリ β -ディフェンシン (AvBDs), 炎症性サイトカイン

The Journal of Poultry Science 55: 280-287, 2018

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/55/4/55_0180022/_article/-char/en

ニワトリ卵胞膜における Toll 様受容体リガンド刺激によるサイトカイン発現の誘導と その過程における NFκB の役割

康 暉¹・新居隆浩^{1,2}・磯部直樹^{1,2}・吉村幸則^{1,2}

¹ 広島大学大学院生物圏科学研究科, 東広島市 739-8528 ;

² 広島大学日本型 (発) 畜産・酪農技術開発センター, 東広島市 739-8528

本実験はニワトリ卵胞膜のサイトカイン発現に及ぼす Toll 様受容体 (TLR) リガンドの影響と NFκB がその過程に関与する可能性を追究した。産卵鶏の最大卵胞から卵胞膜を採取した。実験 1 では卵胞膜内層と外層の TLR 発現を RT-PCR 法で解析した。次いで、卵胞膜 (内層と外層) を培養し、Pam3CSK4 (TLR2 リガンド), poly I:C (TLR3), LPS (TLR4), flagellin (TLR5), R837 (TLR7) または CpG-ODN (TLR21) を添加または非添加して 3 時間インキュベートした。これらの組織のサイトカイン発現 (IL-1β, IL-6, TNFSF15, CXCLi2, IFN-α, IFN-β) をリアルタイム PCR 解析した。実験 2 では、卵胞膜組織を Pam3CSK4, poly I:C, LPS または CpG-ODN とともに BAY 11-7085 (NFκB 阻害剤) を添加して 3 時間インキュベートし、実験 1 と同様にサイトカイン発現を解析した。その結果、実験 1 では卵胞膜内層と外層の両方で、TLR1 (type 1), TLR2 (type 1 と 2), 3, 4, 5, 7 と 15 の PCR 産物が検出され、TLR1 (type 2) と 21 の産物は少なかった。Pam3CSK4 によりすべてのサイトカインの発現が上昇し、LPS により IFN-α を除く他のサイトカイン発現が増加した。poly I:C は IL-6, CXCLi2 と IFN-β の発現を増加させ、CpG-ODN は IL-1β の発現を増加させた。Flagellin と R837 はサイトカインの発現に影響しなかった。実験 2 では、LPS による IL-1β, IL-6, CXCLi2 と IFN-β の発現の上昇は BAY 11-7085 で抑制された。Pam3CSK4, poly I:C と CpG-ODN がサイトカイン発現に及ぼす作用に BAY 11-7085 の影響は検出されなかった。これらの結果から、卵胞膜には TLR による微生物パターン認識とサイトカイン発現の自然免疫機能が備わっており、このうち、ウイルスパターンより細菌パターンの認識能が発達しているものと考えられた。

キーワード: ニワトリ卵胞膜、サイトカイン、NFκB、Toll 様受容体

The Journal of Poultry Science 55: 288-300, 2018

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/55/4/55_0170217/_article/-char/en

連続人工授精の実施時刻と実施間隔が受精卵の父性に及ぼす影響

イエソ T. ブイ¹・中村有希¹・竹之内惇¹・都築政起^{1,2}・前田照夫^{1,2}

¹ 広島大学生物圏科学研究科 東広島市鏡山 739-8528

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

本研究では、異なる品種の雄鶏精液による連続人工授精の実施時刻と実施間隔が受精卵の父性に及ぼす影響を検討した。連続人工授精には、3品種の雄鶏を用い、1回目の人工授精 (AI) には、横斑プリマスロック (BP) の精液を、2回目および3回目の AI には、烏骨鶏および白色プリマスロックの精液をそれぞれ用いた。注入用の雌鶏には18羽の横斑プリマスロックの雌 (7ヶ月齢) を供試し、A, B, C および D 区の4グループに分けた (A, B 区 : n=3 ; C, D 区 : n=6)。すべての区における1回目の AI には、BP 精液を用い、午後3時に実施し、その実施日を0日とした。A 区の2回目および3回目の AI には、それぞれ JB および WP の精液を用い、AI の実施時刻を午後3時、AI の実施日を5および10日目とした。B 区も同様に2回目 (JB)、3回目の (WP) の AI を行い、AI の実施時刻を午後3時、AI の実施日を5および15日目とした。また C 区および D 区も同様に2回目及び3回目の AI を実施したが、両区の AI 実施時刻を午前6時とし、C 区では実施日を5日目と10日目に、また D 区では10日目および20日目とした。生まれた雛の表現型により父性の判定を行った。2回目の人工授精を午後に実施した場合、翌々に産卵した卵から孵化した雛の多くは、2回目の精液由来の雛であった (82.4%-100% ; A および B 区)。2回目の人工授精を早朝に実施した場合には、翌日に産卵した卵からも2回目の精液由来の雛が出現した (C および D 区)。AI の実施間隔の影響を比較した場合、間隔が長い方 (10日間隔 ; B および D 区) が、短い方 (5日間隔 ; A, B および C 区) に比較してより高い割合で後注入 (2回目あるいは2回目注入) 由来の雛が得られた (95.2%-100%)。

The Journal of Poultry Science 55: 301-306, 2018

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/55/4/55_0170208/_article/-char/en