

**研究報告 遺伝・育種**

**p. 89-95** 裸頸(ネイクドネック)鶏における免疫能と種々の血液パラメーターについて  
Ahmed Galal

**飼料・栄養**

**p. 96-100** 育成期における雄七面鳥のスレオニン要求量  
George W. Barbour, Mohamad T. Farran and Michael S. Lilburn

**p. 101-109** 自由摂取での換羽誘導に用いる換羽用飼料のMEレベルの検討(要旨)  
Hnin Yi Soe・八代田真人・大谷滋

**研究ノート**

**p. 110-115** ナイジェリアシード粕を摂取したニホンウズラの産卵及び繁殖成績に及ぼす酵素添加の影響  
Youssef A. Attia, Abd EL-Razak E. Tag El-Din, Hassan SZeweil, Ahmed S. Hussein, El-Shahat M. Qota and Mohamed A. Arafat

**繁殖・生理**

**p. 116-124** ウズラ胚生殖腺の性分化およびP450arom、AMH、ERαのmRNA発現および孵化後成長に及ぼすアロマトーゼ阻害剤(Fadrozole)による性転換の影響(要旨)  
木庭尚美・森正彦・河ヨンジユ・水島秀成・塚田光・齋藤昇・小野珠乙・島田清司

**p. 125-131** ブロイラー及びバングラデシュ在来鶏の消化管における粘膜と免疫グロブリン保持血漿細胞の比較研究  
Mohammad N. Islam, Mohammad Z. I. Khan, Mir R. Jahan, Mohammad R. Karim and Yasuhiro Kon

**p. 132-138** アヒル胚生殖腺の性分化に関連した遺伝子のmRNA発現推移(要旨)  
木庭尚美・大藤利通・河ヨンジユ・水島秀成・塚田光・齋藤昇・島田清司

## 研究ノート

**p. 139-142** b-エンドルフィンの中枢投与は m-オピオイド受容体を介してニワトリヒナの摂食行動を促進する(要旨)

柳田光一・白石純一・藤田正範・豊後貴嗣

**p. 143-146** 鳥類異属間で体細胞核移植された生殖腺生殖細胞の作出(要旨)

石黒進・金井幸雄・田島淳史

**p. 147-151** ベニバナ葉のニワトリリンパ球及び巨食細胞の免疫応答能増強特性

Sung-Hyen Lee, Hyun S. Lillehoj, Robert A. Heckert, Soo-Muk Cho, Wenbin Tuo, Erik P. Lillehoj, Hye-Kyung Chun and Hong-Ju Park

**p. 152-158** Phospholipase C $\zeta$  cRNA 投与による顕微授精ウズラの発生促進効果(要旨)

水島秀成・高木惣一・小野珠乙・渥美優介・塚田光・齋藤昇・島田清司

(p.101-109)

## 自由摂取での換羽誘導に用いる換羽用飼料の ME レベルの検討

Hnin Yi Soe 1、八代田真人 2、大谷滋 2

1 岐阜大学連合農学研究科、岐阜市柳戸 1 - 1

2 岐阜大学応用生物科学部、岐阜市柳戸 1 - 1

自由摂取させた産卵鶏を大きなストレスをかけることなく休産させることのできる誘導換羽用飼料の適切な代謝エネルギーレベルについて検討した。白色レグホーン産卵鶏を、導入後 4 週間、トウモロコシおよび大豆粕を主体とする成鶏用飼料を自由採食させた。その後、対照区と 3 処理区の計 4 区に分け、対照区にはそのまま成鶏用飼料を給与した。3 処理区にはそれぞれ以下の 3 種類の飼料を 4 週間自由摂取させた。(1) トウモロコシ、フスマおよびコーングルテンフィードを主体とする換羽用飼料 (ME 2.3Mcal/kg、M100 区)、(2) 換羽用飼料 85%にもみ殻 15%を混合した飼料 (ME 1.9Mcal/kg、M85 区)、(3) 換羽用飼料 70%にもみ殻 30%を混合した飼料 (ME 1.6Mcal/kg、M70 区)。処理終了後は成鶏用飼料を給与した。換羽処理期間中に heterophil:lymphocyte(H:L)比、卵巣と卵管重量および MEn 摂取量を測定した。試験期間を通して産卵率、卵重、卵質、体重および飼料摂取量を測定した。処理期間中の換羽区では飼料摂取量、体重および卵巣と卵管重量が対照区よりも有意に ( $P<0.01$ ) 減少した。M70 区では 9 日以内に産卵は完全に休止し、M100 区および M85 区ではそれぞれ 10 日目、9 日目で産卵率が 4.2%まで低下した。H:L 比は M70 区で最も高く、M100 区と M85 区が中位、対照区で最も低くなった。M70 区では換羽処理 1 週目、2 週目および 4 週目で MEn 摂取量は要求量を下まわった。換羽処理区における産卵再開後の産卵率および卵質は対照区よりも良好であった。低エネルギー飼料 (ME 1.6kcal/kg) を用いることで自由摂取させても効果的に換羽を誘導でき換羽後の生産性を改善できると考えられる。

キーワード：エネルギーレベル、誘導換羽、換羽用飼料、換羽後の成績

(p.116-124)

## ウズラ胚生殖腺の性分化および P450arom、AMH、ERα の mRNA 発現および孵化後成長に及ぼすアロマトラーゼ阻害剤 (Fadrozole) による性転換の影響

木庭尚美 1)、森正彦 1)、河ヨンジユ 1)、水島秀成 1)、塚田光 1)、齋藤昇 1)、  
小野珠乙 2)、島田清司 1)

- 1) 名古屋大学大学院 生命農学研究科 動物機能制御学、名古屋市千種区不老町、464-8601
- 2) 信州大学農学部 食料生産科学科、長野県上伊那郡南箕輪村 8304、399-4598

非ステロイド性アロマトラーゼ阻害剤である Fadrozole (AI) がウズラの性転換に及ぼす影響を検討するため (1) 孵卵 0-8 日目に AI (0.1 mg/egg) 投与し、孵化時の生殖腺の左右非対称性形態から性転換に有効な投与時期を確定し、(2) 孵卵 0 日目 AI 投与ウズラの孵化前日 (孵卵 15 日目) の左側生殖腺の組織形態を顕微鏡観察して、生殖腺における Aromatase (P450arom)、Anti-Müllerian hormone (AMH) および Estrogen receptor α (ERα) の mRNA 発現を定量し、(3) 孵卵 0 日目 AI 投与ウズラの 1-7 週齢における生殖腺の成長と左右非対称性および体重変化を調べた。その結果、(1) 孵卵 0、2 および 4 日目に AI 投与の雌では、左右対称性の生殖腺が見られたが、孵卵 6 および 8 日目投与群では左右非対称性が認められた。(2) 孵卵 0 日目 AI 投与の雌の孵化前日の左側生殖腺には、精細管と卵胞が混在した卵精巣 (Ovotestis) が見られた。生殖腺の P450arom mRNA は、対照群の雌では雄よりも顕著な高発現が認められたが、AI 投与群の雌では発現程度に応じて、雄と同等な低発現群と雌 (対照群) と同等な高発現群に分けられた。AMH および ERα の mRNA 発現には、雄雌および AI 投与による有意な差は見られなかった。(3) 体重は孵化後 5 週齢までは雄雌とも同様に増加したが、6-7 週齢では対照群および AI 投与群は平均体重で雄より雌が重かった。以上のことから、ウズラでは孵卵 6 日以前の P450arom mRNA 発現が、生殖腺の左右対称性形成に何らかの関与する可能性が示唆された。また、AI 投与群の雌は、P450arom mRNA 発現が雄と同程度まで低下した群と雌 (対照群) と同様の群が認められた。性成熟時期の体重増加は、生殖腺以外の要因にも制御されていると考えられた。

キーワード：アロマトラーゼインヒビター、P450arom mRNA、ウズラ生殖腺、性転換

## アヒル胚生殖腺の性分化に関連した遺伝子の mRNA 発現推移

木庭尚美、大藤利通、河ヨンジユ、水島秀成、塚田光、齋藤昇、島田清司

名古屋大学大学院 生命農学研究科 動物機能制御学、名古屋市千種区不老町、464-8601

鳥類の性決定・性分化に関する分子機構はニワトリやウズラを用いた知見は見られるが十分には明らかでなく、水禽類など他の鳥種に関する情報は少ない。本研究はアヒル生殖腺の性分化関連遺伝子 (FOXL2、P450arom、DMRT1、AMH、P450c17、SF1、ER $\alpha$  および AR) の mRNA 発現パターンを明らかにする目的で行った。アヒル (Cherry-valley 種) の受精卵を購入し常法的に孵卵を行った。孵化までに要する日数 28 日の内、孵卵 7、8、10、12 および 15 日目に生殖腺の外形写真を撮った後に左側生殖腺を採取し total RNA を抽出した。ニワトリの FOXL2、P450arom、DMRT1、AMH、P450c17、SF1、ER $\alpha$  および AR の各塩基配列をもとにプライマーを設定し、アヒルの各遺伝子 cDNA 断片を得て塩基配列を確認した。塩基配列ホモロジーが AMH(84%)と P450c17(89%) 以外は全て 90%以上であったため、ニワトリプライマーをそのまま使い Real-time PCR 法でアヒル生殖腺における各 mRNA 発現を定量することとした。雄生殖腺は左右対称性を示したが、雌生殖腺は孵卵 10 日に右側生殖腺が小さくなり左右対称性がくずれ孵卵 15 日では非対称性形態が明瞭となった。FOXL2 と P450arom mRNA 発現は雄ではほとんど見られなかったが、雌では孵卵 8 日以降著しい発現が見られた。一方、DMRT1 と AMH mRNA 発現は雄で孵卵 7 日以後に発現していたが雌では観察期間中低いままであった。P450c17 mRNA 発現は雄では低い発現であったが雌では孵卵 8 日以後に高い発現がみられた。その他の mRNA 発現には性差が見られなかった。これらの結果より、アヒルの卵巣分化には FOXL2 と P450arom が主要な役割を果たしていると考えられた。

キーワード : dmrt1、アヒル生殖腺、foxl2、mRNA、P450arom

(p.139-142)

**b-エンドルフィンの中枢投与は m-オピオイド受容体を介してニワトリヒナの摂食行動を促進する**

柳田光一・白石純一・藤田正範・豊後貴嗣

広島大学大学院生物圏科学研究科、東広島市 739-8528

要約

ニワトリヒナ中枢の摂食行動調節における b-エンドルフィンの役割を調査するために、b-エンドルフィンおよび mu-あるいは delta-オピオイド受容体拮抗剤を用いて投与後のヒナの摂食量を調べた。b-エンドルフィンの中枢投与 (50 pmol) はヒナの摂食量を増加させた。また、その摂食亢進効果は、mu-オピオイド受容体拮抗剤の同時投与によって緩和するが、delta-オピオイド受容体拮抗剤では効果が認められなかった。これらの結果から、b-エンドルフィンが、ニワトリヒナの摂食行動に重要な働きをしていること、またその効果は mu-オピオイド受容体を介したものであることが明らかになった。

キーワード：中枢神経系、新生ヒナ、b-エンドルフィン、飼料摂食量、mu-オピオイド受容体

## 鳥類異属間で体細胞核移植された生殖腺生殖細胞の作出

石黒進 1)・金井幸雄・田島淳史

筑波大学生命環境科学研究科、茨城県つくば市天王台 1-1-1

1)現所属：独立行政法人 国立環境研究所 環境研究基盤技術ラボラトリー・生物資源研究室 茨城県つくば市小野川 16-2 〒305-8506

鳥類における体細胞核移植技術は、遺伝資源の新たな保存法として期待されている。本技術を様々な鳥類の遺伝資源保存に応用するためには、異種間さらには異属間における体細胞核移植個体作製の可能性を検討する必要がある。そこで本研究は、鳥類異属間における体細胞核移植を目的とした研究の一環としてニワトリ-ウズラを用いて体細胞核移植生殖腺生殖細胞 (snt-GGCs) の作出を試みた。電気融合には、ニワトリまたはウズラ 4 日胚から回収された胚性血球細胞(EBC)と、ニワトリ 7 日胚またはウズラ 6 日胚から回収された GGCs を用い、考えられる全ての組み合わせ、すなわち (1) E(c)-G(c)、(2) E(q)-G(q)、(3) E(q)-G(c)そして(4) E(c)-G(q)の間で行なった。ここで、E、G、cそしてqは、それぞれEBCs、GGCs、ニワトリおよびウズラを示す。snt-GGCsの作製は、各実験区につき10反復行った。電気融合条件は峰松ら(2004)の報告に準じ、20,000個のEBCと50個のGGCを用いて行った。10反復のうち融合細胞が得られたのは、E(c)-G(c)、E(q)-G(q)、E(q)-G(c)そしてE(c)-G(q)のそれぞれにおいて、5回(50%)、3回(30%)、5回(50%)および4回(40%)で、得られたsnt-GGCs数の平均個数は、それぞれ0.6個(1.2%)、0.3個(0.6%)、0.5個(1.0%)および0.5個(1.0%)であった。以上の結果より、異属間の鳥類におけるEBCsとGGCsの間でsnt-GGCsが得られることが示された。

キーワード：ニワトリ、電気融合、生殖腺生殖細胞、ウズラ、体細胞核移植

(p.152-158)

## Phospholipase C $\zeta$ cRNA 投与による顕微授精ウズラの発生促進効果

水島秀成 1、高木惣一 1、小野珠乙 2、渥美優介 2,3、塚田光 1、齋藤昇 1、島田清司 1

1 名古屋大学大学院生命農学研究科、愛知県名古屋市千種区不老町、464-8601

2 信州大学農学部食料生産科学科、長野県南箕輪村 8304、399-4598

3 信州大学大学院総合工学系研究科生物・食料科学専攻、長野県南箕輪村 8304、399-4598

本研究は、Phospholipase C $\zeta$  (PLC $\zeta$ ) cRNA を細胞質内精子注入 (ICSI) と同時にウズラ卵子に注入して、発生率及び発生ステージの進行速度を改善しようとした。注入したウズラ卵子を 24 または 72 時間の培養を行い、その後実体顕微鏡下で発生ステージを検定し、さらに胚盤葉の DAPI 染色により細胞分裂の確認を行なった。まずウズラ精子から PLC $\zeta$  cDNA を RT-PCR により単離し、塩基配列の決定を行なった。単離した cDNA は ORF 全長 (637 のアミノ酸配列) を含む 1978 塩基で、EF-hand、X、Y、C2 ドメインを保存していた。また、他の PLC アイソザイムの全てが PH ドメインを有しているのに対して、PLC $\zeta$  はそのドメインを欠損しているという構造特性もみられた。RT-PCR によって組織の PLC $\zeta$  mRNA 発現を調べた結果、PLC $\zeta$  mRNA は、精巣にのみ発現していた。PLC $\zeta$  cRNA なしで ICSI したウズラ卵子は、24 時間の体外培養後では、16% (4/25) が発生し、その胚盤葉ステージは III-VI の間を占めた。一方、PLC $\zeta$  cRNA (60 $\mu$ g/ml 濃度で 3nl 量) とともに ICSI した場合、24 時間培養後では、精子のみを注入した群に対して 2 倍以上の発生率 36.7% (7/19) を示し、その胚盤葉ステージも IV-VII の間を示した。72 時間培養を行なった場合、単一精子のみの ICSI では、15.4% (2/13) が発生し、その胚盤葉ステージは V から VII の範囲であった。一方、精子とともに PLC $\zeta$  cRNA を注入した場合、50% (9/18) が発生し、胚盤葉ステージも VI から X 以上 (胚発生ステージ 4-7) がみられ 3 例では原条もみられた。このように、PLC $\zeta$  cRNA 添加によって顕微授精によるウズラ胚の発生率およびその発生ステージを格段に向上することができたことから、このことが ICSI によるトランスジェニックトリの作出や希少鳥種の救済に道を開く可能性が期待される。

キーワード：胚盤葉、胚発生、細胞質内精子注入、phospholipase PLC $\zeta$ 、ウズラ