

研究成果の紹介

1 牛胚の遺伝子診断技術

ねらいと成果

動物細胞や血液からの遺伝子診断が可能となっている現在では、牛においても遺伝病や経済形質の遺伝的解析が進んでいる。黒毛和種における遺伝病には赤血球膜蛋白異常症（バンド3欠損症）や腎尿細管形成不全症（クローディン16欠損症）などがあるが、牛を生産する以前に胚の段階でこれらの遺伝病遺伝子を判定できれば、疾患遺伝子のない牛を選択でき、経済的損失を回避できる。

そこで、胚の遺伝子診断として、バンド3欠損症の診断を行った。胚細胞からのDNA抽出方法を検討するため、体外受精7日目の胚盤胞期胚1個を用い、3種類の抽出方法で比較した結果、熱湯抽出法が最もDNA濃度が高かった。

胚盤胞1/2胚をサンプリング後バンド3欠損症の診断を行ったところ、診断は可能であった。また、残り1/2胚を用いて性判定を行い、バンド3欠損症と性別との関連をみたところ、性別による偏りは見られなかった。

内容

1 供試胚

食肉センター由来卵巣から採取した卵子に、バンド3欠損症の遺伝子をヘテロで持つ種雄牛の精子を用いて体外受精を行った。受精7日目の胚をマイクロブレードで切断2分離して洗浄後、滅菌蒸留水でサンプリングした。

表1 抽出法の違いによる胚1個あたりのDNA濃度

抽出法	測定胚数	DNA量($\mu\text{g/ml}$)
		平均値 \pm 標準偏差
①熱湯抽出	7	8.1 \pm 1.2
②DNAキット	5	0.7 \pm 0.2
③ProteaseK処理後DNAキット	6	0.9 \pm 0.6

2 胚からのDNA抽出

胚盤胞1個を10 μl の滅菌蒸留水でサンプリング後、①熱湯抽出、②DNAキットによる抽出、および③Protease K処理後DNAキットによる抽出の3法でDNAを抽出し、DNA濃度を測定したところ、熱湯抽出が最も高いDNA濃度であった(表1)。

3 バンド3欠損症診断

胚盤胞を半分に切断し、1/2個を10 μl の滅菌蒸留水でサンプリング後、熱湯抽出を行い、PCR法によりバンド3欠損症の診断を行った結果、胚のバンド3欠損症の診断率は84.3% (75/89個)であり、胚細胞を用いた遺伝子診断が可能であった。75個のうち36個(48.0%)が陽性(ヘテロ)であり、メンデル式遺伝の陽性率の期待値50%と同等であった。また、切断した残りの1/2胚を性判定した結果、性とバンド3欠損症の両方を判定できた胚は53個であり、性別ごとに見た陽性率も50%前後となっており、バンド3欠損症の性別による遺伝的な偏りは見られなかった(表2)。

今後の方針

診断率を向上させるため、胚細胞からのDNAの抽出、精製方法を検討する。また、胚細胞の経済形質にかかわる遺伝的解析を検討する。

疾病診断済み胚の移植による牛の生産を試みる。

濱田 由佳子(中央農技・生物工学研究所)

表2 バンド3欠損症の有無と性別

性別	雄		雌	
	-	+	-	+
バンド3欠損症	-	+	-	+
胚数	16	13	11	13
	(55.2%)	(44.9%)	(45.8%)	(54.2%)