

## 平成 15 年度試験研究成果書

区分	指導	題名	黒毛和種多生子の個体識別とキメラ判定	
[ 要約 ] 牛多生子の個体識別と血液キメラの判定は、白血球由来および毛根細胞由来の DNA を用いて、DNA マーカーによる PCR-電気泳動法により判定できる。また、両側子宮角への 2 胚移植は、胎子間の血液キメラが生じる割合が低い傾向であった。				
キーワード	多生子	個体識別	DNA マーカー	畜産研究所 家畜工学研究室

### 1 背景とねらい

牛の多胎妊娠では、胎盤血管の吻合による血液交流のため胎子に血液キメラを生じることが多く、異性多胎では性染色体キメラが起こる。キメラ個体の血液には相互の DNA が混在するため、血液材料のみで多胎子間の個体を識別できず、牛肉の産地や生産履歴を表示するトレーサビリティシステムのための DNA 判定に問題が起こることが予想される。また、2 胚移植による双子生産ではキメラ発生防止技術の確立が求められているため、牛多生子の個体識別と血液キメラの判定を DNA マーカーにより試みた。

### 2 成果の内容

- (1) 血液をサンプルとした多生子の個体識別は、相互の血液交流によるコンタミが生ずるため識別が困難であり、毛根細胞由来 DNA を併用した判定が必要である。(図 1)白血球由来 DNA 型による多生子の個体識別結果は、双子産子 6 組中 4 組は同一、三つ子は全て同一(図 2)、四つ子は 2 組が同一で判定できなかった
- (2) 多生子の白血球由来 DNA を用いると血液キメラと異性多胎のフリーマーチン判定ができる。
- (3) 両側子宮角移植 5 頭と追い移植 2 頭のキメラ判定で、5/7 頭(71%)が非キメラを示し、異性双子の 3/4 頭は牛雄特異的遺伝子(SRY)が検出されなかった。

### 3 成果活用上の留意事項

毛根細胞採取時には、汚れと他個体の毛根混入を避け、毛先端の毛根細胞付着を確認する。判定に必要な毛は約 20 本程度である。

### 4 成果の活用方法等

#### (1) 適用地帯又は対象者等

自然多胎、誘起多胎、ET 多生子等を飼育する農家。移植師、獣医師等の技術者。

#### (2) 期待する活用効果

血液と毛根細胞を材料とすることで多生子間の個体識別法を補強できる。血液キメラ判定は異性多生子雌のフリーマーチン判定に活用できる。両側子宮角移植による異性双子のフリーマーチン発生軽減が期待できる。

### 5 当該事項に関わる試験研究課題

(824) ウシ胚移植を活用した効率的双子生産技術の確立(H14~16、県単)

日本短角種をモデルとした全個体認証システムの構築と利用技術の開発(H15~19、国庫委託)

## 6 参考資料・文献

「牛の二卵性双子産子のキメラに関する分子遺伝的検索」島根畜試研報 34 (2001)

## 7 試験成績の概要 (具体的なデータ)

表 1 多生子の DNA 型による個体識別・血液キメラ判定結果

NO	区分	生産方法	血液由来 DNA 型	キメラ	フリーマーチン* (雌側)
1	異性三つ子	自然	同一	有り <sup>1)</sup>	有り
2	異性四つ子	ホルモン処理	同一	有り <sup>2)</sup>	無し
3	同性双子	自然	同一	有り	
4	異性双子	ホルモン処理	同一	有り	有り
5	異性双子	2 胚移植	同一	有り	有り
6	同性双子	2 胚移植 (両側子宮角)	同一	有り	
7	同性双子	2 胚移植 (両側子宮角)	異なる	無し	
8	同性双子	2 胚移植 (両側子宮角)	異なる	無し	
9	異性双子	2 胚移植 (両側子宮角)		有り <sup>3)</sup>	有り
10	異性双子	2 胚移植 (両側子宮角)		無し <sup>3)</sup>	無し
11	異性双子	追い移植		無し <sup>3)</sup>	無し
12	異性双子	追い移植		無し <sup>3)</sup>	無し

1) 3 個体で血液キメラ 2) 雄雄/雌雌は血液キメラであり、雄雌間の血液交流なし。

3) No.9-12 は染色体検査と牛雄特異的遺伝子の確認により判定。

\*フリーマーチン判定は牛雄特異的遺伝子 (SRY) を PCR で増幅しバンドを確認。

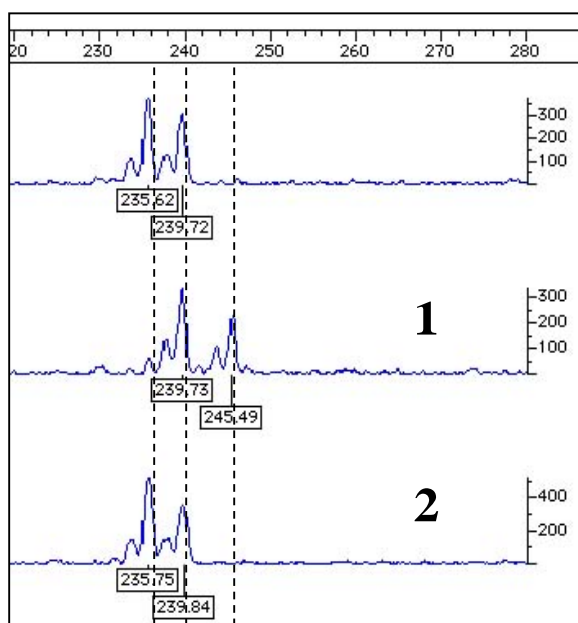


図 1 異性三つ子の個体識別成績 (毛根由来)

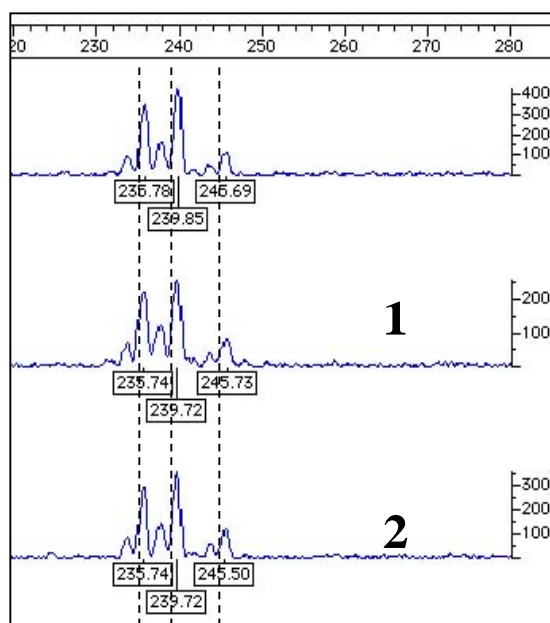


図 2 異性三つ子の個体識別成績 (血液由来)