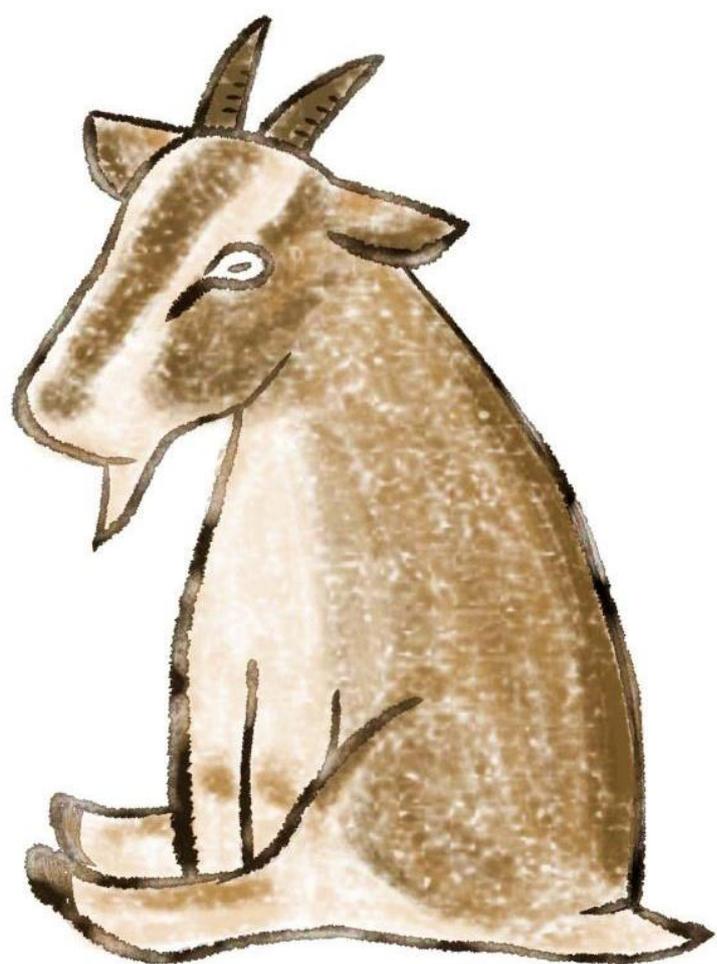


動物生理學研究室



目次

P1. はじめに

～ウマ～

P2. ウマの赤血球浸透圧脆弱性について

～ウシ～

P4. 遺伝子の探索

P5. 虚弱子牛症候群

P6. 黒毛和種肥育牛の枝肉重量と遺伝子

P7. 黒毛和牛のビタミンA輸送に関わる

RBPと枝肉形質の関連について

P9. 脂肪交雑に関する遺伝子

P11. 搾乳牛の乳房炎に関する遺伝子

P12. 特定農家のLWD,WLDを用いた枝肉重量に関するTGFB_{R1}

～ウズラ～

P13. 系統

P14. 異常卵ウズラの生理学的性状

P15. 免疫

P16. TRL

P17. 白血球

P18. 免疫学的去勢

～その他～

P20. ブランド卵について

P22. ヒツジのスクレイピー

はじめに

こんにちは。動物生理学研究室です。

生理研ではウシ、ウマ、ウズラなどの家畜
を中心に研究を行っています。

今年もオンラインでの開催にあたり、3年
生が行っている研究について紹介します。

ぜひご覧ください！！

ウマ赤血球浸透圧脆弱性の変動に関する研究

赤血球浸透圧脆弱性とは？

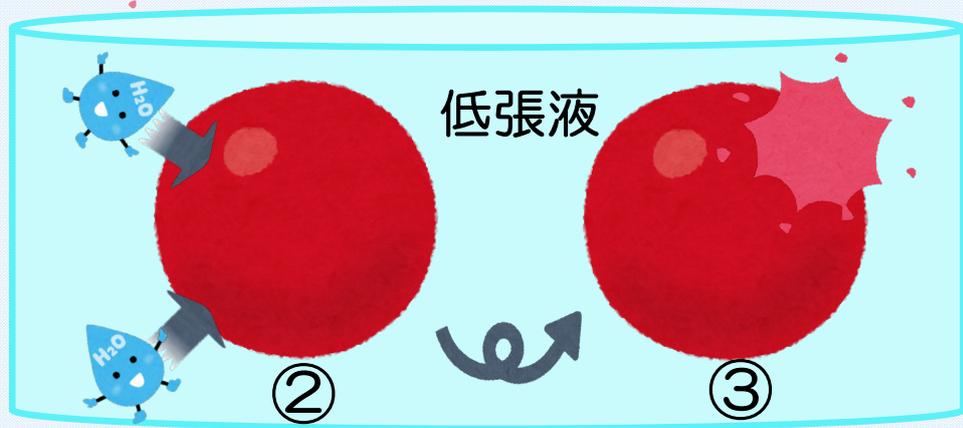
赤血球を低張液に曝した際の**溶血率**



各種動物の運動負荷のストレスマーカーとして使われている

溶血とは？

- ① 赤血球は生理的食塩水中では中央の窪んだ扁平な形を維持している
- ② 低張液に曝されると、赤血球内に水が流入し膨張する
- ③ 水の流入に耐えられなくなると膜が壊れ、内容物（ヘモグロビンなど）が溶出する。これが**溶血**

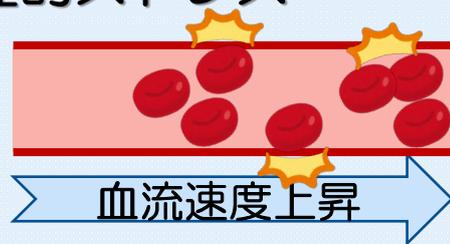


運動負荷による赤血球の脆弱化

運動を行うと…



- ①酸素運搬による酸化障害
- ②体内環境変化による化学的ストレス
運動による乳酸産生や血液pHの低下によって膜が弱くなる
- ③体内循環時の物理的ストレス
運動による血流速度の上昇で赤血球と血管壁、赤血球同士の衝突が起こり膜が弱くなる



さまざまな物理的・化学的ストレスを受けて

⊕ 赤血球は脆弱化する ⊕

赤血球浸透圧脆弱性の個体間差

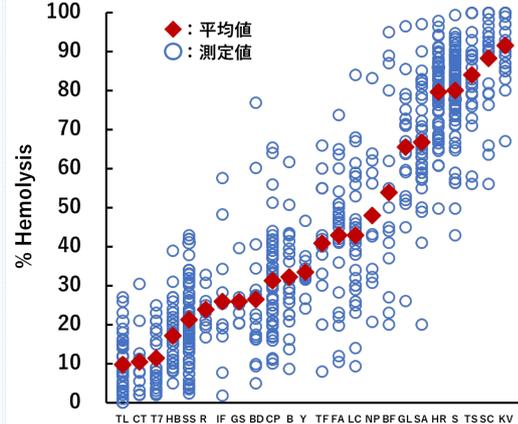
動物生理学研究室では、2002年から継続して様々なウマの赤血球浸透圧脆弱性の長期的変動について調査を行ってきた

長年調査を続けていると…

- ウマによって溶血率が大きく異なる (個体間差)
- ウマごとでも溶血率が変動している (個体内変動)



ウマ24頭の赤血球の0.56%NaClに対する溶血率



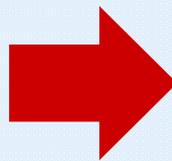
浸透圧脆弱性の個体間差・個体内変動の要因を明らかにする!

実験① 一般性状の測定

一般性状の測定

一般性状とは、血液内の赤血球の数や大きさを表す

- RBC : 1 μL 中の赤血球数($\times 10^4$ 個/ μL)
- Ht : 全血液中の赤血球容積率(%)
- Hb : 単位量当たりのヘモグロビン量(g/dL)
- MCV : 赤血球一個の平均容積(fL)
- MCH : 赤血球一個当たりのヘモグロビン量(pg)
- MCHC : 赤血球中の平均ヘモグロビン濃度(%)



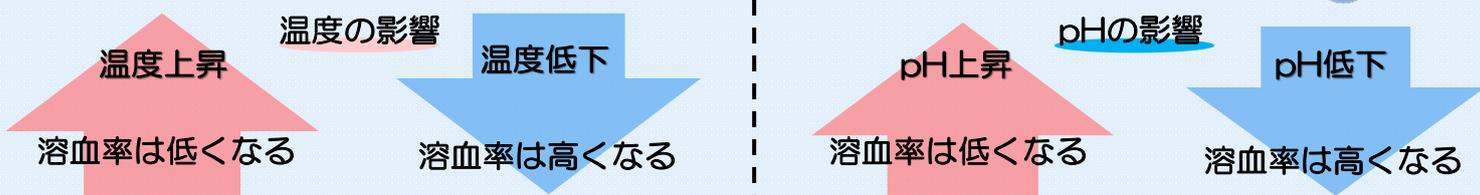
ウマの一般性状
と
溶血率
の
関係性を調べている



実験② pHと温度の浸透圧脆弱性への影響

体内環境のpH、温度の変化を試験管で再現して溶血率を測定する

浸透圧脆弱性に対する温度とpHの影響

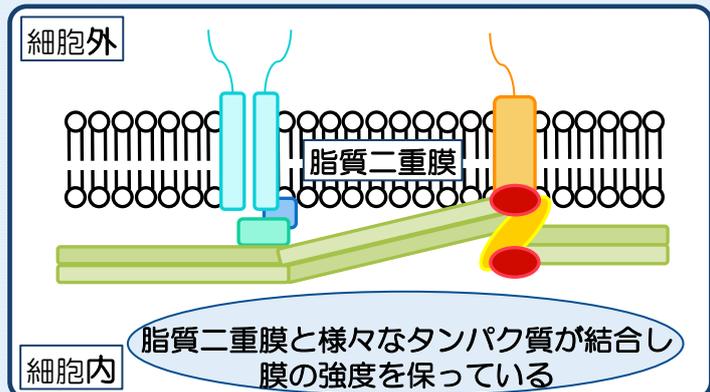


溶血率変化の個体間差と比較することで浸透圧脆弱性への影響を調べる

実験③ 膜骨格タンパク質の分画

赤血球は体内循環時に種々の物理的ストレスを受け膜が弱くなる。

溶血率に差のある個体間で膜骨格タンパク質にどのような差があるのかを比較解析する。



これら実験から、ウマ赤血球浸透圧脆弱性の個体間差・個体内変動の要因を調べている



遺伝子の探索の流れ

PCRとは

PCRとはDNAポリメラーゼというDNA合成酵素と目的のDNA部位を増幅するよう設計されたプライマーを使用することで、目的のDNA部位を増幅させることである。

ゲノムDNAは膨大な数の塩基対からなるため、目的の部分だけを解析することは難しいことから、DNA解析の前に行なう。

PCRは熱変性、アニーリング、伸長反応という工程を繰り返すことで目的のDNA部分を増幅させることができる。その際にサーマルサイクラーを利用する

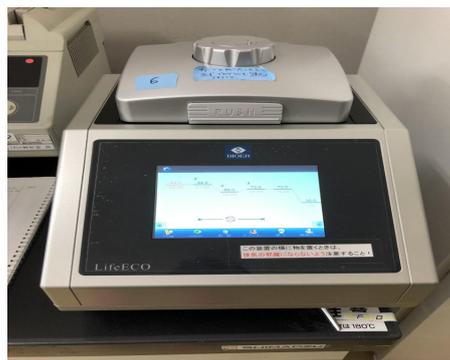
熱変性
水素結合を壊し、
DNAの二重らせん
構造を二本鎖から一
本鎖にする



アニーリング
温度を50~60℃にすることで、プライ
マーを一本鎖DNAの相補的な特異的部
位に結合させることで二本鎖を形成する



伸長反応
68~72℃で元の塩基配
列を鋳型とし、相補鎖を
合成する



サーマルサイクラー

電気泳動について

電気泳動はPCR増幅を行った後に産物が増幅されているか確認するために行なう。

DNAに含まれるリン酸基は水溶液中では負の電荷を持つので、DNAは負に帯電している。電気泳動は、DNAに水溶液中で電圧をかけることで、持っている電荷と反対の極に移動する性質を利用している。

DNA断片を、ゲル内で泳動させることで、長さの違いを利用して分離・分析することができる。そのため、大きな断片であればゲル内の泳動が遅く、小さいほど早く泳動する

シーケンス（サンガー法）

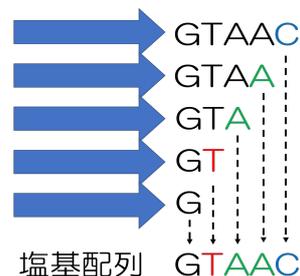
シーケンスとはDNAの塩基配列を決定することを言う。また、PCR産物の塩基配列を決定することをダイレクトシーケンスという。

サンガー法ではPCRと同様にDNA伸長反応を利用してサーマルサイクラーで熱変性、アニーリング、伸長反応を繰り返してシーケンス反応する。しかし、正確なDNA配列を得るためにPCRとは異なり、ddNTP (ddATP、ddGTP、ddCTP、ddTTP) を使用して伸長反応を途中で止める。

ddNTPは塩基によって異なった蛍光色素で標識されている。ddNTPで伸長が止まった塩基を蛍光標識の種類で特定し、シーケンサーで電気泳動し分離することで塩基配列を決定できる。



電気泳動



シーケンサーと塩基配列

虚弱子牛症候群について

虚弱子牛症候群とは？

虚弱子牛症候群（weak calf syndrome : WCS）とは、様々な臨床症状から虚弱と診断される子牛の総称で、発育障害や免疫の低下によって感染症にかかりやすくなる。

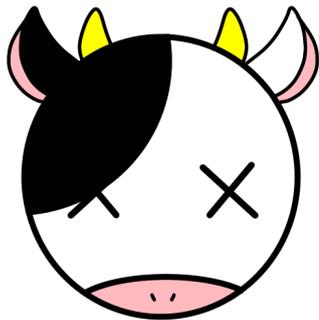


発症の原因は特定できていないが、牛の家系によって発症率が異なることから、この病気は遺伝的要因が関わっていると考えられている。

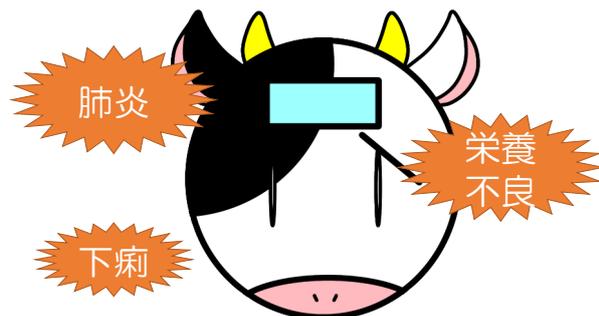
臨床症状・病理

症状として、出生時の低体重(ホルスタイン種で40kg、黒毛和種では20kg以下が目安)、難治性の下痢や肺炎、低血糖、低蛋白、低コレステロール血症を示す。

また臨床病理学的には免疫細胞産生臓器である胸腺の低形成(出生時50g以下、正常出生子牛では約150g)が見られる。そのため、ワクチンを接種しても抗体価が上がらず効果が低い。



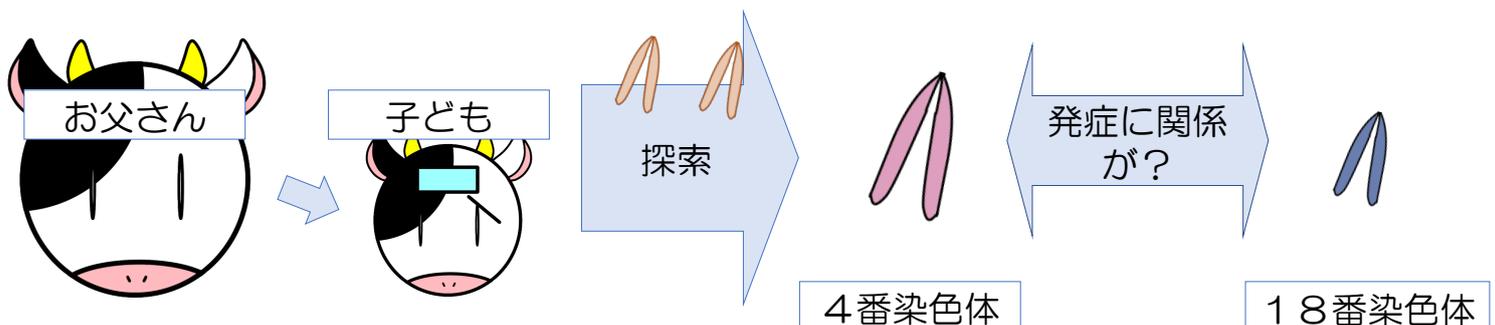
4~8%の子牛が死亡



成長しても虚弱体質であるため病気になるやすい

生理研で行っている研究

特定の種雄牛の産子で確認されたWCSについて原因遺伝子領域を探索した結果、4番染色体と18番染色体が発症に関わっている可能性が示された。研究室ではその原因遺伝子の特定のため、4番染色体と18番染色体に位置する候補遺伝子の変異探索を行っている。



黒毛和種肥育牛の枝肉重量と遺伝子

黒毛和種肥育牛の枝肉重量について

枝肉価格の決め方と格付けの仕組み

枝肉価格は、枝肉重量×kg単価で決まり、枝肉重量が大きければ農家の収入も大きくなります。kg単価は格付けによって決定され、枝肉の格付けは歩留り等級と肉質等級の組み合わせで決まります。歩留り等級は3区分（A,B,C）で、肉質等級は5区分（1,2,3,4,5）で評価され、全15ランクで格付けされます。歩留り等級は歩留基準値に従って、肉質等級は、5段階で評価された脂肪交雑、肉の色沢、肉の締まり、脂肪の色沢と質の最も低い値であらわされます。最も良い格付けがA5、最も低いものがC1になります。

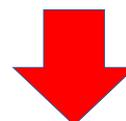
等級	歩留基準値	歩留
A	72以上	部分肉歩留が標準よりもいいもの
B	69以下72未満	部分肉歩留の標準のもの
C	69未満	部分肉歩留が標準より劣るもの

枝肉重量とは？

生体からと畜場で食肉処理されて、頭、足、皮、内臓、尾を取り、二つに割った状態の骨付き肉のことを言います。この枝肉の重さを枝肉重量と言います。平成26年度の黒毛和種の平均枝肉重量のデータでは、去勢牛が533.9kg「414～620kg」、雌牛が480.3kg「385～547kg」となっています。



生体



枝肉重量

枝肉重量に関わる遺伝子

黒毛和種では枝肉形質に関する量的形質遺伝子座が多く判定されています。枝肉重量に関する候補遺伝子として、第6番染色体にNCAPG、第14番染色体にPLAG1が見つされています。

NCAPG (anti NCAPG antibody)

皮下脂肪厚、歩留基準値に影響します。そして胎子の体重にも影響するため、あらかじめ親牛の遺伝子型から子牛の遺伝子型を推定した上で交配をすることで分娩の事故を減らす事が出来ると考えられます。

PLAG1 (pleiomorphic adenoma gene 1)

肥育牛の体重や体高などの体格、増体と関連し、と畜時には、枝肉重量及びロース芯面積に影響します。

実験の流れ

特定農場における黒毛和種の尾毛を採取し枝肉重量に関わる遺伝子の効果検証を行い、その結果を踏まえた上で枝肉重量に優れた肥育牛を生産していくことが目標であり、優れた肥育牛生産を確立させたいと考えています。

参考文献

- https://sakaeya.keikai.topblog.jp/blog_detail/blog_id=7&id=46
- https://nikuzou.jp/user_data/grade/
- <https://agri-kumamoto.jp/wp-content/uploads/2020/07/3648c68e8eb408bbf620ee834f2841bb.jpg>

黒毛和種のビタミンA輸送に関わるRBPと 枝肉形質の関連について

ビタミンAと枝肉形質

ビタミンA(レチノール、レチナール、レチノイン酸)は脂肪細胞の分化を抑制する作用があり、黒毛和種においては肥育中期にビタミンAの給与を制限することで脂肪細胞の分化抑制が解除され脂肪交雑が高まると考えられています。

(写真1)



(写真2)



一卵性双性を用い、ビタミンAを給与(写真1)と制限(写真2)
※丸で囲った部分のサシ(霜降り)の入り方が異なります。

ビタミンAを
制限したお肉って
おいしいの？



ビタミンAを制限することにより、脂肪交雑が上昇することがわかっており、脂肪交雑や脂肪量と官能検査の間に高い相関関係があると報告されています。それによっておいしさも上昇すると考えられています。

<https://www.pngall.com/ox-animal-png/download/27741?nowprocket=1>

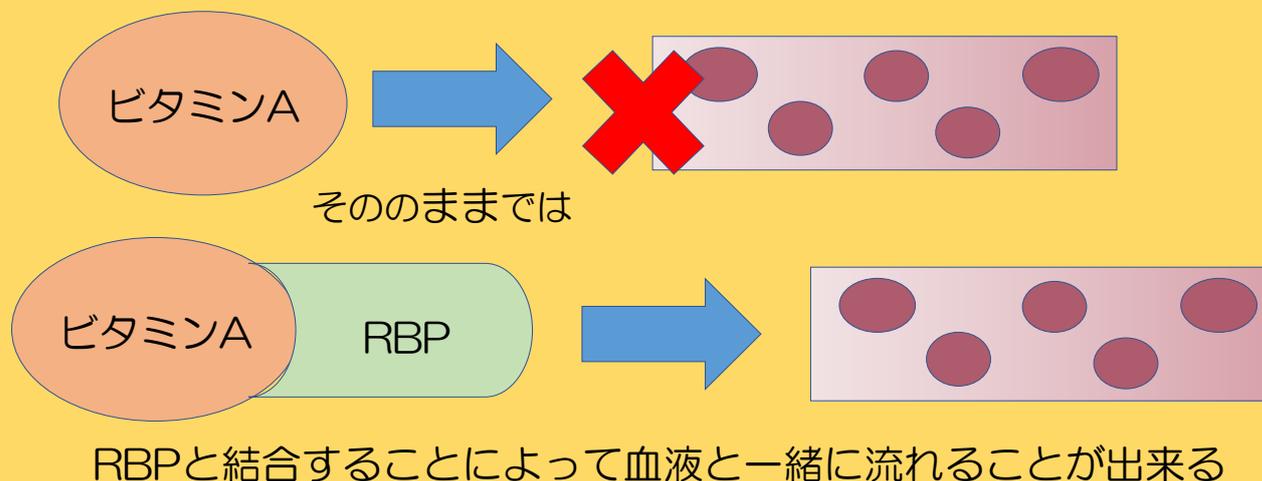
ビタミンAを制限するときに気を付ける点！

①ビタミンAを制限しすぎるとビタミンA欠乏症になり、食欲の低下や視覚障害、下痢、血便、起立不全などが見られます。

②また、欠乏症による食欲低下やストレスなどが相まって増体が劣ってくるのでビタミンAを制限する場合には十分気を付けましょう

ビタミンA輸送とRBPの関連性

ビタミンAは脂溶性で、単独では血液に溶解しません。しかし、RBP(レチノール結合タンパク質)と呼ばれるタンパク質と結合し、水溶性になり血液を介して各臓器に送られます。ビタミンAは小腸繊毛に吸収され、リンパ管を通り肝臓へ輸送されます。輸送されたビタミンAは標的臓器に輸送されます。RBPには様々な種類と役割がありそれを紹介していきます。



RBPの種類と役割

	発現場所	働き
RBP-1	ほぼ全ての細胞	RBP1はほとんどの細胞で発現しており、RBP4と結合したビタミンAは受容体を介して細胞内に取り込まれ、ビタミンAとRBP1が結合して存在している。
RBP-2	小腸粘膜	小腸繊毛に入ってきたビタミンAと結合し、小腸細胞内輸送を行い、カイロミクロンに受け渡す役目を担っています。
RBP-4	肝臓 脂肪細胞	RBP4はビタミンAが肝臓から運び出されるときに結合し血管を通り血液を介して標的細胞に輸送する役目を担っています。その後、受容体と結合しRBP1にビタミンAを受け渡します

このRBP1遺伝子の多型は脂肪交雑をはじめとする枝肉形質に影響すると考え、RBP1遺伝子の多型をエキソン領域を中心に探索しています。

参考文献

http://jlta.lin.gr.jp/report/detail/pdf/kokunai_h016-1520.pdf

<http://plaza.umin.ac.jp/j-jabs/34/34.354.pdf>

脂肪交雑に関する遺伝子の研究

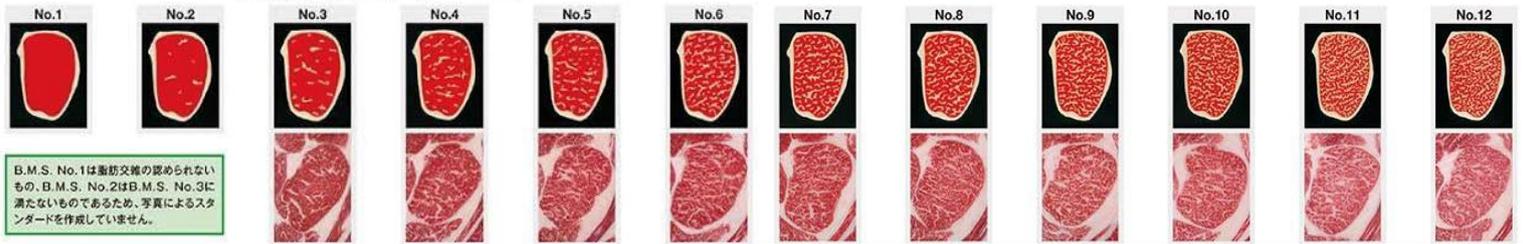
脂肪交雑とは？

筋肉内に脂肪が蓄積したもので**BMS(Beef Marbling Standard)**と呼ばれる12段階の数値で評価される。和牛の9割以上を占める黒毛和種は脂肪交雑に優れており、それは遺伝的要因が関係すると考えられている。

QTL (Quantitative Trait Locus)

数値で表すことができる形質を量的形質と呼ぶ。例えば、乳量、体重やBMSなど家畜の重要な形質は量的形質である。量的形質は複数の遺伝子による効果の組み合わせによって決定している。量的形質を決定している染色体領域を**量的形質遺伝子座 (QTL)**という。

牛脂肪交雑基準 (B.M.S.)



出展：日本食肉格付協会

ウシ常染色体(BTA) 21番

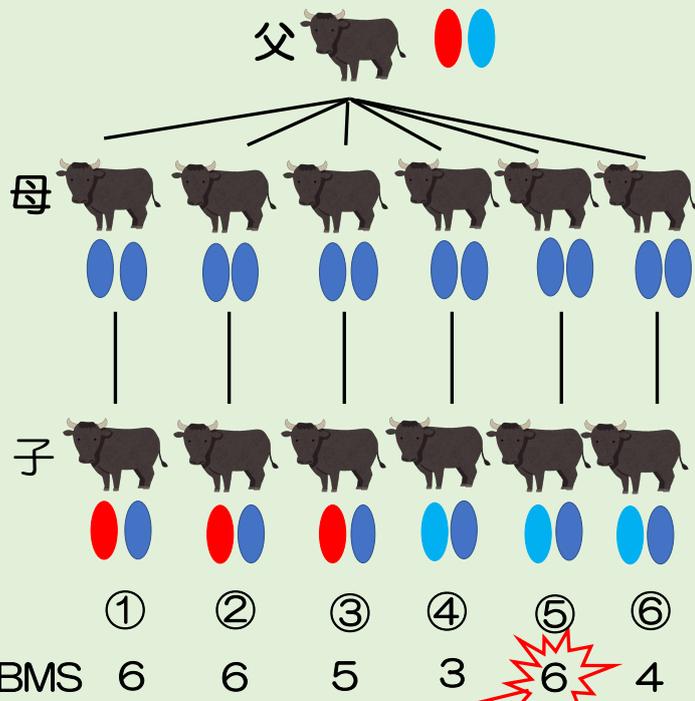
ウシ21番染色体の40cM領域が脂肪交雑に関係しているのではないかと考えて研究を進めている。

脂肪交雑に関するQTLを特定の種雄牛とその産子を用いて探索し、BTA7でQTLが検出された(Marbling -2)。

特定種雄牛の産子で、父由来で優良効果を示すMarbling -2 (赤丸) を持つ3頭、優良効果がないMarbling -2 (水色) を3頭、計6頭を同じ条件で肥育した(右図、その他母由来Marbling-2は青丸)。

〈結果〉

①②③は父親の**脂肪交雑の優良効果を持つ遺伝子型**を持っている→脂肪交雑に優れている。
④⑤⑥は父親の**優良効果がない遺伝子型**を持っているが⑤の牛だけ脂肪交雑に優れていた。⑤だけ優れているのは**母親の遺伝子**が原因と考察解析された。



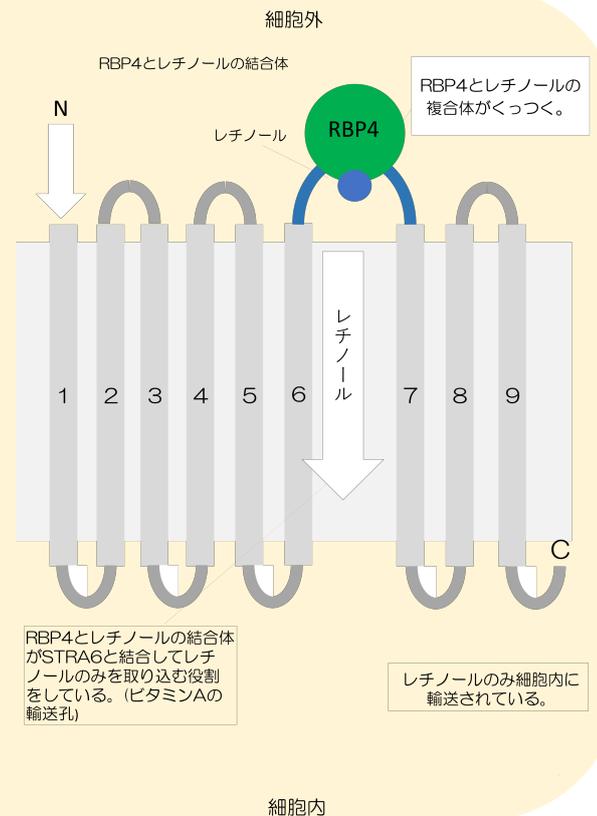
優良効果がない遺伝子型を持っているのに⑤の牛だけBMSが高くなった。

BTA21-40cMが脂肪交雑に関係しているか、DNAマーカーで染色体型を調べることで明らかにしていくことを目的として実験しています。

— BTA21に位置する候補遺伝子解析 —

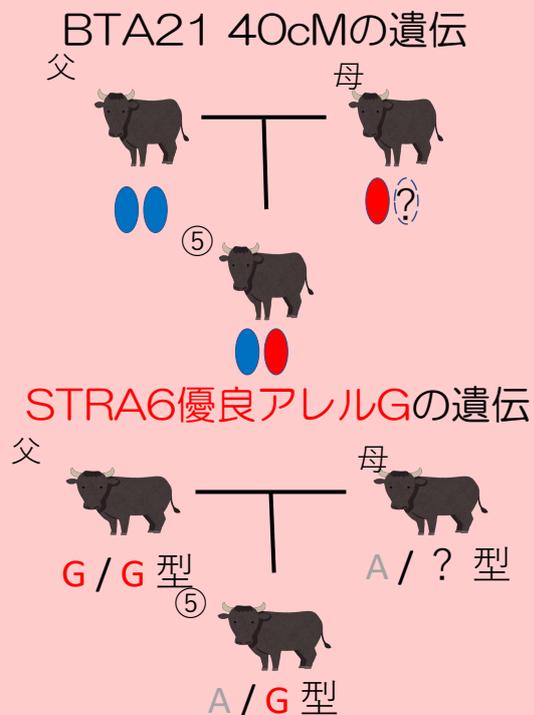
STRA6について

Stimulated by retinoic acid 6 (STRA6) はビタミンA(VA)の一種であるレチノールとRBP4の複合体に対する細胞膜受容体であり、細胞のVA取り込みを促進している。黒毛和種は脂肪交雑を高めるために、肥育中期にVA給与を制限していること、VAは脂肪細胞分化を抑制することから、候補遺伝子と考へて解析した。黒毛和種では七種のSNPsが検出され、これらのうちアミノ酸置換を伴うものはc.866A>G(p.Q289R)のみであった。c.866A>G(p.Q289R)のGアレルは、ウシの生理機能に影響がない程度にSTRA6の機能を低下させ、脂肪細胞分化を促進することで脂肪交雑形成を向上させることが分かった。



なぜ今回STRA6は関係ないと判断したのか

⑤は母親由来のBTA21 40cMの影響で脂肪交雑が高くなることが分かっており、⑤のSTRA6優良アレルGは父親由来で、母親由来ではなかったため⑤の脂肪交雑が高くなった原因はSTRA6ではないと考えた。そのためBTA21 40cMにある新たな候補遺伝子を探し、解析する必要がある。



新たな脂肪交雑候補遺伝子

BTA21 40cMに位置するほかの遺伝子について遺伝子機能を調べ、脂肪細胞分化や筋肉形成などにかかわる遺伝子を探索し、脂肪交雑への影響と⑤との関係をDNA多型を使って調べていく。

搾乳牛の乳房炎に関する遺伝子の研究

乳房炎とは？

- ホルスタイン種等の搾乳牛に見られる乳腺の共通感染症
→ 乳頭より侵入した常在細菌が乳腺組織に炎症をもたらす
- 乳房炎感染牛の乳汁は細菌を多数含むため破棄される
- 乳房炎になったウシは繰り返し乳房炎を発症しやすい
→ どちらも経済的損失が大きい
- 乳房炎に感染すると、細菌抑制因子（好中球）が乳房内に集まる
→ それらが乳汁に移動→ 乳汁中の体細胞数が増加する
- 乳房炎は罹りやすいことと罹りにくい個体がいる
→ 環境因子だけでなく、遺伝的要因が関係すると考えられている

※乳房炎の遺伝率は10%で中程度の遺伝性があるとされている



搾乳牛（ホルスタイン種）in 富士農場

SCS (Somatic Cell Score) 体細胞数スコア

乳汁中体細胞数が増加すると乳房炎症感染率が上昇する。体細胞数をスコア化したSCSが乳房炎感染の指標として利用される。

$$\text{体細胞数スコア} = \text{Log}_2 (X^* / 100) + 3$$

※: X = 体細胞数 (千個/ml)

(家畜改良センターホームページ)

※SCS5以上で感染率50~60%

体細胞数 (個/ml)	評価に用いる体細胞スコア
12,500	0.00
25,000	1.00
50,000	2.00
100,000	3.00
200,000	4.00
400,000	5.00
800,000	6.00
1,600,000	7.00
3,200,000	8.00
6,400,000	9.00
12,800,000	10.00

乳房炎抵抗性遺伝子：FEZL (Forebrain Embryonic Zinc Finger-Like)

SCSを指標として、乳房炎抵抗性が探索された。SCSが1.00以上と4.00以下の雌牛を選抜して解析することで、ウシ22番染色体上に乳房炎関連領域を特定し、FEZL遺伝子が乳房炎抵抗性遺伝子として同定された。FEZL遺伝子が乳房炎抵抗性遺伝子として同定された。FEZL遺伝子には対立遺伝子（アレル）が存在し、12個のグリシン（G）コドンが並ぶ12G型と、Gコドン（CGG）が1つ挿入した13G型が存在する。この12G型は抵抗性型で13G型は感受性型であり、実際に乳房炎に遺伝子が関係することが示された。（杉本真由美 2008年）。

これからやること：TLR4 (Toll-like receptor4) について

これまでに当研究室ではFEZLをはじめとする乳房炎関連遺伝子について、効果検証を行ってきた。今回は、乳房炎は常在細菌感染にて生じるため、自然免疫として生体内のマクロファージや好中球などの働きが重要であることから、これらの好中球やマクロファージの細胞膜タンパク質であり常在細菌のリボ多糖を認識するToll様受容体4（TLR4）遺伝子とSCSの関連を検証する。



これからの実験について
PCRとシーケンスでTLR4多型を型判定し、
遺伝子型とSCSの関係を調べます

引用文献：家畜改良センターホームページ（評価形質：体細胞スコア(nlbc.go.jp)

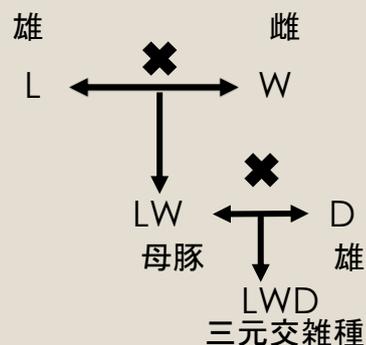
杉本真由美 2008年 第14回動物遺伝育種シンポジウムプロシーディングス

特定農家のLWD，WLDを用いた 枝肉重量に関するTGFB1



LWD，WLDとは？

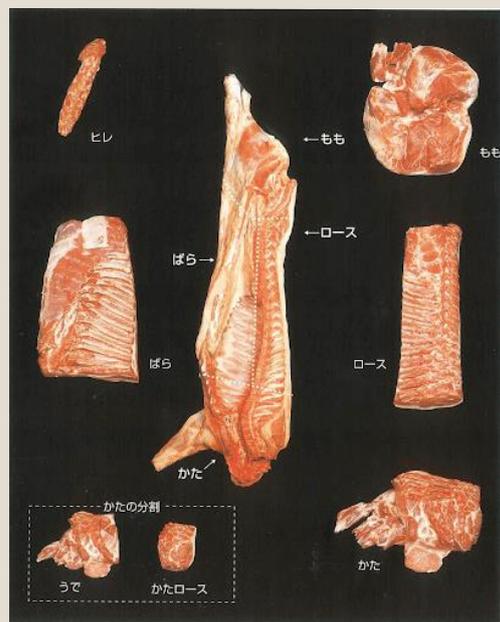
ランドレース種（L雌）と大ヨークシャー種（W雄）
掛け合わせて作った母豚（LW）とデュロック種（D）の
雄を掛け合わせた豚のことをLWD
逆に大ヨークシャー種雌とランドレース種
雄から生まれたWLとデュロック種を掛け合わせた
WLDといいます。三元豚（三元交雑種）と
呼ばれていて日本の豚の約70%（2012年）を
占めているといわれています。



枝肉とは？



枝肉とはと殺後内臓、頭、皮、を取った後
正中線に沿って二つに割ったものをいいます。
枝肉は、日本食肉格付協会によって規格が
定まっています、下から、等外，並，中，上，極上
の5つあり 枝肉重量 外観 肉質の三つの
観点から評価します。
評価が高いほど取引価格が上がるため、
高評価な豚肉を作れば作るほど経済効果は
高くなります。



公益社団法人日本食肉格付協会ホームページ

TGFB1



トランスフォーミング増殖遺伝子（TGFB）は、サイトカインと呼ばれる情報伝達物質
で、その作用は極めて多様に細胞増殖、分化、細胞の機能調節に関与しています。
イノリイ大学の研究で梅山豚とヨークシャー種の系統を用いて、発育、繁殖性、と体系
質の各形質情報とTGFB1遺伝子の3つのSNP（SNP1：エクソン1
SNP2：イントロン4，SNP：イントロン6）の関連性について報告している。
この中で、SNP1，2はロース芯面積に関連していました。
1008頭の豚集団においてもSNP1,2に背脂肪厚、赤身割合、肉色に関連している
という報告があります。（1）
日本国内の三元交雑種でも同様の研究が行われSNP1,2の多型調査が行われ、平均値に
有意差が確認されています。（2）

この実験の目的

特定農家の豚集団を用いてTGFB1のSNP1,2の多型判定を行い、平均値の有意差
の有無を調べます。
この研究を通して今後特定農家の養豚業を優位に進めるために肉眼では見えない部
分に注目することで、生産性や経済面にアプローチをかけていこうと考えています。

(1) Kefei Chen1, Rachel Hawken2, Gall H. Flickinger3, Sandra L. Rodriguez-Zas1, Laurie A. Rund1, Matthew B. Wheeler1, Mitch Abrahamsen3, Mark S. Rutherford3, Jonathan E. Beever1, and Lawrence B. Schook1,4
ASSOCIATION OF THE PORCINE TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA TYPE I RECEPTOR [TGFB1] GENE WITH GROWTH AND CARCASS TRAITS Animal Biotechnology, 23: 43–63, 2012

(2) 島貴伸1・伊藤智仁1・八日市屋敏之2・重良素史2・水野博晶2・尾池一伸2・黒木一仁1・塗本雅信1・津田一彦2・木村博久1 トランスフォーミング増殖因子1型受容体遺伝子多型と三元交雑豚（WLD）の枝肉形質との関連性について
日本養豚学会誌2015年3月6日受付，2015年8月10日

うずらの系統について

本研究室のうずらは、血清中IgG濃度の違いによる2つの系統、羽の色の違いによる3つの系統、神経疾患を発症する1つの系統、計6つの系統に分けられています。

- 正常血清中IgG濃度による系統、高いものはA系、低いものはB系として40数年前に確立された。
- 野生羽色とは異なる羽色による系統、黒色のK系、パンダ羽装のP系、黄色のY系。
- 神経疾患を発症する系統はND系としています。

IgG(免疫グロブリンG、Immunoglobulin G) とは

IgGとは、抗体の一種です。抗体は体内に侵入してきた異物の抗原に特異的に結合し、生体内から除去する分子で、Y字型ユニットの数や重鎖の種類に基づき、IgG、IgM、IgA、IgD、IgEの5つのクラスに分けられています。その中でもIgGは血液中に最も多く含まれています。鳥のIgGは母鳥から卵黄に移行する、哺乳類とは少し異なる構造をしていることからIgYと呼ばれます。



野生型
A,B,ND系



K系



P系



Y系

うずらの雌雄判別について

うずらの雄の尻にはクロアカ腺という器官があります。これの有無、もしくは胸部の斑の有無によって雌雄を判別することができます。

クロアカ(cloaca: 総排泄腔)とは、直腸・排尿口・生殖口を兼ねる器官です。雄にはクロアカと尾の間にクロアカ腺があります。



ココが総排泄口

雌



クロアカ腺

雄



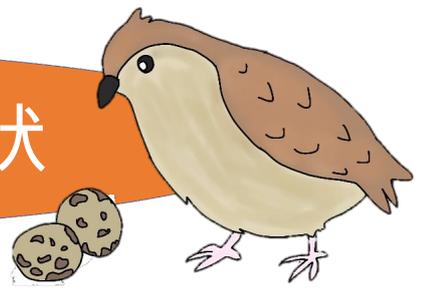
孵ってすぐから1週位まではふわふわの羽毛だけ

胸部に黒い斑点がある



産まれから2,3週。成鷄と同じような羽に変わり始めた。まだ頭の一部に生まれたてのころのふわふわの羽毛が残っている。全ての個体が胸の羽に斑がある。

異常卵ウズラの生理的性状



異常卵とは？

卵殻は約95パーセントがカルシウムで構成されており、卵管の子宮部と呼ばれる場所でカルシウムの沈着が起こることにより形成されます。子宮部での滞在時間が短かったりすることで卵殻が正常に形成されずに産みだされてしまったり、卵巣から卵子が排出される前に卵白や膜、卵殻が形成されてしまうことがあります。このような卵の総称を異常卵と呼びます。

正常卵



★卵管の通過速度や回転数によって様々な模様が表れます。姉妹同士などで卵の模様が似ていたりすることから、色素をつくる器官が遺伝によって決まると考えられています。

破卵



•殻にひびが入った状態で排卵され、産卵前後に割れてしまいます。

軟卵



•殻が卵殻、または卵殻膜上に薄くカルシウムが沈着した、柔らかい状態で産まれます。

その他異常卵



•卵黄がなかったり、逆に複数ある、模様がでない、など様々な種類があります。
(↑写真右は二黄卵、左が正常卵)

卵形成

卵巣

卵胞：卵黄成分を含まない白くて小さいものから卵黄成分を蓄え始めて大きくなっていったものまであり、そのうち一番大きい卵胞が開裂することにより排卵が起こる

漏斗部：
外卵黄膜が形成される

峡部：
卵白の上に卵殻膜が形成

子宮部：
水分が卵白に付与される。卵殻が形成される。

★卵巣内の卵胞から排出された卵子は卵管の内部を約22～25時間かけて通り抜け、総排泄腔から放卵されます。

総排泄腔

膣部：
粘液を分泌して放卵を容易にする

膨大部：
水分の少ない濃厚卵白が分泌され、卵黄周囲に付与される

異常卵ウズラの生理的性状についての研究

•研究目的

異常卵を産むウズラの生理的性状について調べることが目的です。

•研究方法

ウズラ舎の湿度と温度、ウズラの体温と体重、産んだ卵の長径と短径をそれぞれ調べ、その結果を正常卵を産んだ個体と異常卵を産んだ個体で比較します。

参考文献

鈴木貴嗣「異常卵ウズラの生理的性状」『東京農業大学令和二年度卒業論文集』p.3、p.9

桑山岳人・田中克英「ニホンウズラにおける排卵時間と卵の卵管内滞留時間」『東京農大農学集』p.31-33

日清丸紅飼料株式会社「鶏の産卵生理について」(2017年4月) http://mn-feed.com/technical-info/support-topics/detail_post_3.html 10月17日

ニホンウズラの免疫に関連する研究

自然免疫：動物の体にとって不都合な異物の侵入や自己の壊れた細胞などを監視し、排除する免疫システムの最前線。

自然免疫の役割を担う細胞：樹状細胞、マクロファージ、好中球、ナチュラルキラー細胞
 本研究室では**マクロファージ**のうち腹腔マクロファージの形態と貪食能(図1,2,3:電子顕微鏡写真)について研究されている。



図1. 非活性状態のマクロファージ

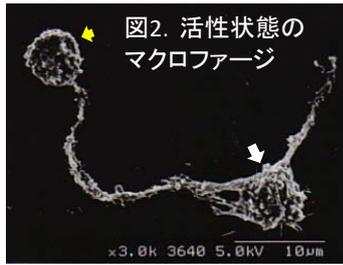
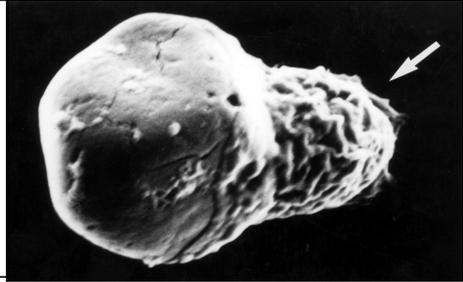
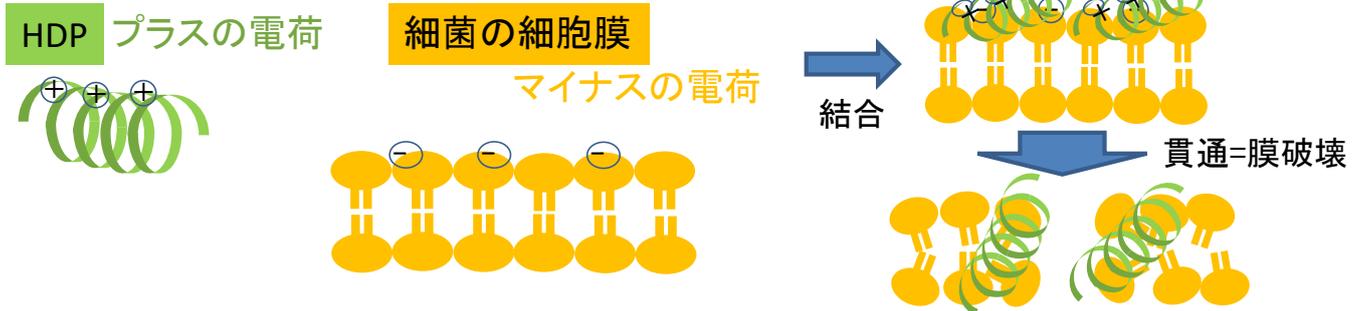


図2. 活性状態のマクロファージ

図3. ウズラのマクロファージ大きな異物も細胞質・膜を広げて包み込むように貪食している様子。



排除には **宿主防御ペプチド (HDP)** も働いている。HDPは細菌の細胞膜に結合して膜を破壊し、抗菌あるいは殺菌する。鳥類の主要なHDP4つ(鳥類βデフェンシン、グラニューライシン/NK-lysin、カテリシジン)を生理研のウズラで調べられ、ニワトリと同様にβデフェンシンではアミノ酸置換による抗菌活性の違いが示されている。



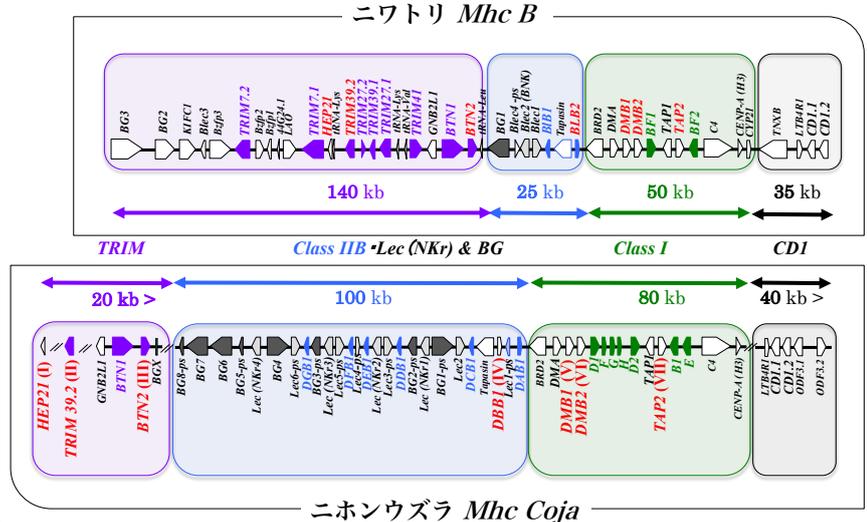
★不都合な異物であることを見極めている分子はパターン認識受容体(TLRについてを見て下さい)。

獲得免疫：自然免疫系の細胞からの情報提示により抗体を産生し、再び同じ異物侵入・攻撃に素早く対応できる記憶と異物特異的な情報による応答を司令塔となる細胞によりコントロールされている免疫システム。

情報は**主要組織適合遺伝子複合体 (MHC)**で直接異物のペプチドを結合して、獲得免疫で働くリンパ球の助け役や制御役のT細胞に提示している。

ニワトリではこのMHC遺伝子の型によって抗体産生能が異なることが解っていたから本研究室ではウズラで調べてみた。その結果、ニワトリMhc(B領域)よりもすごく複雑で多様であることが解り、その遺伝子領域に**Coja**と名付けました。

ニワトリMhc B領域とニホンウズラ Mhc Coja 領域の比較



参考：
 独立行政法人科学技術振興機構 <http://www.ist.go.jp/>
 山本一彦監修, 萩原清文著『好きになる免疫学』講談社
 Ishige T, et al. 2016b. Animal Science Journal, 87: 311-320.

Toll様受容体 (Toll-like receptor :TLR)

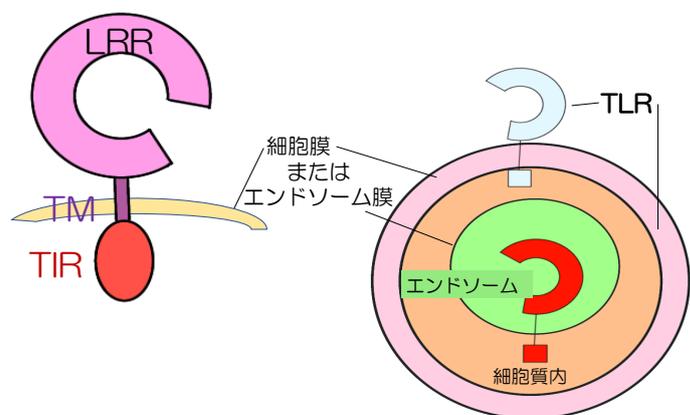
はじめに

自然免疫応答とは生まれながら備わっている免疫応答であり、自然免疫応答を担う細胞たちは、触れた相手が敵か否かを大まかに構造のパターンを認識する。

自然免疫応答は多くの病原体に共通するパターンを認識する。このようなパターンを認識する自然免疫応答に利用されるアンテナをパターン認識受容体という。TLRはその一つです。

TLRの構造

TLRとは脊椎動物の免疫応答の誘導に重要なシグナル伝達型のパターン認識受容体で細胞膜表面、細胞質にあるエンドソームの中に存在している。その基本構造はパターンを認識する部分がある(LRR)、膜貫通部分(TM)そしてシグナル伝達部となるTIRからなっている。認識留守パターンによ



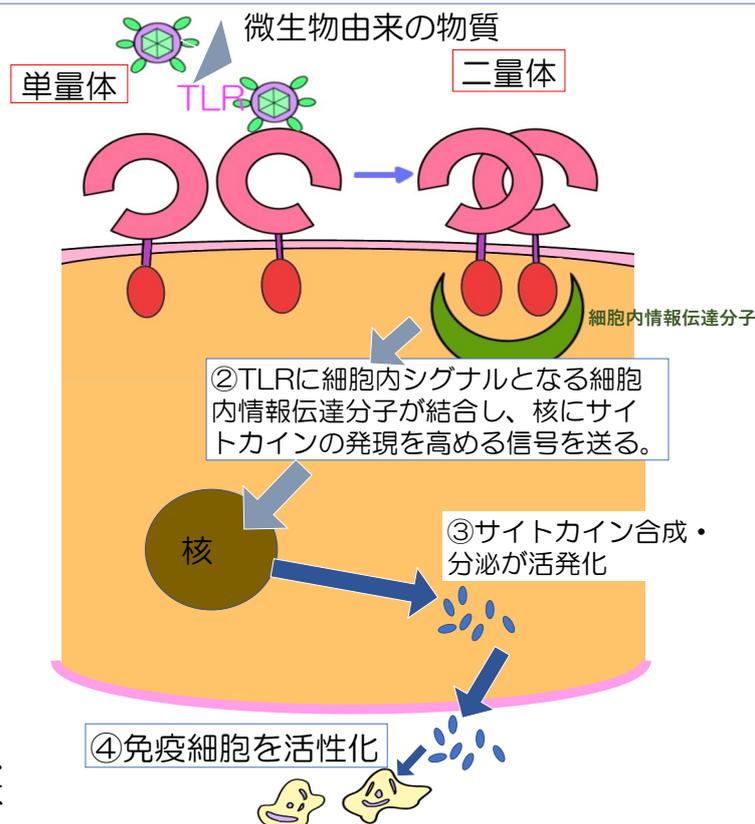
TLRの種類

ヒトのTLRは表に示した10種類 (TLR1~10) があり、マウスは12種類 (TLR1~9, 11~13)、ニワトリは10種類 (TLR1 type1,type2, TLR2 type1,type2, TLR3, 4, 5, 7, 15, 21) が同定されている。それぞれのTLRはウイルスや細菌、真菌、寄生虫固有のパターンを認識する。

TLR	認識する微生物の成分	代表的微生物
1+2	トリアシルリポペプチド	グラム陽性菌
2+6	ジアシルリポペプチド	マイコプラズマ
2	ペプチドグリカン	グラム陽性菌
3	2本鎖RNA (dsRNA)	RNAウイルス
4	リポ多糖 (LPS)	グラム陰性菌
5	フラジェリン	鞭毛をもつ細菌
7, 8	1本鎖RNA (ssRNA)	RNAウイルス
9	非メチル化CpG DNA	DNAウイルス、細菌
10	(偽遺伝子)	

TLRの活性化

①微生物由来の物質を結合すると二量体になる



TLR15

TLR15は鳥類特有のTLRであり、真菌および細菌の溶菌にともなって分泌される微生物由来プロテアーゼ (タンパク質を分解する酵素) の働きによって細胞外領域が分解されることで活性化されるという報告がある。

参考文献: Amy C. Boyd, Marylene Y. Peroval, John A. Hammond, Michael D. Prickett, John R. Young and Adrian L. Smith
J Immunol November 15, 2012, 189 (10) 4930-4938; DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1101790>

本研究室では同じ環境下で閉鎖集団として飼育管理されているニホンウズラ6系統の正常血漿中IgG濃度を調べ、倍以上の濃度差があることが解った。その違いが生じる原因を突き止める一端として、鳥類特有のTLR15に着目し、まずは遺伝子のDNA多型を探索した。そして1箇所の塩基置換によるアミノ酸型が異なるとTLR15のmRNA発現量が異なることが示されている。このことと血漿IgG濃度高低差が関連している可能性が示唆されている。これをさらに明確にするために研究しており、他にTLR4,TLR3についても同様に研究されている。

血液中の細胞：白血球

白血球の役割



白血球は血液などに含まれる細胞です。役割は、動物の体内に侵入した細菌やウイルスなど自己ではないものの侵入の監視や排除、侵入した異物を記憶しておくことです。

哺乳類の白血球は、大きく分けて、好中球、好酸球、好塩基球、単球、リンパ球の5種類があります。鳥類も5種類ですが、好中球の代わりに偽好酸球という好酸球に似た細胞があります。

ウズラの白血球

本研究室で作製されたマイ・ギムザ染色によるウズラの白血球像です。

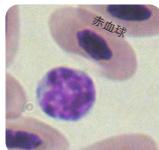
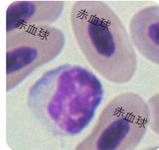
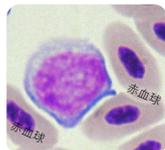
リンパ球

リンパ球は大きさの違いから「大」「中」「小」に分けています。

大リンパ球

中リンパ球

小リンパ球

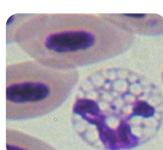
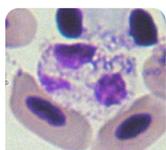
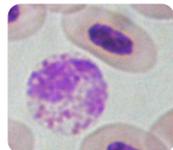


偽好酸球

(顆粒あり)

(顆粒なし)

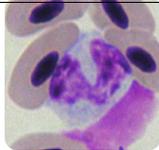
(空胞あり)



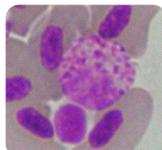
「顆粒なし」の状態は偽好酸球の大きな顆粒が異物を貪食した直後で、小さい顆粒は残っているのですが明確に見えない状態です。空胞ありは顆粒なし状態よりも後の状態で食空胞が残っている状態です。

単球

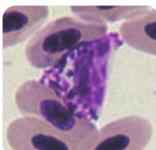
単球はマクロファージの末梢血中での姿です。



好酸球



好塩基球



鳥類の好酸球は偽好酸球よりも顆粒が明確で、好塩基球の顆粒に比べ、薄く染まります。偽好酸球とは役割が異なります。

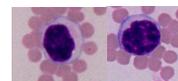
本研究室で作製されたギムザ染色によるヤギの白血球像です。

ヤギの白血球像

リンパ球

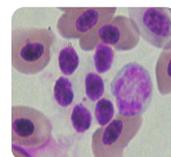
単球

単球



好塩基球

栓球 (左)



鳥類の栓球は哺乳類の血小板の役割、血液凝固に関わるだけでなく、食作用も有するものがあります。

白血球の数や割合から解ること

白血球の種類	ヒト(基準値)	採卵鶏(平均値)
好中球	40~70%	16.5~19.9%
好酸球	0~7%	0.9~4.1%
好塩基球	0~1%	1.8~2.7%
単球	2~7%	3.6~9%
リンパ球	25~45%	64.5~75%

動物が正常な、健康な状態の時の各白血球の数・割合には範囲があります。この基準値は動物ごとに異なるものの、その時の健康状態などを反映している為、基準値からの増加・減少が起こると、何らかの症状や影響が出てくる場合が多いです。



また、白血球は、異物の排除を行ってくれる細胞である為、病気などをすると数が増加・減少します。しかし、白血球数の増加・減少は単に病気だけでなく、体内の恒常性に関わる変化、代謝異常や循環器系などによっても変化していきます。その為、ヒトとどのように動物の恒常性維持の状態を知るための指標になります。ウズラでは幼雛から成熟まで、また、細菌の主要成分に対する応答による変化を調べています。

参考文献：鶏の健康時および病態時の血液学的ならびに血液化学的 データ
<https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010910708.pdf>

鳥の血液・細胞診検査マニュアル 梶ヶ谷博 監訳,テリー・W. カンブル著 1990, Inter Zoo出版

家畜における外科的去勢について

◆去勢とは

精巣や卵巣などの持つ機能を働かなくさせることを目的に行う処置。

◆なぜ去勢が必要なのか

→肉に蓄積される**雄特有の臭い**や
闘争・発情行動を防ぐために行う

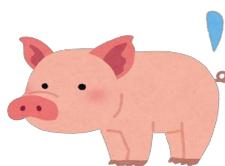
群飼育や管理が
しやすくなる



△豚の発情行動

◆外科的去勢とは

豚で一般的な去勢方法：**観血去勢法**
→陰嚢をメスなどで切開し精巣を直接取り出す
同時に強い痛みやストレスを伴う。



痛みやストレスを
軽減するには…



外科的去勢に代わる方法として
免疫学的去勢が誕生

インプロバックによる免疫学的去勢について

◆インプロバックとは

1988年にオーストラリアで開発された
免疫学的去勢剤。豚の**免疫機能を応用**し
て**一時的に精巣の機能を抑制**する働きを
持つ。日本での使用例は少ない。

投与した肉を人が食べても安全な成分

免疫学的去勢の特徴

動物が**本来持つ免疫機能**を利用する

- ① 注射での投与が可能
- ② 外科的去勢に比べ大幅な苦痛の軽減
- ③ 畜体、人体共に少ない負担で実施できる

→家畜が受ける**痛みを最小限に抑える**方法として動物福祉の観点からも期待されている。

◆投与時期と回数

1回目
(8週齢以降)

2ml投与



4週間以降

豚の免疫を
準備させる

2回目
(12週齢以降)

2ml投与



投与後に反応し
免疫応答を
引き起こす
→**精巣機能を抑制**

出荷4週間前

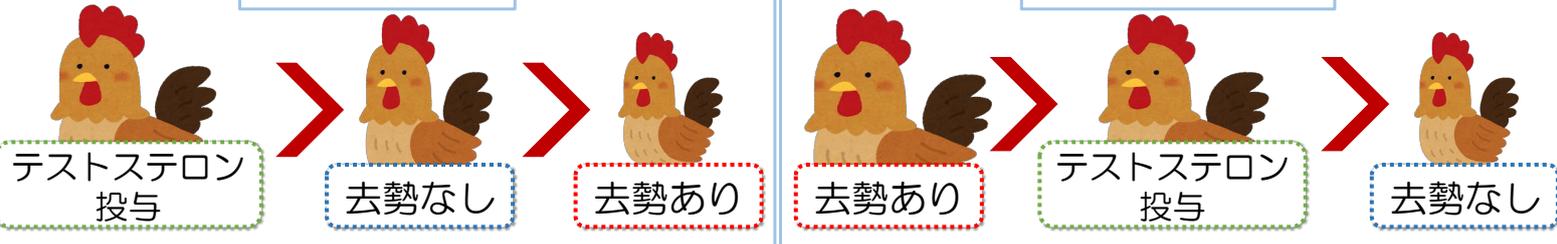
外科的去勢を施した鶏の変化について

◆去勢鶏の総筋肉重量と腹部脂肪重量の調査

ニューハンプシャー種、横斑プリマスロック種を各品種ごとに比較

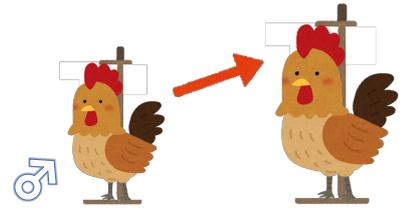
総筋肉重量

腹部脂肪重量



◎性成熟を迎える30~31週齢週で最も差が顕著になる

→雄鶏は性成熟を迎えると骨格筋が著しく発達する



雄鶏を去勢すると

通常の雄鶏と比べて

筋肉の割合が減る ↓

腹部脂肪の割合が増える ↑



テストステロンの役割

タンパク質の蓄積を促す



脂肪の代謝を促す



テストステロンをはじめとした雄性ホルモンは

骨格筋の発達 **脂肪の代謝** に影響を与えていることが明らかになった



尾野喜孝ら (1979) 「去勢鶏の骨格筋成長に関する研究」 <https://doi.org/10.15017/23292>より

岩元久雄ら (1977) 「鶏骨格筋重量の性成熟期における変動の品種および性差について」 https://doi.org/10.2508/chikusan.48.10_522より

家禽への免疫学的去勢の応用

鳥類の精巣は体内に位置する (右図) ため外科的去勢には高度な技術が必要

→**家禽への免疫学的去勢の応用**が検討されている

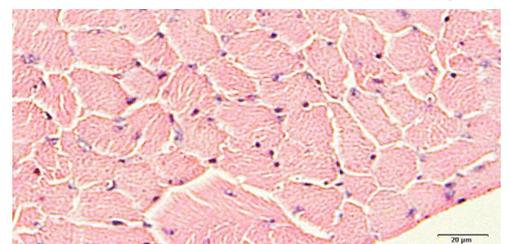
今後の研究ではウズラの筋繊維に着目

→ウズラにインプロバックを投与し

深胸筋及び浅胸筋の筋繊維を観察
(ささみ肉) (むね肉)



精巣の位置



△ウズラの浅胸筋断面

ウズラの筋肉の発達と雄性ホルモンの関係性について調査する

ブランド卵について

ブランド卵ってなに？

多様な価値観の時代、いろいろな卵の中から好みにあった卵を選びたいという消費者のニーズに応え、付加価値のついた卵のことを指す。
世界中で開発が進みその数は年々増加しているが、日本だけでも現在1500種類以上が販売されている。

どんな種類があるの？

- ① 特殊卵と呼ばれている栄養強化卵
- ② 放し飼いななどの鶏の飼育の仕方や与える餌で差別化を図ったもの
- ③ 安全性を打ち出して差別化を図ったもの



① 栄養強化卵



現在販売されている栄養強化卵の種類

輸送・吸収

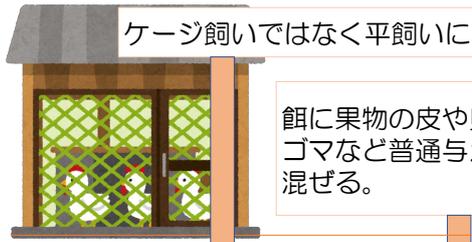
栄養区分	具体的な化合物
ビタミン	ビタミンA・D・E・葉酸
ミネラル	鉄分・ヨウ素・セレン
脂肪酸	α-リノレン酸・EPA・DHA・共役リノール酸
カロテノイド色素	ルテイン・ゼアキサントシン・リコペン・β-カロチン・アスタキサントシン
その他	大豆イソフラボン

含まれる栄養素（オレンジに変わっている栄養素）が1つでも国（消費者庁）の基準を満たしていると**栄養機能食品**と表示できる

栄養素	栄養学的役割
ビタミンA	夜間の視力、皮膚や粘膜の健康の維持を助ける。
ビタミンD	カルシウムの吸収を促進し、骨の形成を助ける。
ビタミンE	細胞の抗酸化作用により体内の脂肪を守り、健康を維持する。
葉酸	赤血球の形成を助ける。また胎児の正常な発育に寄与する。
鉄分	赤血球の形成に多量に必要。

②飼育環境・餌による差別化

色や質・栄養素・風味などが変わる



餌に果物の皮や貝殻（粉）
ゴマなど普通与えないものを
混ぜる。



有精卵



現在有精卵と無精卵の栄養価で化学的な差は発見されていないものの消費者の間では有精卵の方が栄養価が高いとされているため付加価値の1つとなっている。

のびのび適度な運動をして育つため、卵の質や味の向上がみられる

海藻（ヨウ素）やミカンジュース粕（ビタミンE）、エビ・カニの粉碎した甲殻（アスタキサンチン）を飼料に混ぜることで①の栄養強化卵の役目を果たすものと、ハーブやゴマ、スパイス、果皮による風味の向上を図ったものに分けられる。

③安全性による差別化

生食が可能な期間を延ばしたり、安全性を保障している、と表示ができる

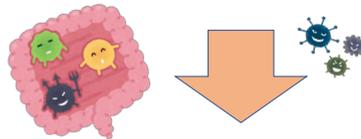


サルモネラのワクチン

雑菌の侵入を防ぐクチクラ層を傷つけるような洗浄（強いブラッシングなど）を行わない



サルモネラ菌（食中毒菌）を不活性化させたものをワクチンとして鶏に注入し、体内に抗体を作らせて菌を撃退する。
ワクチン接種済みの表記（赤いライオンマークのシール）をするアメリカに比べ日本の養鶏業界にはそのような決まりはないため、市場に出回っているどの卵がワクチン接種済みかわからない。



そのためサルモネラワクチン接種済みの表記がされた卵は安全性が保障された付加価値がついて、ブランド卵として日本で成り立っている。



引用・参考文献

畜産の情報一調査・報告—2005年8月 月報国内編
「掲載しているブランド卵について」
飼料学（44）畜産学の研究61巻12号より



スクレイピーとその抵抗性を持つ遺伝子

そもそもスクレイピーとは？

スクレイピーはヒツジやヤギの伝達性海綿状脳症で、宿主の正常型プリオン蛋白質が異常型プリオン蛋白質に構造変化することによっておこる病気です。発症したとき激しい痒みによってあらゆるものに擦りつけることから英語でscrapieと名付けられました。この病気が確認されたのは18世紀のイギリスです。ウシなどの反芻類やヒトにも同様の病気があります。プリオン蛋白質とは体内に常に存在する蛋白質で主に脳、神経細胞に発現します。基本書はありませんが、異常型に変化すると凝集し細胞を死に至らしめます。異物として認識されないので免疫反応が起こらないかつ、タンパク質分解酵素への高い抵抗性により分解されません。また現在治療法はありません。現在イギリスは遺伝的にスクレイピーに抵抗性のあるヒツジを使用した繁殖を推進しています。

スクレイピーと遺伝子の関連性

羊にはスクレイピーはプリオン遺伝子によって定められています。プリオン遺伝子の三カ所のアミノ酸の違いによってスクレイピーに対して抵抗性、ノーマル、感受性を持つ個体に分かれています。三カ所のアミノ酸は（コドン136、154、171）でコドン136にバリンが発現すると感受性を持つことになり、コドン171にアルギニンが発現すると抵抗性を持つことになります。



これらのアレルの組み合わせでスクレイピーの発症するリスクが変わります。右の表は2008年時点で確認されているパターンとそのグループ、発症リスクをまとめた表です。

本研究の目的

本研究室は「有限会社 ジャパン・ラム」との共同研究で、プリオン遺伝子の塩基配列を解析しています。抵抗性の個体と感受性の個体には三カ所のコドンの差が発見されています。そこで2022年度の遺伝子保有数の統計を取り、アレル頻度の推移を明確にすることです。また他に要素がないかを遺伝子型を用いて調べることです。

遺伝子型	NSPグループ	発症の危険性
ARR/ARR	1	非常に低い
ARR/AHQ	2	低い
ARR/ARH		
ARR/ARQ		
AHQ/AHQ	3	普通
AHQ/ARH		
AHQ/ARQ		
ARH/ARH		
ARH/ARQ		
ARQ/ARQ	4	普通
ARR/VRQ		
AHQ/VRQ	5	高い
ARH/VRQ		
ARQ/VRQ		
VRQ/VRQ		

上図：DAWSON *et al.* Vet Res.2008より引用