

牛胚の少数割球での性判定におけるLAMP法の有効性					
[要約] 牛胚の性判定において、LAMP法は1～4割球での判定が可能であり、従来のPCR法の判定率と同等以上である。					
担当部署	家畜部・畜産工学チーム			連絡先	092-925-5232
対象作目	乳用牛・肉用牛	専門項目	バイテク	成果分類	研究手法

[背景・ねらい]

乳牛において、16～32細胞期胚をドナー胚とする受精卵核移植では、胚の性を判定するために、出来るだけ少ない割球で性判定することが必要となる。しかし、PCR法は10個程度の割球を必要とし、判定方法の特性から雄胚を雌胚と判定する傾向にある。

最近、新しい遺伝子増幅法として開発されたLAMP(Loop-Mediated Isothermal Amplification)法は、増幅感度が高いため、ごく少数の割球による性判定が可能と考えられる。そこで、LAMP法を利用して、少数の割球での性判定の有効性を明らかにする。

(要望課題：畜産課(H11))

[成果の内容・特徴]

1. 従来のPCR法と比較して、LAMP法の判定率は同等である(表1)。LAMP法は、濁度計で遺伝子増幅産物の濁度を測定するため、PCR法に比べて誤判定が少ない(図1)。
2. LAMP法は、2～4個の複数の割球だけでなく、単一の割球においても性判定が可能である。また、同一胚においては、全て性が一致しており、判定精度が高いことから、受精卵をドナー細胞とするとき、割球を有効に利用できる(表2)。

[成果の活用面・留意点]

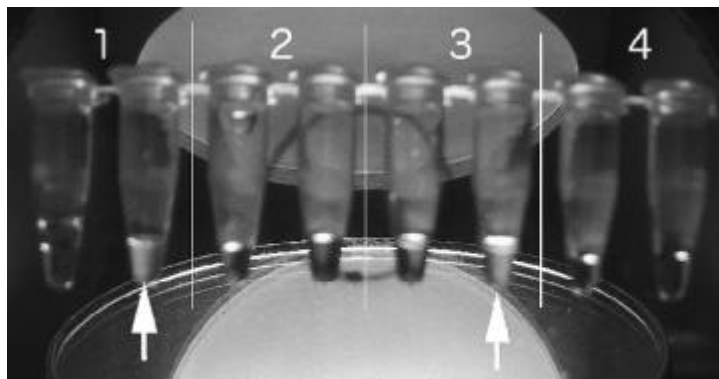
1. 受精卵割球をドナー細胞とする機関において活用できる。

[具体的データ]

表 1 同一胚における性判定 (平成14年)

区	サンプル数	性判定		
		計		
PCR	15	15(100)	6	9
LAMP	15	15(100)	5	10

注) 1 . 供試胚 体外受精胚(day8,9)、胚を2分割して、判定に供試
 2 . PCR X,Yセクター,LAMP Loopamp牛胚性判別試薬キット
 参考データ: 性判定率 PCR 85%、LAMP 98% (全国会議資料)



1,3 8Cellの1割球、2,4 ブランク
 各サンプルのチューブ L: 雄特異的プライマー
 R: 雌雄共通プライマー
 →: 混濁したチューブ 結果 1,3 雌判定

図 1 LAMP法におけるチューブの濁り具合

表 2 LAMP法における同一胚由来の少数割球での性判定 (平成14年)

割球数	胚							判定数 / 検査数
	A	B	C	D	E	F	G	
1								7/7
2								7/7
3								7/7
4								7/7
判定一致	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	

注) 胚 A ~ G の割球を単離し、各割球数でサンプリング

[その他]

研究課題名: クローン胚の安定生産技術

予算区分: 経常

研究期間: 平成14年度 (平成11~14年)

研究担当者: 上田修二、森美幸、笠正二郎

発表論文等: 平成14年度畜産関係試験成績書