

**[成果情報名]**「横斑プリマスロック」および「軍鶏」からの効率的な始原生殖細胞の採取技術

**[要約]**「横斑プリマスロック」、「軍鶏」は、発生ステージ13~16の種卵から1胚あたり約40個以上の始原生殖細胞を採取でき、孵卵時間は季節による影響を受ける。凍結保存後に生存始原生殖細胞が回収できる割合は、「横斑プリマスロック」では約7~8割、「軍鶏」では約6~7割程度である。

**[キーワード]** 横斑プリマスロック、軍鶏、季節、孵卵時間、始原生殖細胞、発生ステージ

**[担当]**福岡県農林業総合試験場・畜産部・中小家畜チーム

**[代表連絡先]**092-925-5232

**[分類]**普及成果情報

**[背景・ねらい]**

当場では、はかた地どり、はかた一番どりの原種鶏である「横斑プリマスロック」、「軍鶏」を保有しており、近交係数の上昇による不良形質発現や家畜伝染病等が発生した場合の遺伝資源の消失が懸念される。雄では、凍結精液を用いた遺伝資源保存技術を確立している。一方、雌については卵子や胚の凍結保存が難しいため、遺伝資源として始原生殖細胞を保存する必要がある。しかし、始原生殖細胞を種卵から採取できる期間や採取数は鶏種により異なること、また環境要因の影響を受けることが課題となっている。そこで本研究では、「横斑プリマスロック」および「軍鶏」から始原生殖細胞を効率的に採取するために、適切な孵卵時間を明らかにする。

**[成果の内容・特徴]**

1. 「横斑プリマスロック」、「軍鶏」において、発生ステージ13~16の胚から始原生殖細胞を採取できる。採取できる始原生殖細胞数は、発生ステージによる差はないが、雄より雌の方が多い(図1)。
2. 「横斑プリマスロック」、「軍鶏」の種卵において、季節別に孵卵時間ごとの胚の発生ステージ(Hamburger & Hamiltonによる分類)の割合を図2に示す(図2)。「横斑プリマスロック」、「軍鶏」の種卵から始原生殖細胞を採取するのに適した孵卵時間は52~58時間であるが、冬期の「軍鶏」では54~60時間が望ましい。
3. 緩慢法で凍結融解後、生存している始原生殖細胞の回収率は、発生ステージ、性別による差は認められず、「横斑プリマスロック」では73~80%、「軍鶏」では66~74%である(図3)。

**[普及のための参考情報]**

1. 普及対象：福岡県農林業総合試験場
2. 普及予定地域・普及予定面積・普及台数等：福岡県農林業総合試験場で保有する「横斑プリマスロック」、「軍鶏」
3. その他：
  - 1) 当場で保有する原種鶏の遺伝資源の保存技術として活用する。
  - 2) 始原生殖細胞は、胚の背側大動脈から血液を採取し、密度勾配遠心により血液中に含まれる始原生殖細胞と血球等を分離して得られる。
  - 3) 原種鶏を復元する際には、採取・保存した始原生殖細胞をレシピエントとなる他品種の胚に移植して生殖系列キメラ鶏を作出し、交配して後代を得る必要がある。
  - 4) 始原生殖細胞を採取する胚の性別と、キメラ胚を作製する際に始原生殖細胞を移植するレシピエント胚の性別を一致させることで、キメラ胚の生存率を高めることが期待できる。
  - 5) 採取できる始原生殖細胞数については品種間差・系統間差があることを留意する。

[具体的データ]

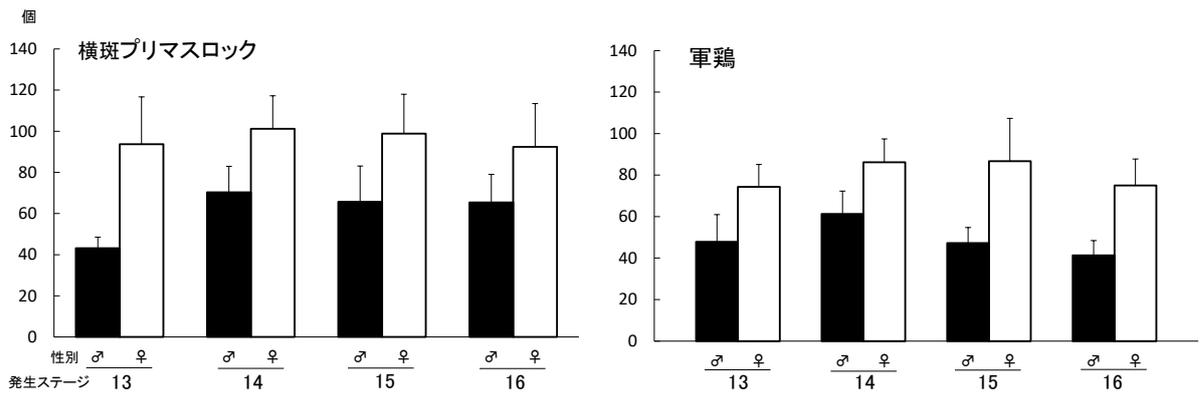


図1 「横斑プリマスロック」と「軍鶏」における始原生殖細胞採取数

- 注) 1. 試験期間：2022年10月～2023年10月  
 2. 始原生殖細胞の計測方法：胚から全血採取後、密度勾配遠心法により始原生殖細胞を分離して目視で計測  
 3. 雌雄判別：始原生殖細胞を分離した後の血液からDNA抽出、PCR法により実施  
 4. 棒グラフは1胚から採取した始原生殖細胞数の平均値、各縦線はその標準誤差を表す  
 5. 供試数：「横斑プリマスロック」発生ステージ13 (♂12 ♀7)、14 (♂7 ♀11)、15 (♂16 ♀13)、16 (♂17 ♀8)、「軍鶏」発生ステージ13 (♂7 ♀18)、14 (♂12 ♀15)、15 (♂5 ♀13)、16 (♂14 ♀12)  
 6. 統計：二元配置分散分析 (発生ステージ ns、性別 p<0.01、交互作用 ns)

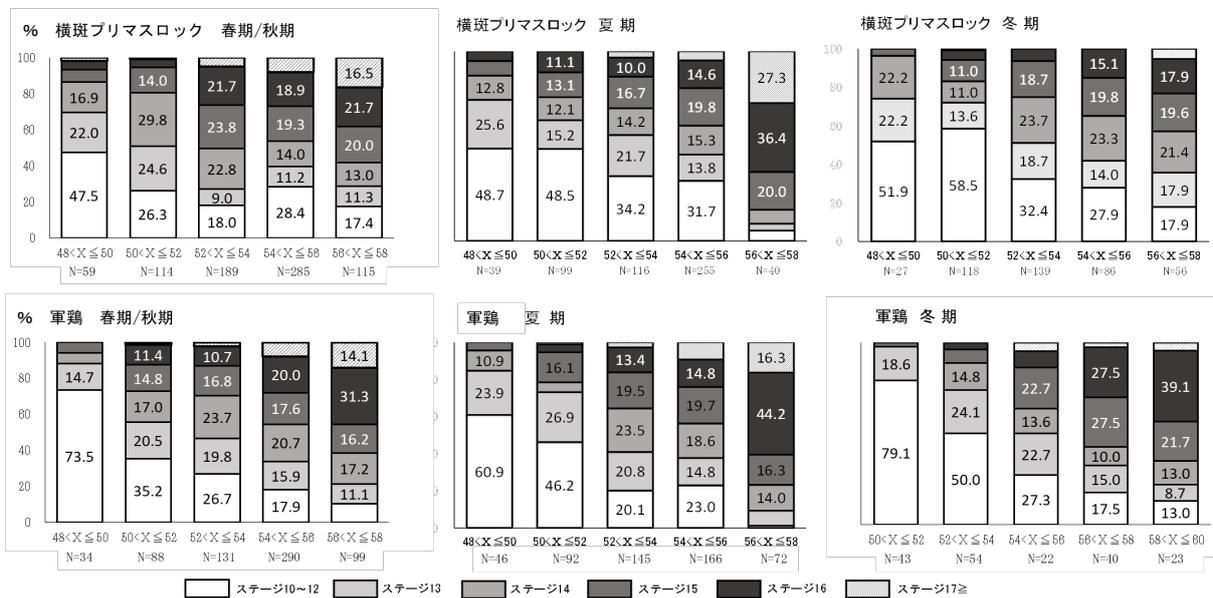


図2 種卵の孵卵時間と胚の発生ステージ割合

- 注) 1. 試験期間：2021年12月～2024年2月  
 2. X：孵卵時間 (h)、N：供試卵数 (無精卵、ステージ10未満の胚は除外)  
 3. 季節3区 (春期/秋期 3月-5月/9月-11月、夏期 6月-8月、冬期 12月-2月)  
 4. 孵卵条件：孵卵温度 37.5℃、相対湿度 50-60%、転卵角 90℃、転卵 1回/h

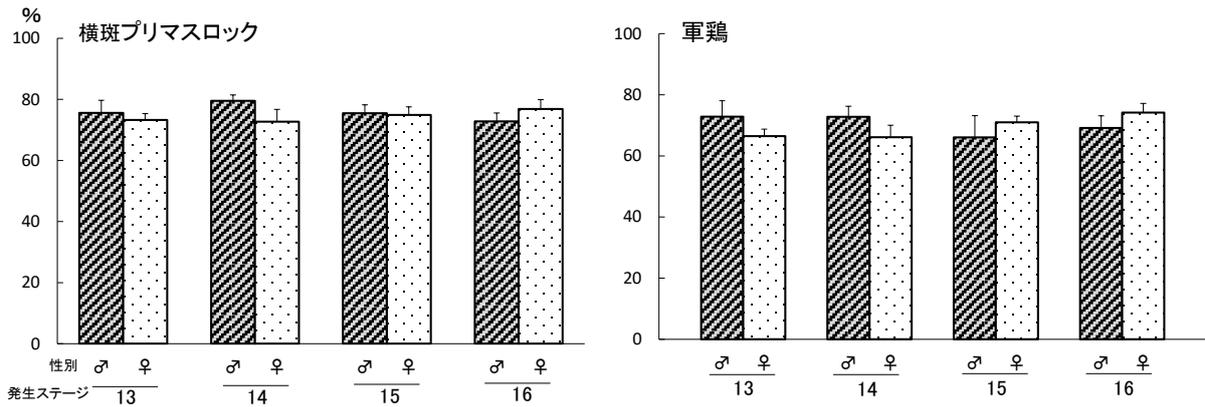


図3 凍結融解後に生存している始原生殖細胞の回収率

- 注) 1. 試験期間：2022年11月～2023年12月  
 2. 棒グラフは回収率：生存数/凍結前の始原生殖細胞数の平均値、各縦線はその標準誤差を表す  
 3. 供試胚数：  
 「横斑プリマスロック」発生ステージ13(♂12、♀7)、14(♂6、♀10)、15(♂14、♀12)、16(♂15、♀7)  
 「軍鶏」発生ステージ13(♂5、♀16)、14(♂10、♀12)、15(♂5、♀13)、16(♂11、♀11)  
 4. 凍結融解および生存判定方法：凍結保存液 CELLBANKER® 1 に浸漬、2プロパノールで満たしたミスターフ  
 ロスティを用いて-80℃まで緩慢凍結。凍結融解後の生存判定は、トリパンブルー染色により実施。  
 5. 統計：アークサイン変換後二元配置分散分析 (発生ステージ ns、性別 ns、交互作用 ns)

(福岡県農林業総合試験場)

[その他]

予算区分：県単

研究期間：2021～2023年度

研究担当者：森美幸、伊地知駿、平川達也、徳永りさ、福原絵里子、村上徹哉