

鶏始原生殖細胞を活用した遺伝資源の保存に係る 岡崎牧場の取り組み

令和6年10月10日

独立行政法人 家畜改良センター岡崎牧場

鶏始原生殖細胞を活用した遺伝資源保存の取り組み

(独) 家畜改良センター中期計画

○鶏始原生殖細胞（PGCs）の保存技術を活用した遺伝子資源技術の利用/普及

- ・大学等と連携し、PGCsの**保存技術を習得**し、普及等の活動に従事することができる職員を概ね2名、令和5年度までに育成するとともに、令和6年度以降は普及のための講習会開催、講師の派遣、ホームページ掲載による **情報提供等**を毎年度、1回以上行う。



これまでの取り組み

- ・PGCsの保存技術を習得した職員を2名育成（R3～R4）
さらに保存技術の習得に取り組む職員を新たに1名育成（R5）
- ・PGCsの移植技術を概ね習得した職員を1名育成（R5）
- ・場保有鶏PGCsの凍結融解後の生存性調査を実施（R5～R6）
- ・XS系統から採取したPGCsを凍結保存（R5）

【補足】PGCsについて

PGCsとは...

生殖細胞に分化する能力を有した、発生初期に形成される細胞

→鳥類PGCsの特徴：血管系を利用して生殖隆起へ運ばれる

→初期胚血液から、
比重の違いを利用した濃縮方法が開発
(Nycodenz密度勾配遠心分離法)

D.-F. Zhao & T. Kuwana (2003)

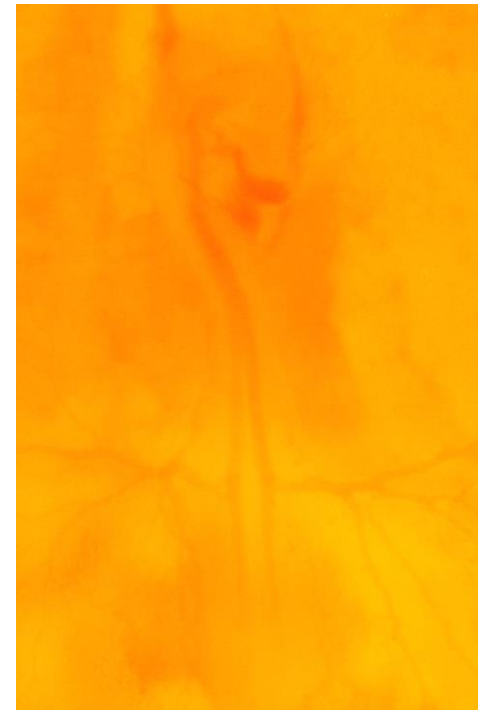
高回収率かつ
高純度で
PGCsを回収できる



**PGCsを家禽遺伝資源の
凍結保存へ活用**

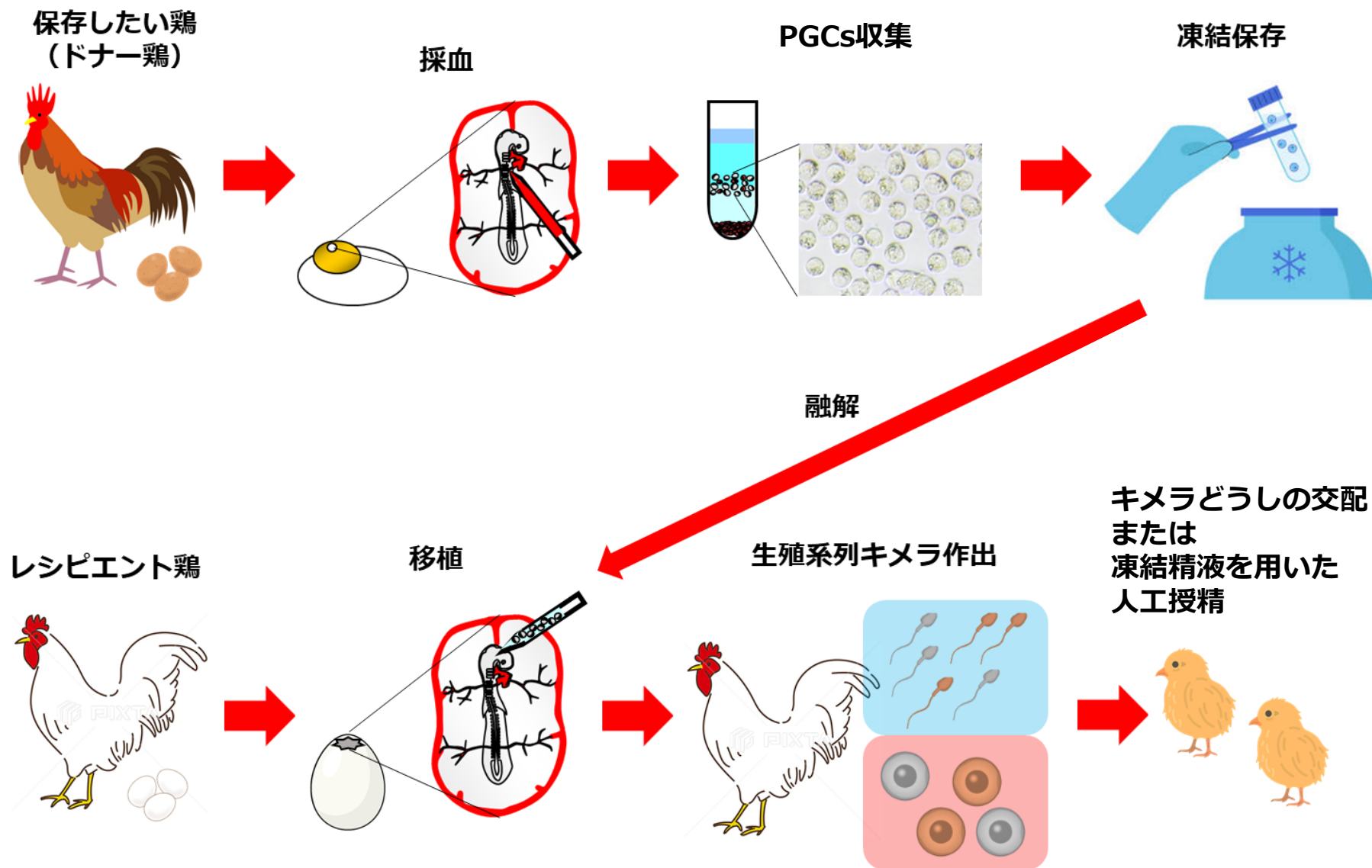


回収したPGC



採血に用いる初期胚の様子

【補足】PGCsを利用した遺伝資源保存のイメージ



場保有鶏PGCsの凍結融解後の生存性調査（令和5年度）

目的：

場保有6鶏種から採取したPGCsの凍結融解後の生存率を調査した。

鶏種：ロードアイランドレッド（Y A系統）、横斑プリマスロック（X S系統）、白色レグホン（M B系統）、白色プリマスロック（L A系統）、アロウカナ（A R系統）、烏骨鶏（U K系統）



場保有鶏PGCsの凍結融解後の生存性調査（令和5年度）

方法：

凍結融解後のPGCsについて、トリパンブルー染色による計数法を用いて、生死判定を行い、チューブ1本あたりの回収率と生存率を算出した。

回収率 = 融解後の総細胞数 / 凍結前の総細胞数

生存率 = 融解後の生存細胞数 / 融解後の総細胞数

- ・ 回収はNycodenz密度勾配遠心法により行った。
- ・ 採血には、St14~16の胚を用いて、チューブ1本あたり血液30μl程度（約15胚分）となるように回収した。
- ・ 一度の回収で得られたPGCs全てを1本のクライオチューブに回収した。ただし、1000個を超える場合は2本に分割した。
- ・ 凍結は緩慢凍結法により行った。
- ・ 融解は、39℃のウォーターバスを用いて、氷晶が完全になくなるまで行った（30秒程度）。
- ・ 融解後は、10%FBS-PBSで2回リンスし凍結保存液を除去した。

場保有鶏PGCsの凍結融解後の生存性調査（令和5年度）

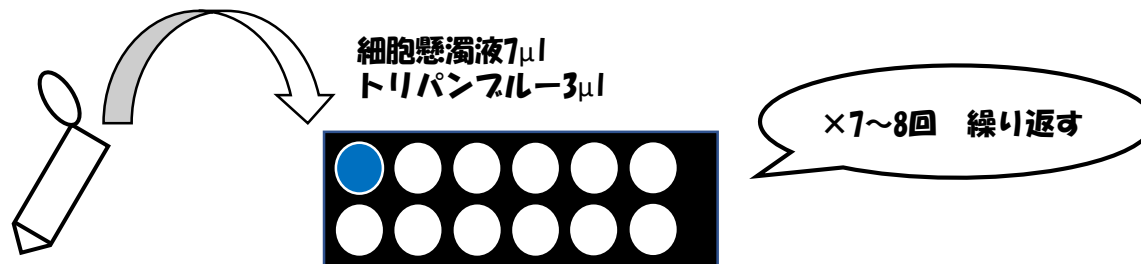
方法：

凍結融解後のPGCsについて、トリパンブルー染色による計数法を用いて、生死判定を行い、チューブ1本あたりの回収率と生存率を算出した。

回収率 = 融解後の総細胞数 / 凍結前の総細胞数

生存率 = 融解後の生存細胞数 / 融解後の総細胞数

- 細胞の生死判定は、トリパンブルー染色による計数法により行った。
- 融解後、遠心分離した細胞懸濁液約50μlを何回かに分けて測定した。
- 12wellスライドガラスに細胞懸濁液7μlをドロップし、トリパンブルー3μlを加え混和する。
ウェル中の生細胞と死細胞をカウントし、これを細胞懸濁液がなくなるまで繰り返し行った。

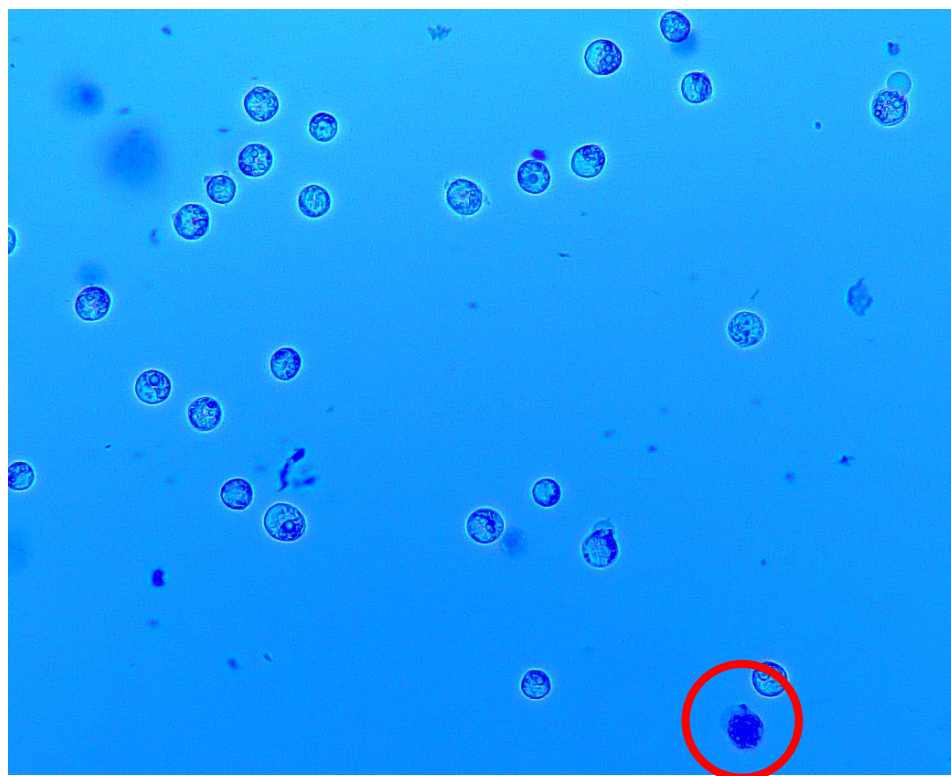


【補足】細胞の生死判定について

トリパンブルーは...

死細胞では細胞膜を透過し、細胞質を青く染色するため、細胞の生死判定が可能。

トリパンブルー染色による計数法（細胞の生死判定） | 細胞材料開発室 -CELL BANK- (RIKEN BRC)



膜が明瞭なもの；生細胞

赤丸で囲ったもの；死細胞

場保有鶏PGCsの凍結融解後の生存性調査（令和5年度）

結果：

鶏種	系統	測定数	保存個数	保存日数	回収率	生存率
ロートアイントレイト	YA	3	596 ± 60	10 ～ 65	46.3 ± 10.8	82.1 ± 2.8
横斑フリマシロク	XS	4	546 ± 50	14 ～ 91	57.5 ± 3.5	90.7 ± 0.6
白色レグホーン	MB	3	464 ± 115	20 ～ 49	60.0 ± 7.1	91.1 ± 3.2
白色フリマシロク	LA	3	756 ± 85	27 ～ 52	55.9 ± 9.1	92.7 ± 1.8
アウカ	AR	4	489 ± 63	47 ～ 94	63.0 ± 3.0	90.0 ± 1.4
烏骨鶏	UK	3	331 ± 35	31 ～ 65	32.2 ± 3.8	82.8 ± 2.1

- ・ YAとUKを除く4鶏種はいずれも平均回収率は**55%以上**、
平均生存率は**90%以上**
- ・ YAについて3回測定したうち1回は回収率は非常に低く（23.9%）、
これを除くと回収率は55.4%、生存率は82.1%
- ・ UKは回収率、生存率ともに低い

場保有鶏PGCsの凍結融解後の生存性調査（令和5年度）

これまでの報告では、

鶏種	回収率	生存率	備考
白色レグホン	58.2 ± 4.5	86.0 ± 1.2	チューブ1本あたりの保存個数は約100個 保存日数は2週間以上 A.Setioko et al.(2007)
横斑フタトビツクリ	53.6 ± 1.8	86.8 ± 0.6	チューブ1本あたりの保存個数は約100個 保存日数は1か月
ファイミ	56.0 ± 1.8	84.7 ± 0.6	Y.Nakamura et al. (2011)
比内鶏	65.5 ± 4.1	—	チューブ1本あたりの保存個数は約100～200個 保存日数は1～2か月 中村ら（2016）

- ・ 場保有4鶏種（XS・MB・LA・AR）については、
これまでの報告と**同程度あるいはそれ以上の成績**となった。

場保有鶏PGCsの凍結融解後の生存性調査（令和6年度）

令和5年度の調査では

- ・ YAについて、回収率が非常に低かった1回分を除くと、回収率、生存率はこれまでの報告と同程度であった。
- ・ UKについて、採取時に回収できたPGC数が少なく、平均保存個数も6鶏種のうち最も少ない値となった。



令和6年度では

場保有3鶏種（YA・XS・UK）について、
1サンプルあたり採取したPGC300個を凍結保存し、1か月後に融解し
生存率を調査中。
また、凍結前の生存率も併せて調査中。

場保有鶏PGCsの凍結融解後の生存性調査（令和6年度）

方法：

凍結融解後のPGCsについて、トリパンブルー染色による計数法を用いて、生死判定を行い、チューブ1本あたりの回収率と生存率を算出した。

回収率 = 融解後の総細胞数 / 凍結前の総細胞数

生存率 = 融解後の生存細胞数 / 融解後の総細胞数

- ・ 測定方法は令和5年度と同様。
- ・ 一度の回収で得られたPGCsのうち、300個ずつをクライオチューブに回収（一度の回収で1～4本作製）。
- ・ 回収したPGCsのうち、凍結する分を除いた100個について、凍結前の生存率を測定。

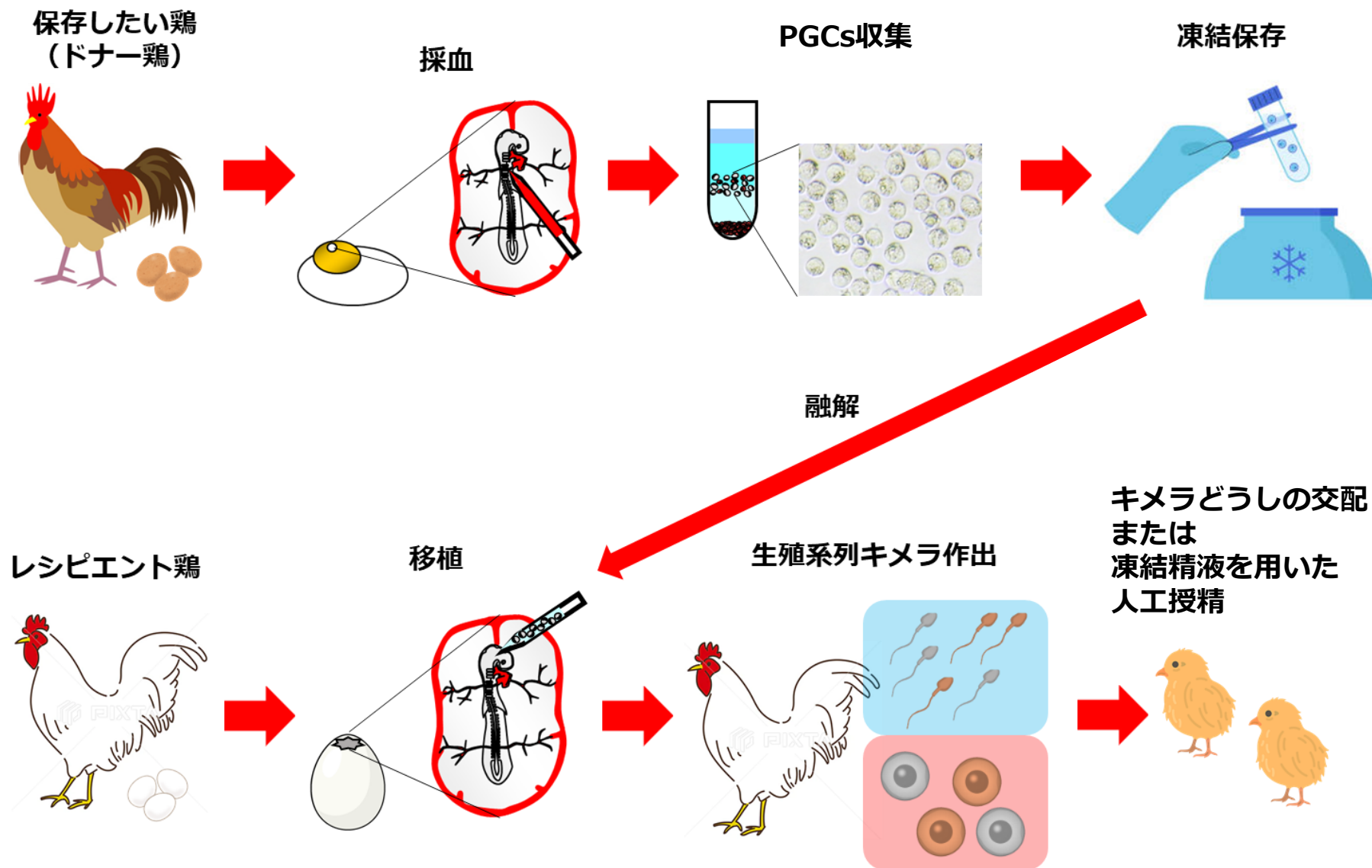
場保有鶏PGCsの凍結融解後の生存性調査（令和6年度）

結果：

	ロードアイランドレッド YA系統			横斑プリマスロック XS系統			烏骨鶏 UK系統		
No.	融解前 生存率	回収率	生存率	融解前 生存率	回収率	生存率	融解前 生存率	回収率	生存率
1	100.0	65.0	92.8	100.0	58.0	95.4	97.0	40.0	90.0
2	100.0	69.0	92.8	98.0	59.0	88.1	99.0	57.7	85.5
3				97.0	59.7	91.6	99.0	49.3	92.6
4				97.0	77.0	96.1	99.0	34.3	93.2
5				98.0	55.7	94.6	99.0	47.0	97.9
6				98.0	65.3	94.4			
7				98.0	53.3	93.1			
平均	100.0	67.0	92.8	98.0	61.1	93.3	98.6	45.7	91.8

- ・ これまでに計14サンプルについて測定。
- ・ 9サンプルについて凍結保存中、YAは今後作製予定。

【補足】PGCsを利用した遺伝資源保存のイメージ

再掲

【提案】 凍結精液作製技術の普及のための新たな取り組み

国内個別研修の実施（鶏の凍結精液作製）

- ・ 養鶏関係者の方への畜産技術普及を目的に実施。
- ・ ダイレクト注入ができる耐凍剤を用いた急速ストロー法。
- ・ およそ70%の受精率を達成（品種等により異なる）。
- ・ 令和6年度は5県の試験場から研修を受け入れた。

【提案】

**令和7年度の鶏改良推進中央協議会にあわせて、
会議の前日午後及び会議当日午前中に研修を開催できないか**

- ・ 会議室で動画や実験器具を用いた研修を想定。
- ・ 参加者どうしの意見交換の場を設置。
岡崎牧場での取り組みについても紹介。
- ・ 上記の取り組みについて意見や要望を把握したい。

【提案】凍結精液作製技術の普及のための新たな取り組み

アンケート調査の実施について

- ・ 会場でアンケート用紙を配布。オンライン参加の方には後日送付。
- ・ 期日は令和6年10月31日

事務連絡
令和6年10月10日

都道府県畜産試験場等養鶏担当者 様

(独) 家畜改良センター岡崎牧場 業務課長

鶏改良推進中央協議会（鶏全国会議）にあわせて実施する
凍結精液研修に係るアンケート調査の実施について（依頼）

日頃より、家畜改良センターの業務につきまして、格段のご理解とご協力を賜り、厚くお礼申し上げます。

さて、岡崎牧場では、養鶏関係者の方への畜産技術の普及を目的として、鶏の凍結精液作製について個別研修生を受け入れています。しかし、防疫対策の観点から、研修を受ける方はダウンタイムを設けていただく必要があり、鶏の凍結精液作製技術を学びたくても実際に行くことができないというご意見をいただくこともあります。そこで、令和7年度の鶏全国会議（岡崎牧場主催）に合わせて、会議の前日午後及び会議当日午前中に、会議室で動画や実験器具を用いて、鶏の凍結精液作製についての研修を検討しているところです。研修の実施にあたり、事前にご意見・ご要望を把握したく、今回、アンケート調査を実施することといたしました。

つきましては、ご多忙中、誠に恐縮ですが、下記の内容に沿ってアンケート調査にご協力下さいようお願いいたします。

なお、アンケートの結果を踏まえ、来年度の鶏全国会議の開催についてご連絡いたします。

記

- 期 日 令和6年10月31日（木）まで
※ 特にご要望が無い場合は、未回答（連絡なし）で差し支えありません。
- 様 式 添付のアンケート調査様式
- 送付先 FAX または PDF ファイルを電子メールにて、以下の問い合わせ先にお送りください
- 問合せ先 (独) 家畜改良センター岡崎牧場 業務課（担当：田中）
〒444-3161 愛知県岡崎市大柳町字栗沢 1-1
TEL：0564-46-4581 FAX：0564-46-4587
E-mail：mlbc_okazaki@mlbc.go.jp

【岡崎牧場 行】FAX：0564-46-4587

鶏改良推進中央協議会（鶏全国会議）にあわせて実施する
凍結精液研修に係るアンケート調査（様式）

- 趣 旨 ※ 事務連絡のとおり
- 研修の開催について
a：希望する b：希望しない
- 日程について（全国会議に合わせて開催の場合）
a：参加できる b：参加できない c：その他
ご自由に記載してください
- 研修内容として希望する事項
ご自由に記載してください
- その他
その他ご意見等がありましたら、ご自由に記載してください。
- ご所属、ご担当者名、連絡先
機関名
役 職
氏 名
TEL・FAX
メールアドレス



**ご意見、ご質問等がございましたら、
お気軽にご連絡ください。**

電話 : 0564-46-4581

メール : nlbc_okazaki@nlbc.go.jp

～ご清聴ありがとうございました～