

## 総説

**P105 -P113** 産卵鶏の卵管と腸の粘膜バリア機能と産卵機能の関係  
新居 隆浩

**P114 -P120** 家禽精子における受精機能の細胞膜制御  
浅野 敦之・Chathura Priyadarshana

## 研究報告

### 遺伝・育種

(研究ノート)

**P121 -P128** 採卵用実用鶏種の抱卵行動が産卵に及ぼす影響の解析及び抱卵行動に関連する一塩基多型の検出  
米谷 優一郎・永野 惇・上野 秀樹・天野 朋子

### 栄養・飼料

**P129 -P136** 1,25-ジヒドロキシコレカルシフェロールはブロイラーの成長成績を改善し、小腸のカルシウム輸送体遺伝子の発現量を増加させた  
Lihua Wu, Xiaona Wang, Xianliang Lv, Lei He, Hongxia Qu, Chuanxin Shi, Liao Zhang, Jinliang Zhang, Zhixiang Wang and Jincheng Han

**P137 -P142** 産卵鶏への食餌性カロテノイドの給与が卵黄およびその活性酸素消去活性に及ぼす影響  
小嶋 禎夫・小泉 さくら・川見 宥香莉・茂田 祐菜・大澤 絢子

**P143 -P151** 産卵鶏及びブロイラーにおける圧ぺん綿実粕の代謝及び正味エネルギー  
Yongfa Liu, Zhibin Ban, Peng Li, Xiaogang Yan, Lijia Li, Dan Liu, Lei Yan and Yuming Guo

**P152 -P158** ブロイラーヒナの白色脂肪組織の脂質代謝におけるコルチコステロンの役割  
本田 和久・倉地 清隆・高木 聖子・實安 隆興・上曾山 博

(研究ノート)

**P159 -P161** ダチョウ(*Struthio camelus*)糞からの *Lactobacillaceae* 細菌の分離  
小野寺 未紗・伴 (徳田) 智美・松井 宏樹

## 生理

**P162 -P167** ニワトリ皮膚のエストロゲン受容体とコラーゲンの mRNA 発現におけるエストラジオールの効果  
西村 正太郎・荒井 彩也香・大谷 瑞樹・下村 友里・田畑 正志

## 繁殖

**P168 -P174** 無卵殻培養下における培養17日目までのニワトリ胚の発育に及ぼす乳酸カルシウムの影響  
小原 勝也・小原(逸見) 千寿香・内藤 充・三井 一鬼・宇根 有美・  
浅野 敦之・田島 淳史

**P175 -P181** ウズラ卵賦活化に関連した卵細胞質内Ca<sup>2+</sup>上昇におけるイノシトール三リン酸受容体とリアノジン受容体の関与  
水島 秀成・笹浪 知宏・小野 珠乙・神作 宜男・黒岩 麻里

**P182 -P190** CRIS-PITCh法を利用したニワトリ始原生殖細胞のCVH遺伝子座への蛍光タンパク質遺伝子のノックイン  
江崎 僚・市川 健之助・松崎 芽衣・堀内 浩幸

## 生産物・加工

**P191 -P196** DNA免疫法による抗狂犬病ウイルスNタンパク質IgY抗体の調製  
～アジュバンド併用法の検討～  
久保 七彩・西井 真理・井上 智・野口 章・八田 一

(総説)

## 産卵鶏の卵管と腸の粘膜バリア機能と産卵機能の関係

新居 隆浩

広島大学大学院統合生命科学研究科

広島県東広島市鏡山 1-4-4

ニワトリの腸と卵管の粘膜は病原体に感染しやすい。産卵鶏の粘膜組織に病原体が感染すると、宿主動物の健康を悪化させ、産卵機能の低下や、卵の細菌汚染を引き起こす。したがって、病原体の感染を防ぐためには腸や卵管の粘膜バリア機能の制御機構を知る必要がある。また、粘膜組織における病原体の感染は、一般的に粘膜の炎症を引き起こすことが知られる。昨今の研究で、粘膜バリア機能の破壊によって引き起こされる卵管および腸組織の炎症が産卵機能に影響を与える可能性があることが示されてきた。したがって、ニワトリの産卵機能を改善するためには、粘膜バリア機能と産卵機能との関係を理解することが重要といえる。この総説は、(1) 卵管粘膜免疫機能と産卵機能、(2) 腸粘膜の炎症と産卵機能、および(3) プロバイオティクスによる粘膜免疫機能の改善に関する研究について最新の情報をまとめたものである。本総説は、ニワトリの腸と卵管の粘膜バリア機能の理解を助け、産卵鶏の卵生産機能の改善に寄与するものである。

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210090/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210090/_article/-char/en)

(総説)

## 家禽精子における受精機能の細胞膜制御

浅野 敦之・Chathura Priyadarshana

筑波大学生命環境系 茨城県つくば市天王台 1-1-1 305-8572

雌雄配偶子による受精プロセスは、異なる時間・空間的スケールで連続する分子カスケードで成り立つ。DNAの転写翻訳能力を欠く精子は、予め自己に備えた機能を利用し細胞膜で受容した刺激をシグナル変換する必要があることが知られる。しかし、そのような受精機能を支える重要機構に種特異性が散見されることは、家禽精子において機能制御機構の理解を制限している。膜ラフトは特異的脂質やタンパク質を豊富に含む生体膜マイクロドメインで、細胞内シグナル伝達を含む様々な細胞現象の時空間制御に関与する。最近、私達は二ワトリ精子において、膜ラフトが種々の受精機能の制御において重要な役割を果たすことを見出した。本稿では、細胞膜を起点とする機能制御メカニズムに着目し、まず精子が精管通過中に外部から受精能力を獲得する機能成熟機構について概説する。次に精子細胞膜の卵結合と先体反応における役割についてこれまでの知見をまとめ、さらに膜ラフトの機能的特徴を利用した家禽生殖制御技術の開発について紹介する。

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210104/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210104/_article/-char/en)

(研究ノート)

## 採卵用実用鶏種の抱卵行動が産卵に及ぼす影響の解析及び 抱卵行動に関連する一塩基多型の検出

米谷 優一郎<sup>1</sup>・永野 惇<sup>2,3</sup>・上野 秀樹<sup>4</sup>・天野 朋子<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 酪農学園大学 農食環境学群 循環農学類 家畜遺伝学研究室

北海道江別市文京台緑町 582 番地 069-8501

<sup>2</sup> 慶応義塾大学 先端生命科学研究所 山形県鶴岡市大宝寺字日本国 403-1 997-0017

<sup>3</sup> 龍谷大学 農学部 滋賀県大津市瀬田大江町横谷 1-5 520-2194

<sup>4</sup> 学校法人 酪農学園 フィールド教育研究センター

北海道江別市文京台緑町 582 番地 069-8501

平飼い施設(放飼可能な施設)はニワトリが砂浴びなどの生得的行動をとりやすく、動物福祉上優れているが、同時にニワトリが産卵された卵と接触する機会が多くなる。通常雌鶏は産卵された卵と接触すると抱卵を始め、産卵を停止するため、平飼いで飼育されたニワトリは産卵数が減る可能性がある。本研究では、産業上多用される採卵用実用種の抱卵と産卵停止の表出を平飼い下にて調査した。510 日齢のある採卵用実用種 129 羽を 3 週間、週に 2 回、1 時間ずつ観察し、抱卵行動(卵の上に座る行動)を 2 回以上示す個体を抱卵鶏、それ以外を非抱卵鶏とした。この検討では 9 羽 (7.0%) の抱卵鶏を認めた。次に抱卵鶏の抱卵行動が一過性でないことを確認するため、モニタリングカメラにてその行動を 4 日間常時観察し、抱卵行動をとった時間を非抱卵鶏と比較した。その結果、抱卵鶏の抱卵時間は非抱卵鶏より有意に長かった (2071.9 分、20.9 分 ;  $P < 0.05$ )。さらにニワトリに典型的な抱卵行動と産卵停止を示すウコッケイ種の 1 個体につき、抱卵行動と産卵を 27 日間同様に調べ、抱卵鶏と比較した。観察期間中の抱卵時間はウコッケイが 23092 分、抱卵鶏が 18088.5 分となり、おおむね同様であった。一方、ウコッケイは 17 個目の卵を産んだ 17 日目に産卵を停止したが、抱卵鶏は観察期間中継続的に産卵を続け、観察期間中に平均 24.5 個を産卵した。以上より、少なくとも本検討で用いた実用種では、平飼い下にて一部の個体が抱卵行動を示すものの、産卵性の低下を懸念する必要はないことが明らかとなった。また、抱卵鶏と非抱卵鶏を用いたゲノムワイド関連解析から、第 4 染色体の 76542731 番目に抱卵行動と有意に関連する塩基を認めた。抱卵行動は一般に産卵停止を伴うため、本塩基は本研究で用いた鶏種以外にて産卵性と関係する可能性も考えられた。

キーワード : 採卵用実用鶏種、抱卵行動、卵生産

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210037/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210037/_article/-char/en)

(研究論文)

## 産卵鶏への食餌性カロテノイドの給与が卵黄およびその活性酸素消去活性に及ぼす影響

小嶋 禎夫<sup>1</sup>・小泉 さくら<sup>2</sup>・川見 宥香莉<sup>2</sup>・茂田 祐菜<sup>2</sup>・大澤 絢子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東京都農林総合研究センター 東京都青梅市新町 198-0024,

<sup>2</sup>神奈川工科大学健康医療科学部管理栄養学科 神奈川県厚木市下荻野 243-0292

産卵鶏を用いて食餌性カロテノイドが卵黄に及ぼす影響について調べた。60 週齢のロードアイランドレッド (RR) と烏骨鶏 (SF) のそれぞれ 40 羽を各 4 つのグループに分け, 5 羽ずつ 2 反復とした。対照区には基礎飼料 (CP 17%, 2.8Mcal) を給与し, 3 つの試験区にはそれぞれパプリカ抽出物 (基礎飼料にカロテノイドとして 30mg/kg 添加した; PA 区), マリーゴールド花弁抽出物 (基礎飼料にカロテノイドとして 60mg/kg 添加した; MA 区), およびパラコッカス菌体末 (基礎飼料にカロテノイドとして 28mg/kg 添加した; AX 区) を添加剤として用いた。試験期間は 28 日とし, 水と飼料は自由に摂取させた。卵黄色, 卵黄中のカロテノイド含量, および一重項酸素の消去活性は 4 週目の卵を用いて測定した。二元配置の分散分析の結果, 卵黄中の総カロテノイド含量, ゼアキサンチン含量, および一重項酸素の消去活性では, 飼料および品種の効果に有意差が認められた。卵黄中のルテイン含量では, 飼料および品種に加えて交互作用に有意差が認められた。ロッシュヨークカラーファンスコアでは飼料の効果のみ認められ, 品種の効果は認められなかった。卵黄の明度および黄色度では, 品種による効果に有意差が認められた。総カロテノイド含量, ゼアキサンチン含量およびルテイン含量は, RR より SF が高かった。これらの結果は, 食餌性カロテノイドが卵黄色の改善および卵黄の一重項酸素の消去活性を高める効果的な飼料添加剤であることを示唆している。特に SF は, 食餌性カロテノイドによって卵質を改善するための優れた品種であると考えられる。

キーワード: カロテノイド, 産卵鶏, 着色, 消去活性, 烏骨鶏

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210032/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210032/_article/-char/en)

(研究論文)

## ブロイラーヒナの白色脂肪組織の脂質代謝におけるコルチコステロンの役割

本田 和久・倉地 清隆・高木 聖子・實安 隆興・上曾山 博

神戸大学大学院農学研究科 神戸市 657-8501

ブロイラーの体脂肪の過剰蓄積は、家禽産業において深刻な問題となっている。しかしながら、ニワトリの白色脂肪組織（WAT）における体脂肪蓄積の分子機構は十分には明らかにされていない。本研究では、ニワトリの主要なグルココルチコイドであるコルチコステロンが、ニワトリのWATにおけるトリグリセリド代謝の制御にどのように関与しているかを調査した。まず、絶食がWATの脂質代謝関連遺伝子のmRNA量と血漿中のコルチコステロンおよび非エステル化脂肪酸（NEFA）の濃度に及ぼす影響を調べ、次に、コルチコステロンがこれらの遺伝子の発現に及ぼす影響を *in vivo* および *in vitro* で調べた。10日齢のニワトリヒナにおいて、3時間の絶食はWATのリポタンパク質リパーゼ（LPL）のmRNA量を有意に減少させ、血漿中のNEFA濃度を有意に上昇させた。6時間の絶食はWATの *adipose triglyceride lipase (ATGL)* と *comparative gene identification-58 (CGI-58)* のmRNA量を有意に増加させ、血漿中のコルチコステロン濃度を有意に上昇させた。一方、29日齢のニワトリヒナにおいて、絶食はWATのATGLおよびCGI-58のmRNA量とコルチコステロンの血漿濃度に影響を与えることなく、WATのLPLのmRNA量とNEFAの血漿濃度を有意に変化させた。29日齢のニワトリヒナへのコルチコステロンの経口投与はCGI-58のmRNA量と血漿NEFA濃度に影響を与えることなく、WATのLPLのmRNA量を有意に減少させ、ATGLのmRNA量を有意に増加させた。ニワトリ初代脂肪細胞の培地へのコルチコステロンの添加はATGLのmRNA量を有意に増加させ、LPLのmRNA量は低下する傾向にあった。培養液中のNEFA濃度はコルチコステロンの影響を受けなかった。これらの結果から、血漿コルチコステロンはニワトリの脂肪細胞におけるトリグリセリド代謝関連遺伝子の発現を部分的に制御しているが、この制御は短時間の空腹による血漿NEFAの迅速な上昇には関与していないことが示唆された。

キーワード：腹部脂肪, ブロイラー, FFA, 脂質, TG

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210060/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210060/_article/-char/en)

(研究論文)

## ダチョウ(*Struthio camelus*)糞からの *Lactobacillaceae* 細菌の分離

小野寺 未紗・伴 (徳田) 智美・松井 宏樹

三重大学大学院生物資源学研究科 三重県津市 514-8507

### 和文要旨

ダチョウ (*Struthio camelus*)は草食性の鳥類で、長く、よく発達した後腸を持つ。後腸内では高密度で多様な嫌気性細菌が生息しており、盛んな発酵により高濃度の短鎖脂肪酸が作られる。ダチョウ後腸の細菌は栄養的な貢献のみならず、宿主の免疫系や防御系のような健康上の利益に重要な働きをすると考えられている。われわれは免疫機能を改善し、病原菌からの防御に関与すると考えられる *Lactobacillaceae* 細菌の分離を試みた。ダチョウ糞から LBS 寒天培地上に出現したコロニー数は糞 1g 当たり  $3.64 \times 10^3$  であった。*Lactobacillaceae* 細菌 3 菌株がダチョウ糞から分離された。これらの分離株の 16S リボソーム RNA 遺伝子のほぼ全長の塩基配列を解読し、ホモロジー検索したところ、*Levilactobacillus* (formerly *Lactobacillus*) *brevis* (identity=99.93%)、*Loigolactobacillus* (formerly *Lactobacillus*) *coryniformis* (98.39%)および *Lcticaseibacillus* (formerly *Lactobacillus*) *paracasei* (100.0%)と高い相同性を示した。本研究で得られた *Lactobacillaceae* 細菌の菌株はダチョウのプロバイオティクスの候補になる可能性がある。

キーワード：健康, ダチョウ, 乳酸桿菌科, 糞, プロバイオティクス

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210001/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210001/_article/-char/en)



(研究論文)

## ニワトリ皮膚のエストロゲン受容体とコラーゲンの mRNA 発現における エストラジオールの効果

西村 正太郎<sup>1</sup>・荒井 彩也香<sup>2</sup>・大谷 瑞樹<sup>2</sup>・下村 友里<sup>2</sup>・田畑 正志<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院 福岡市西区元岡 819-0395

<sup>2</sup>九州大学大学院生物資源環境科学府 福岡市西区元岡 819-0395

ニワトリ皮膚の厚さと強度は雌雄間で異なる。本研究は、ニワトリ皮膚におけるエストロゲン受容体とコラーゲン mRNA の発現におけるエストラジオールの作用を明らかにすることを目的とした。エストラジオールを雄のヒナに3週間投与した後、頸部、胸部、背部および後肢外側部から皮膚組織を採取した。凍結切片を作製し、ヘマトキシリン-エオシン染色を行い、皮膚の厚さを測定した。また、エストロゲン受容体とコラーゲン mRNA の発現量をリアルタイム RT-PCR を用いて比較するとともに、コラーゲン量を測定した。エストラジオールはいずれの領域においても皮膚の厚さやコラーゲン量に影響を及ぼさなかった。エストロゲン受容体については、胸部皮膚における *ESR1* mRNA の発現がエストラジオール投与群で有意に大きかったものの、他の領域の皮膚では差は見られなかった。エストラジオールは *ESR2*、*GPER* および *COL1A1* mRNA の発現に影響を及ぼさなかった。以上のことより、エストラジオールは雄ヒナの胸部皮膚において *ESR1* の発現を刺激するものの、コラーゲン合成に影響を及ぼさないことが示唆された。

キーワード：エストラジオール、エストロゲン受容体、コラーゲン、ニワトリ、皮膚

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210093/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210093/_article/-char/en)

(研究論文)

## 無卵殻培養下における培養 17 日目までのニワトリ胚の発育に及ぼす乳酸カルシウムの影響

小原 勝也<sup>1,2</sup>・小原(逸見) 千寿香<sup>3</sup>・内藤 充<sup>4</sup>・三井 一鬼<sup>3</sup>・宇根有 美<sup>3</sup>・浅野 敦之<sup>2</sup>・  
田島 淳史<sup>2</sup>

- 1) たかね台動物病院、〒274-0063 千葉県船橋市習志野台 2-16-3
- 2) 筑波大学生命環境科学研究科、〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1
- 3) 岡山理科大学獣医学部、〒794-8555 愛媛県今治市いこいの丘 1-3
- 4) 農業生物資源研究所、〒305-0856 茨城県つくば市観音台 2-1-2

ニワトリ 3 日胚の無卵殻培養 (chick shell-less culture system; cSLCS) 開始時に乳酸カルシウムを添加した場合における培養 17 日目(d17-cSLCS)までのニワトリ胚の発育に及ぼす影響について検討した。cSLCS 開始時に乳酸カルシウムを添加した場合における胚の生存率は、培養開始から約 1 週間目まで有意に低下した( $P < 0.05$ )。これに対し、対象区(卵殻卵)と d17-cSLCS の間における血中カルシウム濃度および脛骨の骨密度にはいずれも有意差が認められなかった( $P > 0.05$ )。一方、d17-cSLCS における脛骨の長さは対象区(卵殻卵)よりも有意に短かった( $P < 0.05$ )。以上の結果から、cSLCS 開始時の乳酸カルシウムの添加は、培養開始から約 1 週間目までは害作用があるものの、それ以降のニワトリ胚の骨形成に利用されることが示唆された。

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210024/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210024/_article/-char/en)

(研究論文)

## ウズラ卵賦活化に関連した卵細胞質内 $\text{Ca}^{2+}$ 上昇におけるイノシトール三リン酸受容体とリアノジン受容体の関与

水島 秀成<sup>1</sup>・笹浪 知宏<sup>2</sup>・小野 珠乙<sup>3,4</sup>・神作 宜男<sup>5</sup>・黒岩 麻里<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道大学大学院理学研究院 北海道札幌市北区北 10 条西 8 丁目 060-0810

<sup>2</sup>静岡大学農学部 静岡県静岡市駿河区大谷 836 422-8529

<sup>3</sup>松本歯科大学歯学部 長野県塩尻市広丘郷原 1780 399-0781

<sup>4</sup>信州大学農学部 長野県上伊那郡南箕輪村 8304 399-4598

<sup>5</sup>麻布大学獣医学部 神奈川県相模原市淵野辺 242-5201

ニホンウズラにおける卵賦活化は、精子-卵の融合時に精子から放出されるホスホリパーゼ C ゼータ 1 (PLCZ 1) により誘導される細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) の一過性上昇とクエン酸シターゼ (CS) 及びアコニターゼ 2 (ACO2) により誘導されるスパイラル様オシレーションの 2 つの型によって惹起される。2 型の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  増加には、母性由来のイノシトール三リン酸受容体 (ITPR) とリアノジン受容体 (RZR) の関与が示唆されていたが、その実証例はなかった。そこで本研究では、これら 2 型の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  増加に関わる ITPR と RZR のアイソフォームを同定することを目的とした。mRNA およびタンパク質発現解析から、排卵されたウズラ卵に、ITPR タイプ 1 (ITPR1) とタイプ 3 (ITPR3) および RZR タイプ 3 (RZR3) の発現が認められた。また *PLCZ1*、CS および *ACO 2* の cRNA 注入後 3 時間におけるウズラ卵において、ITPR1、ITPR3 および RZR3 蛋白質の全てが分解されていた。さらに詳細な解析を行った結果、母性 ITPR1 と ITPR3 の分解は *PLCZ1* cRNA の単独投与によっても再現され、重要にも一過性の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  増加が終了する *PLCZ 1* cRNA 注入後 30 分で既にそれが誘起されていた。対照的に、RZR 3 の分解は、*PLCZ 1* cRNA の注入では惹起されず、CS および *ACO2* cRNA 注入後 3 時間 (第一卵割の開始) においてのみ誘発された。以上の結果は、ITPR1 および ITPR3 が一過性の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇に、RZR3 がスパイラル様  $\text{Ca}^{2+}$  オシレーションに関与していることを示唆している。

キーワード：イノシトール三リン酸受容体、ニホンウズラ、卵賦活化、リアノジン受容体

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210041/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210041/_article/-char/en)

(研究論文)

## CRIS-PITCh 法を利用したニワトリ始原生殖細胞の CVH 遺伝子座への 蛍光タンパク質遺伝子のノックイン

江崎 僚・市川 健之助・松崎 芽衣・堀内 浩幸

広島大学大学院統合生命科学研究科, 広島県東広島市鏡山 1-4-4 739-8528

ニワトリにおいて始原生殖細胞 (PGC) は, 遺伝子ノックインを含むゲノム編集の標的である。ニワトリ PGC の長期培養システムは, すでに確立されているが, 生殖系列伝播能力を維持しながら, PGC ゲノムを編集するためには, 効率的かつ正確な遺伝子編集ツールを選択する必要がある。CRISPR/Cas9 および CRIS-PITCh 法は, ドナーベクターの構築が容易であり, なおかつ高いゲノム編集効率が期待できる有効な手法である。そこで本研究では, CRIS-PITCh 法を用いて蛍光タンパク質遺伝子発現カセットを融合タンパク質としてニワトリ PGC の *chicken vasa homolog* (CVH) 遺伝子座に挿入し, ノックイン PGC を作製した。ノックイン PGC は, *in vitro* および *in vivo* で蛍光タンパク質を発現し, この PGC を利用することで生殖細胞の追跡系が構築できる可能性が示唆された。さらに, これらのノックイン細胞クローンを取得し, CVH 遺伝子座の遺伝子型を解析したところ, 解析したクローンの 82% が両方の対立遺伝子に正常にノックインされていることがわかった。本研究で作製したノックイン PGC からのモデルニワトリの作出は, 生殖細胞の運命決定やニワトリの性決定機構の解明など, 様々な基礎研究に貢献できると考えられる。

**キーワード** : 始原生殖細胞, ニワトリ, CVH 遺伝子, CRISPR/Cas9, PITCh 法

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210067/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210067/_article/-char/en)

(研究論文)

## DNA 免疫法による抗狂犬病ウイルス N タンパク質 IgY 抗体の調製 ～アジュバンド併用法の検討～

久保 七彩<sup>1</sup>・西井 真理<sup>2</sup>・井上 智<sup>3</sup>・野口 章<sup>3</sup>・八田 一<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 京都女子大学大学院 京都府京都市東山区 605-8501

<sup>2</sup> 京都府農林水産部農村振興課 京都府京都市上京区 602-8570

<sup>3</sup> 国立感染症研究所獣医科学部感染制御研究室 東京都新宿区 162-8640

本研究では、DNA 免疫法を IgY の調製に応用し、狂犬病ウイルスの研究や診断に有用な狂犬病ウイルス核タンパク質 (RV-N) に対する特異的 IgY 抗体を調製することを目的とした。まず RV-N 遺伝子を pcDNA 3.1 に導入した組換えプラスミド DNA (pcDNA-N) を調製した。産卵鶏 8 羽を 4 群 (各 2 羽) に分け、Cont 群は無免疫、その他の群は pcDNA-N (400 $\mu$ g/羽) を隔週で全 8 回筋肉注射した。4 週目以降はアジュバントとして、FCA または $\lambda$ -カラギーナンを FCA 群および $\lambda$ Carra 群の各 2 羽に追加投与した。卵は毎日採取し、2 週間毎に卵黄の特異的抗体価を ELISA で測定した。さらに各群の卵黄 (16-19 週目) から IgY を精製し、それぞれ Cont IgY、pcDNA-N IgY、pcDNA-N+FCA IgY、および pcDNA-N+ $\lambda$ Carra IgY を得た。各精製 IgY を ELISA、ウエスタンブロット (WB) およびドットブロット (DB) で抗原 RV-N の検出感度を比較した。その結果、pcDNA-N アジュバント無し群の 2 羽中 1 羽で卵黄 ELISA 値が上昇し、アジュバント併用群では全個体で卵黄 ELISA 値が上昇した。また、水溶性増粘多糖類である $\lambda$ -カラギーナンの併用により、FCA に匹敵するアジュバンド効果が得られた。Cont IgY を除く各精製 IgY は ELISA、WB、DB で RV-N を検出できたが、検出感度に差が見られた。すなわち、+ $\lambda$ Carra IgY は ELISA で、+FCA IgY は WB、DB で RV-N の検出感度が高かった。以上の結果より、DNA 免疫法で $\lambda$ -カラギーナンや FCA をアジュバンドとして併用することにより抗 RV-N IgY 抗体が得られ、これらは一次抗体として RV-N の検出に利用できることが示された。

**キーワード** : アジュバンド, DNA 免疫法, IgY, 狂犬病ウイルス,  $\lambda$ -カラギーナン

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59\\_0210053/\\_article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/59/2/59_0210053/_article/-char/en)