

2024年10月3日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学
岡山理科大学

卵からヒヨコまでのニワトリ胚発生をリアルタイムで可視化することに成功

ニワトリ受精卵を殻から取り出し、透明なフィルム製の人工培養容器内で培養することにより、産卵された状態から孵化に至るまでのニワトリ胚の全ての発生過程を、リアルタイムで観察できる無卵殻培養法を確立しました。

ニワトリ胚の発生過程を明らかにしようという試みの歴史は長く、古くは紀元前のアリストテレスにまで遡ります。しかしニワトリの卵は殻が不透明であるため、卵内で起こる胚の発生過程を観察するには殻を割らなければなりませんでした。そのため、透明な人工培養容器の開発が試みられ、これまでに、予め孵卵器で3日間孵卵したニワトリ胚（3日胚）を殻から取り出し、透明なフィルム製の人工培養容器内でヒナを孵化させる無卵殻培養法が報告されました。しかしながら、この方法で産卵直後のニワトリ受精卵（0日胚）を培養しても、胚が正常に発生しませんでした。

本研究では、その原因を探り、培養開始3日目（3日胚）の時点で、胚盤葉（卵の発生時に局部的に細胞分裂が起こる部分）の表面を覆う膜（卵黄膜）が乾燥していることを見いだしました。そこで、卵黄膜の乾燥を防ぐため、7度に傾いた状態で天板が回転するロータリー・シェーカーを用いて、無卵殻培養容器を振り動かしながら培養したところ、胚盤葉を覆う膜の乾燥を防ぐことができ、3日胚の生存率が向上しました。さらに、これらの3日胚について、従来の無卵殻培養法で培養を継続した結果、胚発生が進行し、孵卵開始後21日目に複数の正常なヒナが誕生しました。

本研究の成果は、ニワトリ胚の発生に関する基礎研究にとどまらず、毒性試験や再生医療等への幅広い応用研究の基盤技術となることが期待されます。

研究代表者

筑波大学生命環境系

田島 淳史 名誉教授

小原 勝也 農学学位プログラム博士後期課程（研究当時、現：生命環境系客員研究員）

岡山理科大学獣医学部獣医学科

小原（逸見） 千寿香 講師（研究当時）

研究の背景

不透明な卵の殻の中で起こるニワトリ胚の発生をリアルタイムで可視化することは、発生生物学の大きな目標の一つです。これまでに、予め孵卵器で3日間孵卵^{注1)}したニワトリ受精卵(3日胚)から卵殻を除去して胚を含む内容物を取り出し、透明なフィルム製の人工培養容器に移し替えて培養する無卵殻培養法を用いることにより、正常なヒナを孵化^{注1)}させることが可能となっています(Tahara and Obara, 2014)。その後、産卵直後のニワトリ受精卵(0日胚)についても、この無卵殻培養法を応用することにより孵化できることが報告されました(Dunn, 2023)が、この方法では孵卵0日目から3日目までの間、胚盤葉^{注2)}を覆う膜の上を不透明な膜で覆う必要があることから、この間に起こる主要な器官の出現に伴う極めて大きな形態変化を観察することができませんでした。

研究内容と成果

本研究は、孵卵0日目から21日目に孵化するまでの間に起こるニワトリの胚発生を、連続してリアルタイムに可視化できる無卵殻培養法の開発を目的としました。従来の無卵殻培養法では、0日胚を培養しても胚が正常に発生しなかったことから、これらの発生停止胚を観察したところ、3日胚の時点で胚盤葉の表面を覆う膜(卵黄膜)の表面が乾燥していることを見いだしました。そこで、無卵殻培養において、胚の表面に生じる乾燥が、胚の正常な発生を妨げているのではないかと考え、7度に傾いた状態で天板が回転するロータリー・シェーカーを用いて、0日胚を無卵殻培養容器内で振り動かしながら培養したところ、卵黄膜の乾燥を防ぐことができ、3日胚の生存率が4倍以上に向上しました。さらに、これらの3日胚を従来の無卵殻培養法で培養を継続した結果、胚発生が進行し、孵卵開始後21日目に複数の正常なヒナが誕生しました(参考図)。

今後の展開

本研究により、卵黄膜の乾燥を防ぎつつ、胚発生の全過程をリアルタイムで可視化することが可能となりました。今後、この手法がより幅広い分野で利用されるために、無卵殻培養中の胚の生存率と孵化率の向上や、培養操作の簡素化等の改良を進めます。

また本研究成果は、ニワトリ胚の発生に関する基礎研究にとどまらず、化学物質等の催奇形性を検討する毒性試験や、加工を加えた細胞の機能性評価試験や腫瘍形成能などの安全性試験への応用など、幅広い応用研究の基盤技術となると考えられます。

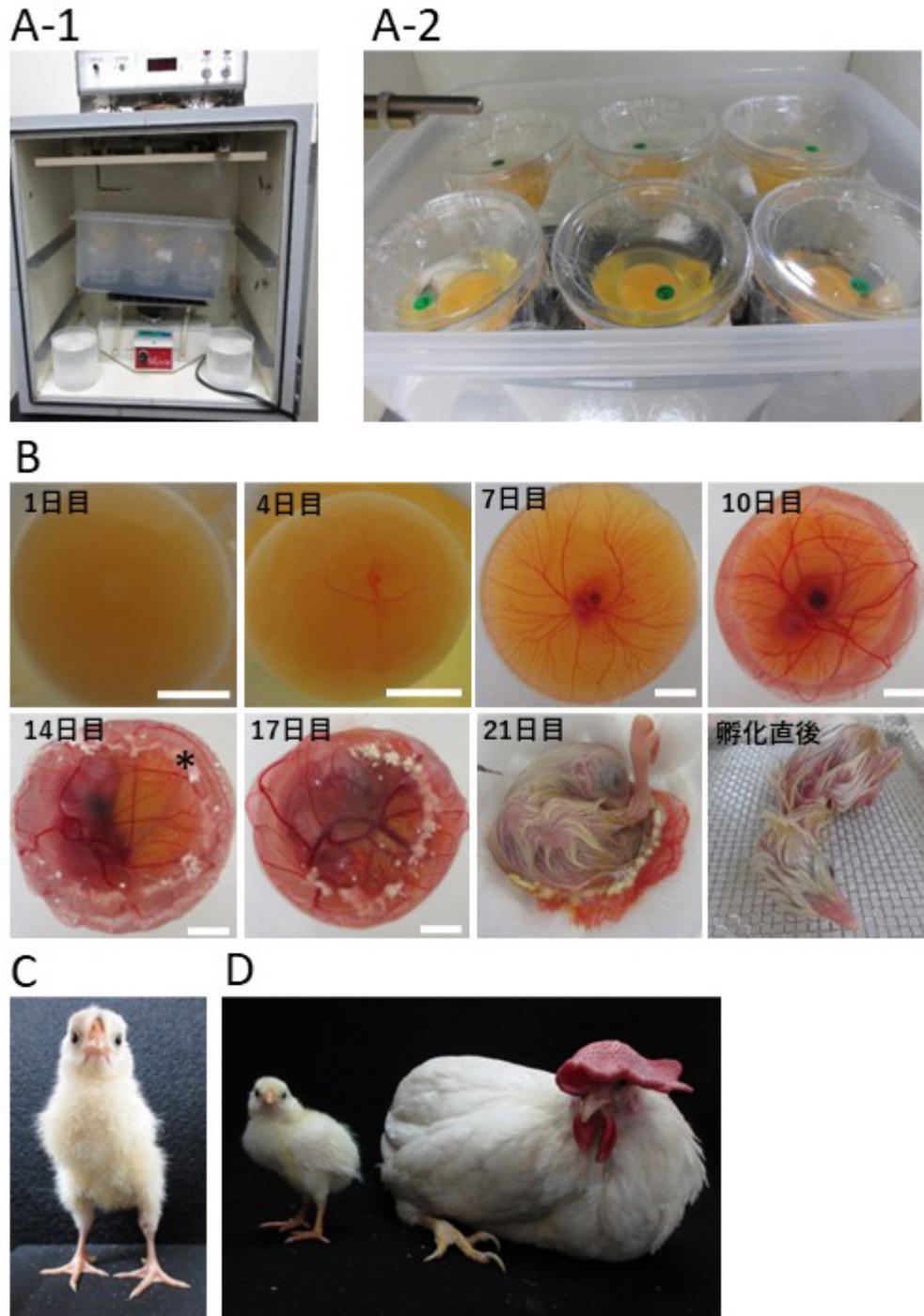


図 本研究の概要

A-1：0日胚を透明なフィルム製の人工培養容器に移した後、7度に傾いた状態で天板が回転するロータリー・シェーカー上で振盪（しんとう）培養している様子。

A-2：ロータリー・シェーカー上で振盪されている人工培養容器

B：各培養日における胚の発生の様子。スケールバーは1cm。14日目の*印は、卵殻の代わりに胚へカルシウムを供給するために漿尿膜（しょうにょうまく）^{注3)}上に添加した炭酸カルシウム粉末。肺呼吸が開始し、漿尿膜がヒナの体から外れた時点を孵化と判定した。

C：本研究で用いた無卵殻培養法で孵化したヒナ

D：性成熟に達した個体（右）と、この個体から生まれたヒナ（左）

用語解説

注1) 孵卵と孵化

母鶏から産み落とされたニワトリ受精卵を、温度と湿度を適切に保ち、かつ一定間隔で転卵することを孵卵といい、孵卵開始 21 日目にヒナが卵殻の外に出て自立呼吸を開始することを孵化という。

注2) 胚盤葉

ニワトリ受精卵は、卵がまだ母体内にある期間中（約 25 時間）に卵割を開始し、約 5 万 5000 個の細胞の塊である胚盤葉を形成する。この時点で、卵殻に覆われた状態で母体から産み落とされる。

注3) 漿尿膜

ニワトリ胚の発生過程で形成される胚全体を覆う膜構造。発生 10 日目前後で胚全体を覆い、膜表面に分布する血管を通じて、ガス交換や卵殻からのカルシウムの吸収などを行う。

研究資金

なし。

掲載論文

【題名】 Real-time visualisation of developing chick embryos cultured in transparent plastic films from the blastoderm stage until hatching.

(透明プラスチックフィルムを用いて培養した胚盤葉期から孵化までのニワトリ胚のリアルタイムな可視化)

【著者名】 K. Obara, C. Obara, M. Naito, A. Asano, and A. Tajima

【掲載誌】 *Scientific Reports*

【掲載日】 2024 年 10 月 3 日

【DOI】 10.1038/s41598-024-72004-y

問合わせ先

【研究に関すること】

浅野 敦之（あさの あつし）

筑波大学 生命環境系 助教

URL: <https://trios.tsukuba.ac.jp/researcher/0000003190>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

岡山理科大学企画部企画広報課

TEL: 086-256-8508

E-mail: kikaku-koho@ous.ac.jp