

地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)

(生物資源分野「生物資源の持続可能な生産・利用に資する研究」領域)

「ベトナム在来ブタ資源の遺伝子バンクの設立と多様性維持が可能な持続的生産システムの構築」

(ベトナム)

国際共同研究期間^{*1}

平成 年 月 日から平成 年 月 日まで

JST 側研究期間^{*2}

平成26年 5月 1日から平成32年 3月31日まで

(正式契約移行日 平成27年 4月 1日)

*1 R/D に記載の協力期間

*2 開始日=暫定契約開始日、終了日=R/D に記載の協力期間終了日又は当該年度末

平成26年度実施報告書

代表者： 菊地和弘
(独)農業生物資源研究所・上級研究員
<平成26年度採択>

I. 国際共同研究の内容（公開）

1. 当初の研究計画に対する進捗状況

研究題目・活動	H26年度 (11ヶ月)	H27年度	H28年度	H29年度	H30年度	H21年度 (12ヶ月)
1. ベトナム在来豚の調査と凍結バンク設立ならびにPERV検出系の確立（生物研グループ） 1-1 ベトナム在来豚遺伝資源の収集（サンプリング） 1-2 ベトナム在来豚の系統解析 1-3 ベトナム在来豚のデータベースの構築 1-4 凍結バンク効率化のための精液凍結法の改良 1-5 PERV 遺伝子座位の同定		←→		←→		
				PCRによる検出	NGSによる座位の同定	
2. ベトナム在来豚の体外胚生産と卵ならびに胚の超低温保存技術の高度化およびPERVフリー豚生産（畜草研グループ） 2-1 ベトナム在来豚の体外胚生産法の確立 2-2 ベトナム在来豚の卵ならびに胚の超低温保存技術の確立 2-3 PERVフリー（低コピー）豚のDNA情報を用いた生産		←→				
	←→					
				←→		
3. ベトナム在来豚由来体細胞クローン胚作製技術の開発と効率的胚移植方法の確立（徳島大グループ） 3-1 体細胞同期化法の検討 3-2 クローン胚培養法の検討 3-3 胚移植法の検討		←→				
			←→			
				←→		
4. ベトナム在来豚農家における疾病調査（動衛研グループ） 4-1 農家における疾病調査 4-2 出荷豚の疾病調査 4-3 農家における病原体調査 4-4 生産性阻害要因のリスク分析	←→					
		←→				
			←→			
				←→		
5. ベトナム在来豚農家における生産性向上のための飼養管理技術の最適化（伊藤忠飼料グループ） 5-1 在来豚の成長成績の調査 5-2 在来豚の飼養状況の調査 5-3 生産性阻害要因のリスク分析		←→				
	←→					
					←→	

2. プロジェクト成果の達成状況とインパクト

(1) プロジェクト全体

・プロジェクト全体のねらい、当該年度の成果の達成状況とインパクト等

在来豚の生息確認とサンプリング・DNA 解析手法の確認を行う。これらにより全体目標である、在来豚遺伝資源の探索調査、分類・同定・特性調査のデータベースを構築、さらに将来相手国により維持管理できる情報管理技術の構築・システムの定着化にむけての研究に早期に着手する体制を整える。

ベトナムを訪問しクライオバンク設置を可能とするベトナム畜産研究所内の建屋調査ならびに電力供給状況に関して現地調査を行う。農業生物資源研究所や国立環境研究所等の遺伝資源保存施設を参考に、ベトナムに適した液体窒素容器ならびに窒素ガス発生装置の設置のための基本構想を固める。また、聞き取りにより在来豚の生息確認を行う。予備実験として、DNA を抽出し解析する方法については、サンプリングした耳介皮膚組織からの効率的な DNA 抽出法ならびに PCR 検出のための条件設定と得られたデータの解析法の構築(上記フローチャートでは研究題目 1 の 1-4 PERV 遺伝子座位の同定に相当)、さらに、生殖工学技術に関しても特に卵子の超低温保存に関する予備実験を行う(研究題目 2 の 2-2 ベトナム在来豚の卵ならびに胚の超低温保存技術の確立に相当)。特に、DNA の解析手法については SNP チップ (PorcineSNP60 Beadchip v2, Illumina 社) を利用した全ゲノム解析の手法が確立されつつある。実用品種においては世界的に研究競争が激化しているため、在来品種においても研究実施が急務と考えられる。MOU 締結と同時に材料移転契約(MTA)を結び、相手国研究員を招へいするなどして在来豚から得られる材料を確保し、日本側研究者の指導の下、農業生物資源研究所において共同で進める。これらの暫定研究を実施することにより、今後提案する DNA 解析法の正当性や効率性が確認でき、また、全体目標である、在来豚遺伝資源の探索調査、分類・同定・特性調査のデータベースを構築、さらに将来相手国による維持管理できる情報管理技術の構築・システムの定着化、発生工学手法の確立にむけての研究に早期に着手することが可能となる。感染症対策と生産システムの確立に関しては、研究題目 4 の 4-1 農家における疾病調査ならびに研究題目 5 の 5-2 在来豚の飼養状況の調査に関連する事項として、関連事項に関して聞き取り調査を行う。また、凍結精液による人工授精技術の定着化を試みるために、ホアビン省畜産水産センターにおいて、在来種(Man)から精液を採取・凍結保存するにあたり必要な機器についての確認、さらに技術指導方法について協議する。

本年度は、暫定研究期間のため、RD/MOU 交渉・早期の締結を目標とし、5 月 17 日から 22 日に研究担当者 3 名が、11 月 18 日から 22 日に 8 名がベトナム側の代表機関である国立畜産研究所、ベトナム科学技術アカデミー・バイオテクノロジー研究所、ベトナム国立農業大学ならびにホアビン省農政局に出張し、研究課題の調整や対象となる現地農家の視察を行った。8 月 7 日から 16 日に 3 名が出張し、JICA ならびに JST の担当者を交え現地で詳細計画策定調査を行った。また、2 月 28 日から 3 月 6 日にはベトナム側研究代表者ら計 4 名が来所し研究計画の最終調整を行った。これらの活動を通じ、上記目標に対する一連の調査を実施した。以下の研究題目 1～3 について重点的に調査・研究を実施した。

(2) 研究題目 1 (PERV 遺伝子座位の同定)

①研究題目 1 の研究のねらい

ベトナム在来豚の系統解析のため、分類・同定のためのサンプリングならびに特性調査のための聞き取り調査を開始する。次に、データベースの構築のために、その入力項目等の策定を行う。さらに、凍

結バンクではベトナム側研究員に凍結法を教授し、本邦の在来豚ならびにベトナムの在来豚で凍結実験を行う。PERV フリー豚集団の開発では、4種類のPERV (PERV-A、PERV-B、PERV-C、およびPERV-E)のうち、ヒト細胞への感染性が確認されているPERV-A およびPERV-B のエンベロープ(Env)遺伝子を特異的に同定するポリメラーゼ連鎖反応 (PCR 法) に基づく検出系の確立を目指す。本暫定研究期間中では、DNA の解析手法について検討を行い、SNP チップについてベトナム在来豚に適用できるかどうかを検討した。

②研究題目1の研究実施方法

研究題目1は生物研グループが実施した。ベトナム国立畜産研究所の研究者が、ベトナムの北部10品種、中部2品種および南部3品種のサンプルを収集し、それらベトナム在来豚15品種に加え、ベトナムで飼育されている西洋種(ランドレース種)についてDNAを抽出した。国立畜産研究所と生物研でMTAを締結したことから、これらのDNAサンプルを生物研に移送し、SNPチップを用いて網羅的なジェノタイピングを行った。さらに、ベトナム在来の15品種について、PERV-A およびPERV-B のEnv遺伝子を検出可能なプライマーセットによるPCR解析を行った。

③研究題目1の当初の計画(全体計画)に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

Porcine60k SNPチップは西洋種を基として構築されているが、ベトナム在来豚についても品種判別が可能な量のSNPを得ることができた。主成分分析の結果、一部の品種において西洋系の品種との間で交雑された可能性が示唆された。PERVのPCR解析の結果、ベトナム在来豚の一部の品種においてPERV-A およびPERV-B 遺伝子のPCR増幅が弱い、あるいは、確認できないものがあった。それらの個体については、PERV 遺伝子のコピー数が少ない可能性が考えられるが、より詳細な検討が必要である。

④研究題目1のカウンターパートへの技術移転の状況

本成果をさらに確認し、次年度以降に技術移転が可能となるよう準備する。

⑤研究題目1の当初計画では想定されていなかった新たな展開

特になし。

(3) 研究題目2(ベトナム在来豚の卵ならびに胚の超低温保存技術の確立)

①研究題目2の研究のねらい

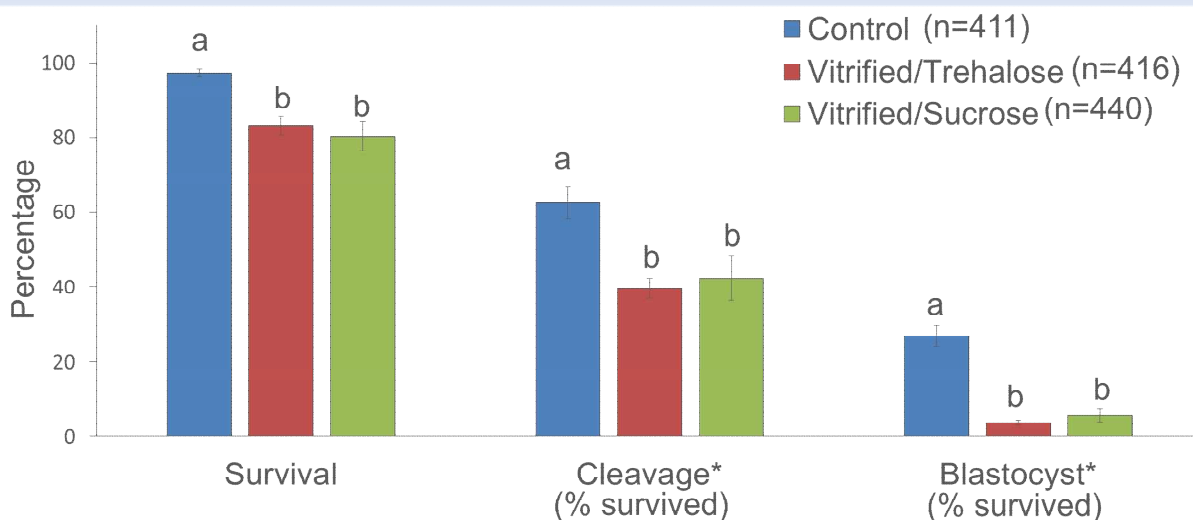
研究題目2はベトナム在来豚における未受精卵ならびに初期胚(精子と卵子を体外受精させて一定期間培養した体外生産胚を想定する)の超低温保存法の確立を目的とする。また、凍結バンクにおいては精子と卵子を別個に保存して必要時にそれぞれを融解・加温することで、目的の形質をもったものから胚を作出することで、次世代の育種・系統造成を可能にする。したがって、本研究においては超低温保存法確立と同時に、ベトナム在来豚において体外で胚を生産するシステムを開発する。暫定研究では、未受精卵の凍結に関して予備実験を行った。

②研究題目2の研究実施方法

正式契約移行後は畜草研グループが実施するため、暫定研究期間中は生物研グループと共同して研究

を実施した。凍結保護剤（非浸透性凍結保護物質）の一つとして、通常使われているトレハロースと安価で求めやすいシュクロース（ショ糖）の未成熟卵子の効果について検討した。主効果をしめす凍結保護剤（透過性凍結保護物質）として17.5%エチレングリコールと17.5%プロピレングリコールを用い、それぞれ、0.3 Mのトレハロースまたは0.3 Mのシュクロースを設定し、定法通りガラス化冷却を行った。液体窒素中に保存後加温を行い、生存性を判定した。また、凍結保護剤処理ならびにガラス化処理を行わない対照区（通常に採卵を行った無処理の区）を設定した。図の通り、トレハロースならびにシュクロースは生存性、体外受精後の卵割率、6日間培養後の羽胚盤胞発生率に差がなかった。未受精卵子のガラス化では、トレハロースの代わりにシュクロースを使用できることが明らかとなった。

The feasibility of trehalose and sucrose



*All surviving oocytes were subjected to IVF.
4 replications were performed. a and b in the same category differ significantly.

③研究題目2の当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

多くの卵子を超低温する場合、安価なシュクロースを使用できる。また、胚への提要の可否については今後検討する必要がある。

④研究題目2のカウンターパートへの技術移転の状況

本成果をさらに確認し、次年度以降に技術移転が可能となるよう準備する。

⑤研究題目2の当初計画では想定されていなかった新たな展開

特になし。

(4)研究題目4、5（農家における疾病調査ならびに在来豚の飼養状況の調査）

①研究題目4、5の研究のねらい

ホアビン省において、畜産研究所、農業農村開発課(DARD)、畜産水産センター、および地域(District)技術代表者を含めた打ち合わせ会を実施し、分娩間隔を2カ月短縮する生産システムを確立するためのモデル農家について調査および選定作業を行う。

②研究題目 4、5 の研究実施方法

正式契約移行後は動衛研グループならびに伊藤忠飼料グループが実施する。暫定研究では、数少ない機会ではあったが両グループから研究者がホアビン省の獣医事務所ならびに農家を訪れることができた。担当する獣医や指導員や農家からの聞き取り調査により、死亡率の高さが問題と認識しているが具体的な疾病の診断に至っていないケースが多いこと、飼養状況としては、粗飼料が多給されており近代的な給餌法に比べ低蛋白質と考えられ、削瘦した個体が多いことを確認した。

③研究題目 4、5 の当初の計画（全体計画）に対する当該年度の成果の達成状況とインパクト

ホアビン省の獣医や指導員や農家からの聞き取りを通じて、上記の情報に加えて、発育成績などの飼養状況調査や疾病調査を行うために必須となる個体管理に基づく飼養が現地農家においても可能であることが確認できた。そのため、当初目標に到達できなくなるような大きな障害はこれまでに見つかっていないと考える。

④研究題目 4、5 のカウンターパートへの技術移転の状況

暫定研究では本格的な研究を始動できなかったことから、正式契約以降後に技術移転が可能となるよう準備する。

⑤研究題目 4、5 の当初計画では想定されていなかった新たな展開

特になし。

II. 今後のプロジェクトの進め方、および成果達成の見通し（公開）

平成 27 年 4 月より正式契約に移行する。成果達成の見通し、上位目標に向けての貢献や成果については、暫定研究計画時のものを踏襲する。

III. 国際共同研究実施上の課題とそれを克服するための工夫、教訓など（公開）

(1)プロジェクト全体

・プロジェクト全体の現状と課題

本年度中に R/D ならびに MOU の署名を終えたことから、早期にプロジェクトを開始することとなる。実際に研究を実施するにあたり現地研究者との詳細な打ち合わせが必要である。

・各種課題を踏まえ、研究プロジェクトの妥当性・有効性・効率性・自立発展性・インパクトを高めるために実際に行った工夫

暫定研究期間のため、特筆すべき点はない。

・プロジェクトの自立発展性向上のために、今後相手国（研究機関・研究者）が取り組む必要のある事項

相手国代表研究機関(国立畜産研究所)が、カウンターバジェットの申請済みである。また、ベト

ナム科学技術アカデミー・バイオテクノロジー研究所においても申請を予定していると聞いている。採択されたのちは、日本側研究者とともに実施計画を立て、必要な機械類の策定や消耗品の購入を行う必要がある。

(2)研究題目1 ベトナム在来豚の調査と凍結バンク設立ならびに PERV 検出系の確立

(生物研グループ)

- ・ 相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用。

暫定研究では、実際に材料のやりとりはあったが、共同で実験をする機会が得られなかった。研究担当者との詳細な打ち合わせが不足している感がある。会議、電子メールやスカイプを通じてより密なコミュニケーションを図る。

- ・ 類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等
特になし。

(3)研究題目2 ベトナム在来豚の体外胚生産と胚の超低温保存技術の高度化およびPERVフリー豚生産

(畜草研グループ)

- ・ 相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用。

暫定研究は生物研と共同で国内で実施したため、ベトナム側の研究担当者との詳細な打ち合わせが不足している。会議、電子メールやスカイプを通じてより密なコミュニケーションを図る。

- ・ 類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等
特になし。

(4) 研究題目3 ベトナム在来豚由来体細胞クローン胚作製技術の開発と効率的胚移植方法の確立

(徳島大グループ)

- ・ 相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用。

ベトナム出身の大学院生を中心に共同研究の準備過程であるが、初年度であるためベトナム側研究担当者との詳細な打ち合わせが不足している。会議、電子メールやスカイプを通じてより密なコミュニケーションを図る。

- ・ 類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等
特になし。

(5) 研究題目4 ベトナム在来豚農家における疾病調査

(動衛研グループ)

- ・ 相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用。

暫定研究期間中には具体的な共同研究の実施には至らず、研究担当者間で設備等の現状確認を行ったところである。今後共同研究を開始するにあたり、より密なコミュニケーションを図る必要がある。

ある。特に現地農家での調査のためには、カウンターパートとなる現地研究者との協力・連携体制の構築が重要と認識している。

- ・ 類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等
特になし。

(6)研究題目5 ベトナム在来豚農家における生産性向上のための飼養管理技術の最適化
(伊藤忠飼料グループ)

- ・ 相手国側研究機関との共同研究実施状況と問題点、その問題点を克服するための工夫、今後への活用。

暫定研究では、研究担当者間で設備等の現状確認を行ったところであるが、現地農家の視察は一部に留まり全体像を把握するまでの機会が得られなかった。今後共同研究を開始するにあたり、研究担当者や現地普及所との詳細な打ち合わせが不足していると思われ、特に現地農家での調査のためには、カウンターパートとなる現地研究者との協力・連携体制の構築が重要と認識している。今後、会議や電子メール等を通じてより密なコミュニケーションを図る。

- ・ 類似プロジェクト、類似分野への今後の協力実施にあたっての教訓、提言等
特になし。

IV. 社会実装（研究成果の社会還元）（公開）

(1)成果展開事例

(2)社会実装に向けた取り組み

V. 日本のプレゼンスの向上（公開）

VI. 成果発表等（公開）

VII. 投入実績（非公開）

VIII. その他（公開）

以上

VI(1)(公開)論文発表等

	国内	国際
原著論文 本プロジェクト期間累積件数		

①原著論文(相手側研究チームとの共著論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記ください。)

論文数 0 件
 うち国内誌 0 件
 うち国際誌 0 件
 公開すべきでない論文 0 件

②原著論文(相手側研究チームとの共著でない論文)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	DOIコード	国内誌/ 国際誌の別	発表日 ・出版日	特記事項 (分野トップレベル雑誌への掲載など、特筆すべき論文の場合、ここに明記ください。)

論文数 0 件
 うち国内誌 0 件
 うち国際誌 0 件
 公開すべきでない論文 0 件

	国内	国際
その他の著作物 本プロジェクト期間累積件数		

③その他の著作物(相手側研究チームとの共著のみ)(総説、書籍など)

著者名,タイトル,掲載誌名,巻数,号数,頁,年	出版物の 種類	発表日 ・出版日	特記事項

著作物数 0 件
 公開すべきでない著作物 0 件

④その他の著作物(相手側研究チームとの共著でないもの)(総説、書籍など)

著者名,論文名,掲載誌名,出版年,巻数,号数,はじめ-おわりのページ	出版物の 種類	発表日 ・出版日	特記事項

著作物数 0 件
 公開すべきでない著作物 0 件

⑤研修コースや開発されたマニュアル等

研修コース概要(コース目的,対象,参加資格等),研修実施数と修了者数	開発したテキスト・マニュアル類	特記事項

VI(2)(公開)学会発表

	国内	国際
招待講演 本プロジェクト期間累積件数		
口頭発表 本プロジェクト期間累積件数		
ポスター発表 本プロジェクト期間累積件数		1

①学会発表(相手側研究チームと連名のもののみ)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国内/ 国際の別	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
			0	0	0

②学会発表(相手側研究チームと連名でないもの)(国際会議発表及び主要な国内学会発表)

年度	国内/ 国際の別	発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日等	招待講演	口頭発表	ポスター発表
2014	国際学会	Somfai T, et al. (NARO Institute of Livestock and Grassland Science) comparison of sugars, combinations of permeable cryoprotectants, and equilibration regimens for the solid surface vitrification of immature porcine oocytes. 2015 Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, 2015年1月10~13日, フランス国パリ市			○
			0	0	1

VI(3)(特許出願した発明件数のみを公開し、他は非公開)特許出願

①国内出願

	出願番号	出願日	発明の名称	出願人	知的財産権の種類、出願国等	相手国側研究メンバーの共同発明者への参加の有無	その他 (出願取り下げ等についても、こちらに記載して下さい)	関連する論文のDOI	発明者	発明者所属機関	関連する外国出願※
記載例	2012-123456	2012/4/1	○○○○						戦略太郎	○○大学 ◎◎研究 科△△専 攻	PCT/JP2012/123456
No.1											
No.2											
No.3											
No.4											
No.5											
No.6											
No.7											
No.8											
No.9											
No.10											

※関連する外国出願があれば、その出願番号を記入ください。

国内特許出願数
公開すべきでない特許出願数

②外国出願

	出願番号	出願日	発明の名称	出願人	知的財産権の種類、出願国等	相手国側研究メンバーの共同発明者への参加の有無	その他 (出願取り下げ等についても、こちらに記載して下さい)	関連する論文のDOI	発明者	発明者所属機関	関連する国内出願※
記載例	PCT/JP2012/123456	2012/9/20	○○○○						戦略太郎	○○大学 ◎◎研究 科△△専 攻	特願2010-123456
No.1											
No.2											
No.3											
No.4											
No.5											
No.6											
No.7											
No.8											
No.9											
No.10											

※関連する国内出願があれば、その出願番号を記入ください。

外国特許出願数
公開すべきでない特許出願数

VI(5) (公開)ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等の活動

①ワークショップ・セミナー・シンポジウム・アウトリーチ等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
		(開催国)	(相手国からの招聘者数)	

②合同調整委員会開催記録(開催日、出席者、議題、協議概要等)

年月日	出席者	議題	概要

JST成果目標シート

研究課題名	ベトナム在来ブタ資源の遺伝子バンクの設立と多様性維持が可能な持続的生産システムの構築
研究代表者名 (所属機関)	菊地 和弘 (国立研究開発法人 農業生物資源研究所 上級研究員)
研究期間	H26 採択(平成27年4月～平成32年3月)予定
相手国名／主要相手国研究機関	ベトナム社会主義共和国/ 農業農村開発省畜産研究所 他

付随的成果

日本政府、社会、産業への貢献	<ul style="list-style-type: none"> ・ベトナムのミニブタが利用できる。 ・再生医療技術への貢献。
科学技術の発展	<ul style="list-style-type: none"> ・未受精卵凍結法、発情同期化・胚移植法、体細胞クローン技術確立。 ・感染症防御・検疫技術、飼養管理技術の普及。 ・簡易型遺伝子バンクシステムの各国への普及。
知財の獲得、国際標準化の推進、生物資源へのアクセス等	<ul style="list-style-type: none"> ・ベトナム在来豚の遺伝的情報の入手・公開。 ・豚内在性レトロウイルス未感染ミニ豚系統の優先的使用権の確保。
世界で活躍できる日本人人材の育成	<ul style="list-style-type: none"> ・参画学生、特別研究員、若手常勤研究員名で原著論文ならびにレビュー等の論文作成、一流誌への掲載。
技術及び人的ネットワークの構築	<ul style="list-style-type: none"> ・外国人大学院生等若手研究者の確保と育成。 ・研究員の恒久的なネットワークの確立。
成果物(提言書、論文、プログラム、マニュアル、データなど)	<ul style="list-style-type: none"> ・新規卵子超低温保存等、確立技術の特許出願。 ・遺伝資源データベースの確立。 ・遺伝子バンクの保存・評価・導入マニュアル、繁殖技術普及マニュアルなどの発行。 ・ウェブサイトにて成果の公開。

上位目標

自立可能な在来豚の遺伝子バンクの設立・運用が可能となる。

利用付加価値のある豚(在来豚)を農家が販売でき、特性を有する実験用ブタ(PERVフリー豚)を発掘・利用できる。

プロジェクト目標

ベトナム優良在来ブタを探索・評価し、それを活用するための遺伝子バンクシステムが構築される

