

国際科学技術共同研究推進事業
地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)

研究領域「生物資源の持続可能な生産・利用に資する研究」

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」

採択年度：平成 26 年度/研究期間：3・4・5年/相手国名：ベトナム

平成 28 年度実施報告書

国際共同研究期間*1

平成 27 年 5 月 5 日から平成 32 年 5 月 4 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 に基づいた協力期間 (JICA ナレッジサイト等参照)

*2 開始日=暫定契約開始日、終了日=JST との正式契約に定めた年度末

研究代表者： 菊地 和弘

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

生物機能利用研究部門・主席研究員

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

(1) 研究の主なスケジュール

研究題目・活動	H26年度 (11ヶ月)	H27年度	H28年度	H29年度	H30年度	H31年度 (12ヶ月)
<p>1. ベトナム在来豚の調査と凍結バンク設立、PERV検出系の確立ならびにPERVフリー豚生産(バンク/育種研究グループ)</p> <p>1-1 ベトナム在来豚遺伝資源の収集(サンプリング)</p> <p>1-2 ベトナム在来豚の系統解析</p> <p>1-3 ベトナム在来豚のデータベースの構築</p> <p>1-4 凍結バンク効率化のための精液凍結法の改良</p> <p>1-5 PERV 遺伝子座位の同定</p> <p>1-6 PERV フリー(低コピー)豚のDNA 情報を用いた生産</p>		←→	←→	←→		
		←→	←→	←→		
		←→	←→	←→		
		←→	←→	←→		
	←→	PCR による検出	←→	NGS による座位の同定	←→	
			←→	←→		
<p>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(体外胚生産/保存研究グループ)</p> <p>2-1 ベトナム在来豚の体外胚生産法の確立</p> <p>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</p>		←→	←→			
	←→					
<p>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(クローン研究グループ)</p> <p>3-1 体細胞同期化法の検討</p> <p>3-2 クローン胚培養法の検討</p> <p>3-3 胚移植法の検討</p>		←→	←→	←→		
		←→	←→	←→		
			←→	←→		
<p>4. ベトナム在来豚農家における疾病調査(疾病対策研究グループ)</p> <p>4-1 農家における疾病調査</p> <p>4-2 出荷豚の疾病調査</p> <p>4-3 農家における病原体調査</p> <p>4-4 生産性阻害要因のリスク分析</p>	←→	←→	←→	←→		
		←→	←→	←→		
			←→	←→	←→	
				←→	←→	

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（飼養管理研究グループ）						
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) プロジェクト開始時の構想からの変更点(該当する場合)

上記研究題目1のうち、1-1「ベトナム在来豚遺伝資源の収集（サンプリング）」については、PERV 遺伝子コピー数が少ない(PERV 低コピー)ことが見込まれる集団を含む地域が特定されてきたことから、該当地域における追加のサンプリングを計画し、詳細な解析を実施することにした。そのため、研究活動の期間を H29 年度までに延長した。それに伴い、1-6「PERV フリー(低コピー)豚の DNA 情報を用いた生産」の開始を H29 年度からに変更した。

2. プロジェクト成果の達成状況とインパクト (公開)

(1) プロジェクト全体

・成果目標の達成状況とインパクト等

全体的には計画に基づき概ね年次計画目標を達成していると考えられる。活動にともない、データの集積が進み、徐々に学会発表、論文発表、著作物が増えてきている。

研究題目1については、分類・同定・特性調査のデータベースを構築すること、在来豚精液を保存する凍結バンクを設立すること、ならびに、効率的な PERV 検出系を確立することを目標とする。全般的に、概ね順調に推移していると思われる。ミニブタに対応する精液保存法の開発を日越共同で行うことについてはその手法を確認し、プロトコールを作成する状態となっている。ジーンバンク用の液体窒素タンクを購入し既に国立畜産研究所(NIAS-V)に設置した。ある程度の本数の凍結精液が確保されたら、液体窒素を充填し本格運用を開始する。なお、液体窒素発生装置については電気代が多額にかかることから、NIAS-V との協議の上システム導入を取りやめた。カウンターパート予算として計上していた電気代については液体窒素購入代に振り替えることとした。在来豚からのサンプリングならびに系統解析を進め、凍結バンクに導入するブタをリストアップするとともに導入方法を策定することについては、人員や予算の確保が不十分となり、いくつかの省でのサンプリングが来年度にずれ込むこととなった。短期研修についてはデータベース構築分野(2ヶ月・1名)ならびに蛍光インサイチュハイブリダイゼーション分野(4ヶ月・1名)の受入れを予定していたが、実際のニーズに合わせ後述の通り変更した。長期研修について予定通り受け入れを開始した。PERV フリー豚集団の開発では PERV 遺伝子コピー数の測定方法に加え、ゲノム中での座位の特定を可能とする方法の開発に着手した。データの取得については NIAS-V の手法について若干のブレが生じることからその手法について確認をおこなった。また、PERV フリー(低コピー)豚の DNA 情報を用いた生産では、実際にフリー豚が得られるかについて確認する。DNA 解析の結果から低コピー豚が

【平成 28 年度実施報告書】【170531】

多く生息する地域（イエンバイ省）を確認し二次サンプリングを実施し候補個体の選定を行っている。既に、タイグエンでは導入施設がほぼ完了し、育種施設の設計を行い早期の施工を目指している。輸出検疫のためのソフト面のシステム整備にとりかかる。

研究題目 2 では、在来豚における体外生産胚の作出技術ならびに卵および胚の超低温保存技術の確立を目指し、その指標としては胚移植により産子作製を行うことを目標とする。本年度は、昨年度に問題となった在来豚の卵巣を確実に入手するルートを豚の購入によって確実にした。それにより、Ban 種の凍結精液と体外受精卵での体外胚生産（胚盤胞が）が可能とであることが確認された。卵の核の成熟状況や発生に影響をおよぼす培養法（培養液添加物の影響等）については、卵の成熟率や胚の発生率のデータから、在来豚についても従来法が適用できることを確認した。胎子への発生の実験（移植実験）は研究題目 3 とともに 3 年目より実施する計画である。NIAS-V の遺伝資源施設に採精ならびに胚移植のための専用施設を設立する必要がある。データも集積されて、論文化の具体的なプランもたっていることから順調に進んでいると考える。

研究題目 3 では、核移植に用いる体細胞の同期化法と培養方法の確立を行うが、その指標としては在来豚由来のクローン胚（胚盤胞）が作製されることを指標とし、胚移植によるクローン産子の作製を目指す。当初目標としていた、体細胞クローン作製に必要なベトナム側の機器整備については前半期に行うこととしたが、年度後半になってようやく前年（27 年）度に続き本年（H28 年）度に供与機器を設置することができた。クローニング操作分野では短期研修員（2 名）を受け入れたことにより、体細胞クローン技術の教授、ならびにクローンに有効な培養液を選択することができた。今後これらの研修員が帰国することで、ベトナムの研究室において、ベトナムの在来豚を用いた研究が加速されると期待される。また、長期研修について後述の通り変更した。

研究題目 4 では、ホアビン省 Da Bac 地区を中心に、衛生面を中心とした飼養管理状況の把握を行い、生産性向上のための農家指導のポイントを抽出した。研究題目 5 と共同してモデル農家の選定を行い、大まかな生産性阻害要因を把握するため個体管理に基づく日齢別の調査を継続した。また、病原体を特定するための検体輸送と検査法の最適化を行った。調査対象地域全体の疾病調査を行うため、と畜場における肉眼写真及び材料の採取方法を検討する。感染症診断分野として短期研修員（3 名・各 1 か月）を受け入れた。

研究題目 5 では、飼料面を中心に飼養管理状況の把握を行い、生産性向上のための農家指導のポイントを抽出した。在来豚生産システムを実証展示するためのモデル農家の選定（ホアビン省 Da Bac 地区を想定して調整中）を行い、2 ヶ月離乳を目指した子豚用飼料の考案及び現地飼料を主体とした母豚飼料の増し飼い方法を検討した。ホアビン省からは、日本の畜産現場とブランド化の視察に関して短期研修員（6 名・各 2 週間）を受け入れた。

・プロジェクト全体のねらい（これまでと異なる点について）

特になし。

・地球規模課題解決に資する重要性、科学技術・学術上の独創性・新規性（これまでと異なる点について）

研究題目 1 について、これまでに得られた在来豚の遺伝的類縁関係に関するベトナム側の研究発
【平成 28 年度実施報告書】【170531】

表(Pham et al., J Anim Breed Genet. 2014:379-386)より、大規模かつ詳細な解析を行い、現存する在来豚集団に関する系統関係を解明することによって、遺伝資源の多様性の維持・保全に関する指針を提示することができるようになり、新たな知見に基づく遺伝子バンクの構築に寄与している。

・研究運営体制、日本人人材の育成(若手、グローバル化対応)、人的支援の構築(留学生、研修、若手の育成)等

昨年度は、日本側研究者の活動がベトナムへの専門家派遣という形に集約する形となったが、今年度については短期研修のための研究員の招へいに注力した。研究題目1ではデータベース構築(1名・約1ヶ月)ならびに蛍光インサイチュハイブリダイゼーション(1名・約2ヶ月)、研究題目2では超低温保存(1名・約1ヶ月)、研究題目3ではクローニング操作(2名、それぞれ約4ならびに5ヶ月)、研究題目4では感染症診断(3名・それぞれ約1ヶ月)、研究題目5では畜産とブランド化(6名・それぞれ約2週間)で、全体で14名を受け入れた。長期研修のための研究員(留学生)としては、研究題目1ならびに2において、10月よりSATREPS枠の国費留学生(山口大学大学院獣医学研究科)1名(修業年限4年)を受入れ、農研機構・生物機能利用研究部門において「ブタ体外生産胚の効率的利用のための多能性遺伝子発現に関する研究」を開始した。なお、当初予定していた研究題目3に配置予定だったJICA枠の留学生について、入学試験の関係から来年(29年)度4月の受入開始となる予定である。

一方、日本側の人材育成という観点からは、JST研究費で雇用しているポスドク研究員1名をはじめ、若手研究員(42歳以下)が7名も参画している。ベテラン研究員のプロジェクト実践のノウハウが学べる機会であるだけでなく、自らの最新の研究成果を実際の応用研究に適用する絶好の機会であり、人材育成の一端にも高く貢献するものと考えられる。

(2) 研究題目1:「ベトナム在来豚の調査と凍結バンク設立、PERV検出系の確立ならびにPERVフリー豚生産」

バンク/育種研究グループ(リーダー:菊地和弘)

① 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

1) 在来豚のDNAを用いた遺伝的系統関係を解析する研究手法、および、PERV遺伝子コピー数の検出方法を構築した。在来豚の遺伝的な系統関係を明らかにするため、17省から合計1575個体のDNAサンプルを調製し、マイクロサテライトマーカーによる遺伝子型判定を着実に推進している。さらにPERV遺伝子コピー数の測定方法を開発し、これまでに得られた個体を用いた比較解析を行うことにより、幾つかの地域においてPERV低コピー個体を検出した。PERV遺伝子コピー数については、これまでに採取したサンプルの地域間あるいは系統間で差異が認められることが明らかとなった(図1)。

2) データベースに関しては、実際にベトナムで取得したフィールドデータを持ち込み、短期研修を通じて基本的な構築について日越で確認した。現在はマイクロソフトのアクセスをベースにデータベースを管理しているが、今後は、サーバーにて運営するかなどを検討し、ベトナム側の需要を見越した上で発展を目指す。

【平成28年度実施報告書】【170531】

3) 精液の保存については、日本側の専門家が訪越しその手法の最終確認をおこなった。これをもとに凍結バンクの運用に向けたプロトコルを制定する予定である。さらに、射出精子のみならず、精巢上体精子についても凍結バンクの対象となるため、実際に在来豚(Ban 種)3 頭からの採取・凍結を行った。凍結した精子については今後凍結バンクに導入をする予定である。

4) PERV フリー豚生産に関する研究は、Thai Nguyen の豚の育種豚舎の建築の遅れがあり、竣工次第(H29 年度秋予定)実施するため、本年度は実施しなかった。

② 研究題目 1 のカウンターパートへの技術移転の状況

在来豚の系統解析、PERV 遺伝子コピー数の検出法、ならびにデータベース構築に関する短期研修を実施し、ベトナム側研究者に対する技術移転を行った。その成果により、系統解析および PERV 遺伝子コピー数の測定はベトナム畜産研究所において実施可能となり、データベース構築は今後、進展することが期待される。日本人ポスドク研究員 1 名がベトナム側研究機関と協働して在来豚遺伝資源の収集を推進しており、在来豚 DNA を用いた系統解析およびデータベース構築に向けた取り組みに従事している。またこれらの活動に関して、ベトナム側研究員 2 名 (PERV 遺伝子座の同定、データベース構築、各 1 名) を招聘し指導を行った。また、10 月より SATREPS 枠の国費留学生(山口大学大学院獣医学研究科)を受入れ、「ブタ体外生産胚の効率的利用のための多能性遺伝子発現に関する研究」を開始した。将来的に、修了後に帰国した場合、多大な技術移転が期待できる。

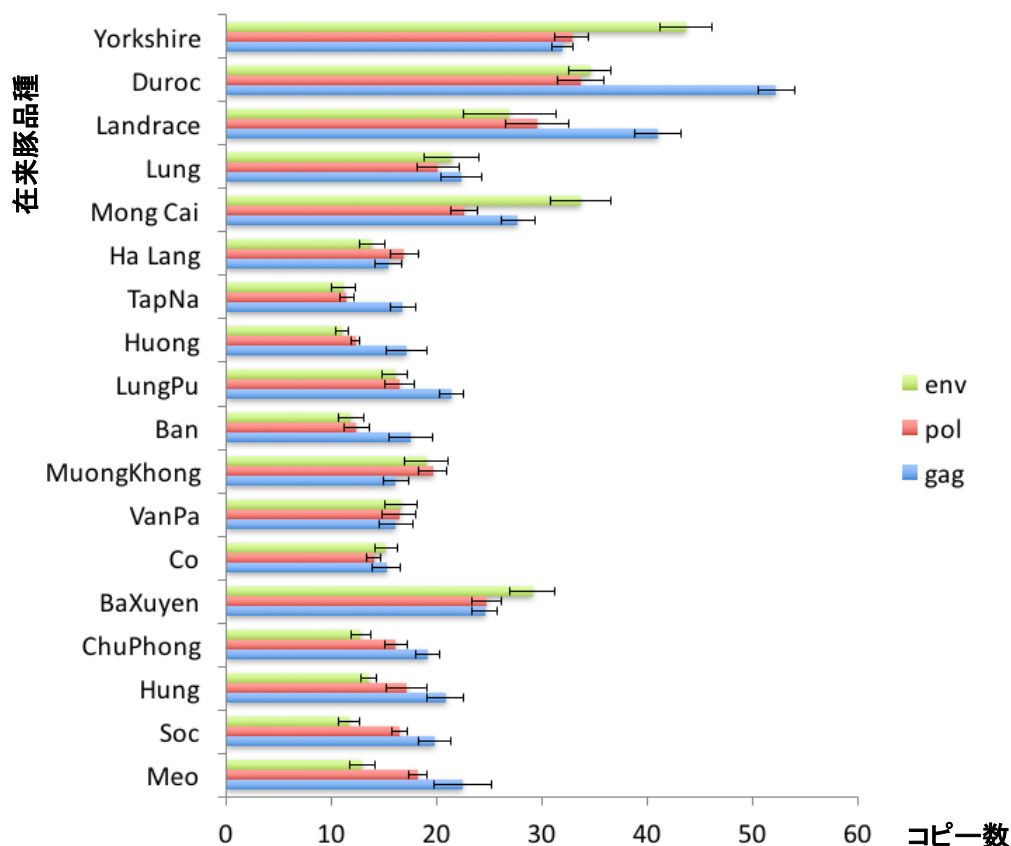


図 1. ベトナム在来豚系統間の PERV 遺伝子コピー数の比較

Yorkshire、Duroc および Landrace は西洋種であり、PERV 遺伝子コピー数が多いが、ベトナム在来豚系統の多くは、PERV 遺伝子コピー数が少ない。gag、pol および env は PERV に含まれる 3 種類の遺伝子を示す。品種名の表記は農業農村開発省の報告(2013)による。

【平成 28 年度実施報告書】【170531】

③ 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

Thai Nguyen の育種豚舎の建築が低コストで行えるよう、計画が修正された。これにより、計画よりも効率的に豚群の管理ができる見込みである。

④ 研究題目 1 の研究のねらい (参考)

日本が構築したシステムを基にベトナム型凍結バンクを設立し、それを効率的に運用する。

⑤ 研究題目 1 の研究実施方法 (参考)

上記目標のため、1) ベトナム在来豚の系統解析: 希少遺伝資源の探索調査を実施する。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行う。2) ベトナム在来豚のデータベースの構築: 分類・同定・特性調査のデータベースを構築してシステムの定着化を図る。3) 凍結バンク効率化のための精液凍結法の改良: 既存の凍結技術をベトナム在来品種に適用し、より融解後の生存率や高受胎率が望める凍結保存技術に修正する。また、PERV 座位の検出方法を確立し、PERV コピー数を検討する。さらに、RERV フリー豚を育種・造成するシステムを構築する。

(3) 研究題目 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」

体外胚生産/保存研究グループ (リーダー: ソムファイ タマス)

① 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

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。

1) ベトナム在来豚の凍結精子を使ったブタ体外胚生産のための体外受精法の最適化

カウンターパート機関の IBT (バイオテクノロジー研究所) において、在来品種である Ban から凍結保存精巣上体精子を作製しこれを利用する体外受精 (IVF) システムの最適化をおこなった。この精子を用い、と畜場由来の西洋種であるランドレース種の卵巣から卵を採取して IVF を行った。昨年度は、IVF 時の至適精子濃度が 1×10^6 精子/ml、IVF 液として TALP-PVA よりも Pig FM 液がより優れていることが判明しているが、その条件で IVF を行っても受精率は 30% を下回っていた。そこで、本年度は、体外受精に先立ち、卵の周囲に存在する卵丘細胞を部分的に除去し卵を裸化し、物理的な障壁を少なくして Ban 精子の受精能が向上することを期待した。また、IVF 液に受精能を高めるために加えるカフェインの濃度を通常 2 mM から 5 mM に、さらに精子と卵子の共培養 (媒精) 時間を通常 3 時間 から 6 時間 に増やしたところ、受精率は有意に増加し 50% を越える値を示した (表 1)。以上のことから、Ban 精子の使用条件が整った。すなわち IVF システムの最適化が完了した。本データは近日中に雑誌に投稿する。

表 1. カフェイン濃度と卵と精子の共培養時間が、Ban 種の凍結融解精巣上体精子の体外成熟卵への受精に及ぼす影響.

カフェイン濃度	供培養時間	総卵数	精子侵入卵数 (% 総卵数)	正常受精卵数 (% 総卵数)	単精子受精卵数 (% 精子侵入卵)
2 mM	3 h	87	13 (15.2±1.9) a	13 (15.2±1.9)	13 (100±0) b
5 mM	3 h	78	21 (27.0± 3.9) ab	17 (21.8±6.4)	18 (83.3±9.6) ab
2 mM	6 h	96	25 (26.6±4.6) ab	18 (19.1±3.0)	23 (92.5±3.8) ab
5 mM	6 h	80	47 (58.8±10.9) b	22 (28.1±8.1)	26 (57.3±9.4) a

IVF には Pig FM 液を用い、卵丘細胞を部分的に除去した卵を用いた。3 回の反復実験を行った。データは平均±標準誤差で示している。同じ列の a ならびに b の符号のついたデータに有意差あり ($P < 0.05$)。

2) 卵の核ならびに細胞質成熟の進行に及ぼすガラス化冷却の影響

農研機構生物機能利用研究部門 (NIAS-J) の施設において短期研修員とともに、ガラス化前の処理についていくつかの要因を最適化することで、卵の超低温保存のプロトコルを改良した。まず、ガラス液に浸漬する時間を 60 秒よりも短くし生存性や胚発生に問題ないことを確認した。さらに、通常行うサイトカラシン B にて 40 分間の処理が省略できること、また通常使うウシ血清アルブミンの代わりに、ポリビニルピロリドン (PVP) を使うことで、胚の生産効率を失うことなく、卵の処理を行えることを確認した。さらに、卵を処理する耐凍剤を含んだガラス化液の温度を 25°C で処理することで胚の生産効率がよくなることが明らかになった (表 2)。これらの試薬・手法を採用することで、ガラス化をより安価に、迅速にかつ効率よく胚を生産できることが明らかとなった。早急に本データを取りまとめ、雑誌に投稿する予定である。

表 2. 異なった温度でガラス化冷却した未成熟ブタ卵の生存と胚発生

	処理卵総 数	生存卵数 (% 総卵数)	成熟卵数 (% 生存卵数)	卵割胚数 (% 成熟卵数)	胚盤胞 (% 成熟卵数)
対照区 (非ガラス化)	151	99.3±0.6a	92.6±0.9a	91.7±1.3a	73.6±5.1a
38°Cでガラス化	186	67.2±7.5b	84.0±2.9b	71.4±4.0b	21.4±3.0c
25°Cでガラス化	191	66.4±5.9b	82.1±4.0b	75.2±9.4b	34.4±7.7b

胚の発生は単為発生処理 (電気刺激) により確認した。3 回の反復実験を行った。データは平均±標準誤差で示している。同じ列の a, b ならびに c の符号のついたデータに有意差あり ($P < 0.05$)。

さらに本年度は、NIAS-V にて、Ban 種未成熟卵のマイクロドロップによるガラス化冷却に着手した。これは、ベトナム在来豚では初めての試みとなる。ガラス化冷却した卵は加温、体外成熟し、凍結融解した Ban 種精子と体外受精を行った。加温後の生存性、体外成熟、さらに受精後の胚の発生率を、と畜場由来の Landrace 種の卵と比較した。3 回の反復を行ったところ、Ban 種も Landrace 種のどちらも高い生存率を示した (表 3)。また、卵の成熟率や胚の発生率に差がなかつ

た。Ban 種の体外生産胚について、1 つだけ胚盤胞に発生した(図 2A)が、残りの胚は 2-4 細胞期で発生が停止した(図 2B)。以上の結果より、超低温保存した Ban 種の精子ならびに卵から現地の NIAS-V にて在来豚(Ban 種)の胚の体外生産に成功した。今後は胚盤胞の発生効率を上げる努力が必要である。早急に本データを取りまとめ、雑誌に投稿する予定である。

表 3. 未成熟 Ban 種ならびに Landrace 種卵を用いた卵のガラス化冷却後卵の生存性と胚の発生

	総ガラス 化卵数	生存卵数 (% 総卵数)	成熟卵数 (% 生存卵 数)	体外培養 胚数	卵割胚数 (% 培養胚 数)	胚盤胞 (% 培養胚数)
Ban	220	74.1±2.3	75.8±7.6	97	15.1±4.3	2.5±2.5
Landrace	225	68.8±5.5	76.5±5.4	69	39.6±8.2	0

データは平均±標準誤差で示している。すべてのデータに有意差なし($P > 0.05$)。

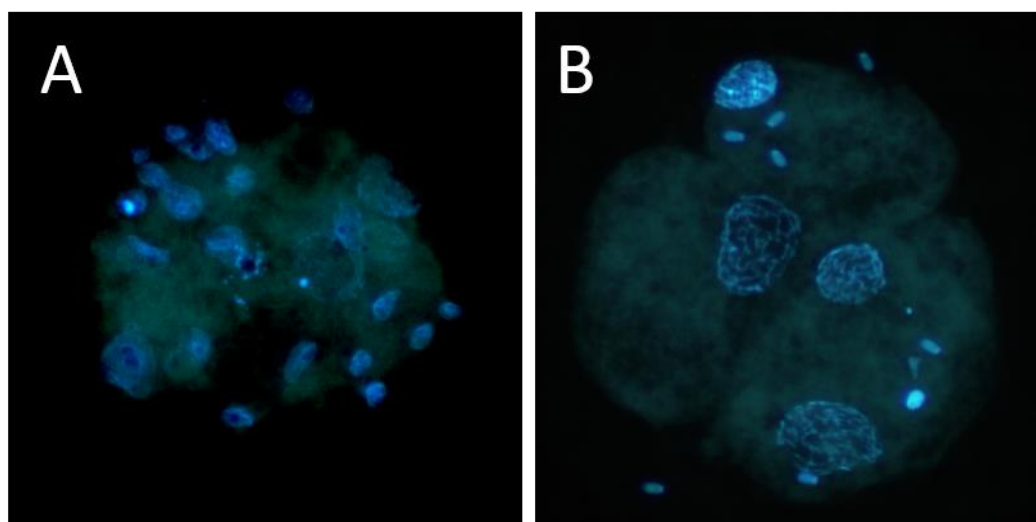


図 2. (A)超低温保存した Ban 種精子と卵から体外で生産した胚盤胞期胚(体外受精後 6 日目)。(B)同じく、4 細胞期で発生停止した胚(6 日目)。発生ステージならびに細胞数は Hoechst 33342 にてクロマチン染色した。

② 研究題目 2 のカウンターパートへの技術移転の状況

本年度は、「超低温保存」研究分野で IBT より短期研修生 1 名を 1 ヶ月間招へいし、共同研究を行った。また、ソムファイリーダーを専門家として 4 回ほど派遣し、現地でトレーニングを実施することで、これらの研究を実施した。

③ 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 2 の研究のねらい (参考)

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。

⑤ 研究題目 2 の研究実施方法 (参考)

凍結バンクにおいては精子と卵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。

(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」
クローン研究グループ（リーダー：音井 威重）

① 研究題目 3 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

保存した細胞等の遺伝資源を再生・活用する方法として体細胞クローン技術がある。本研究では、凍結保存した細胞を活用した体細胞クローン技術について、ベトナム在来希少品種に応用することによって、効率的な希少品種豚再生システムを共同開発する。また、作出した体外受精・クローン胚の効率的な胚移植法についてベトナム在来品種にも適応できる技術を確立する。

（方法）ベトナム在来豚由来の体細胞クローン胚の作出率の向上、安定化を図る目的で、クローン胚の培養液について、現地でも作成可能な合成培地（NCSU37 および SOF）と市販（PZM5）の培地を技術習得した研修生 2 名により検討した。

（結果）研修生 A による融合胚からの分割率はいずれの培養液（NCSU37、SOF および PZM5）とも 57%～65% と有意な差はなく、また、胚盤胞発生率も 4.7%～8.4% と差はなかった（図 3）。一方、研修生 B による 2 種類の培養液（NCSU37 および PZM5）の比較においても、同様に分割率および胚盤胞発生率とも差はなかった。このことから、現地でも作製可能な NCSU37 培地を用いることにより、研修生による体細胞クローン胚の作製が可能であることが示唆された。

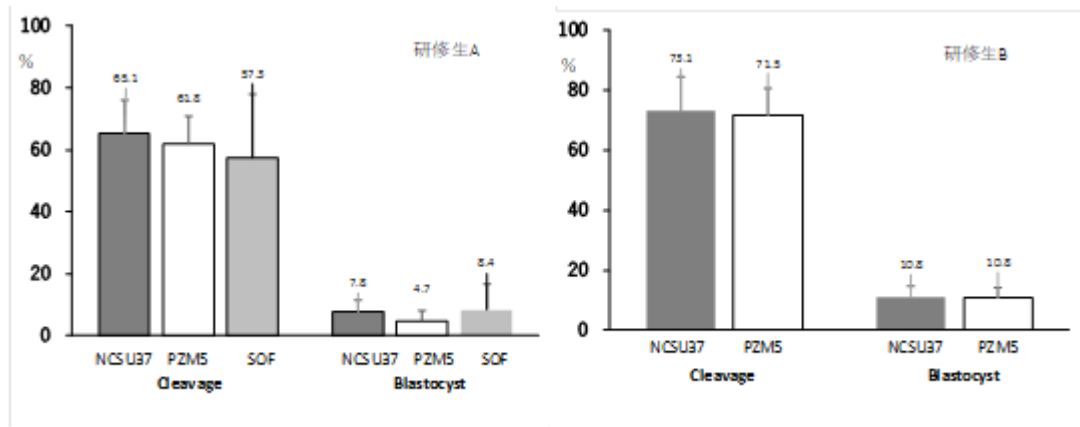


図 3. 体細胞クローン胚の発育に及ぼす培養液の影響

本年度は、短期研修生 2 名を受け入れたため、技術移転を目標に行い、その中で現地でも体細胞クローン胚が作成可能になるように合成培地の検討を行った。その結果、体外受精胚に用いる NCSU37 培地でも市販の培養液と比較して胚の発育に差がないことを確認した。来年度以降は、在来種由来の体細胞を用いたクローン胚作製を現地研究機関で行うほか、現地で発生した問題点を日本側で解決するよう展開する。

【平成 28 年度実施報告書】【170531】

② 研究題目 3 のカウンターパートへの技術移転の状況

短期研修生 2 名に目標どおりクローン技術の移転を達成したほか、先に帰国した研修生 (NIAS-V) において、体細胞クローン胚の胚盤胞への発育が確認された。来年度は、同分野での長期研修員 (大学院生) (3 年間・1 名) の受け入れを開始する予定である。

③ 研究題目 3 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 3 の研究のねらい (参考)

保存した細胞等の遺伝資源を再生・活用する方法として体細胞クローン技術を利用する。

⑤ 研究題目 3 の研究実施方法 (参考)

本研究では、凍結保存した細胞を活用した体細胞クローン技術について、ベトナム在来希少品種に応用することによって、効率的な希少品種豚再生システムを共同開発する。また、作出した体外受精・クローン胚の効率的な胚移植法についてベトナム在来品種にも適応できる技術を確立する。

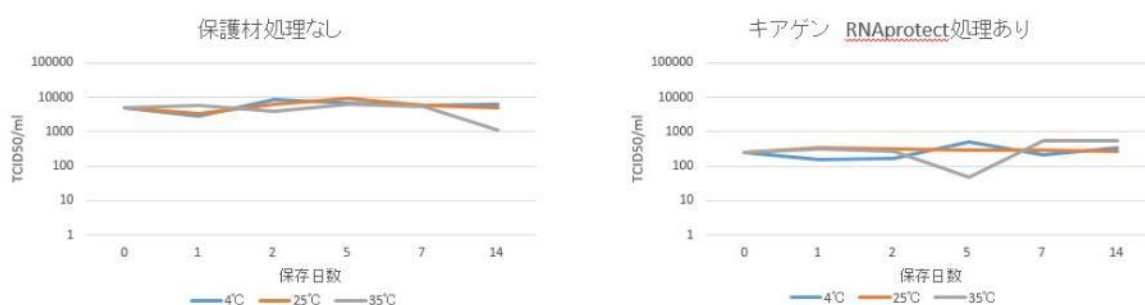
(5) 研究題目 4 : 「ベトナム在来豚農家における疾病調査」

疾病対策研究グループ (リーダー: 大崎 慎人)

① 研究題目 4 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

1) 研究題目 5 と共同してホアビン省 Da Bac 地区における小規模養豚農家に聞き取り調査を行い、疾病発生を含めたおおまかな衛生状態の把握を行い、後述のモデル農家 15 戸を選定した。

2) ベトナムにおける疾病調査のための検体輸送・処理方法の最適化を行った。対象とする疾病病原体は RNA ウイルスが多いため、PRRS ウイルスを含む実験感染豚の血液検体を用いて、RNA 保護材添加の有無、検体保存温度がリアルタイム PCR によるウイルス RNA 検出に及ぼす影響を検討した。その結果、EDTA 血検体であれば、RNA 保護材の添加は必要なく、輸送温度にかかわらず 7 日間まで良好な RNA 検出が可能であることが判明し、採材後の現地での検体処理を行わなくとも良好な状態で検体をハノイの検査ラボに輸送できることが明らかになった (図 4)。



PRRSV ベトナム株感染 14 日目の豚から採血し (EDTA 血)、リアルタイム PCR による PRRSV RNA 量を測定

図 4. EDTA 血検体中の PRRS ウイルス RNA 保存試験

RNA 保護材添加は必要なく、保存温度に関わらず 7 日間まで安定に検体を保存できることが判明した。

【平成 28 年度実施報告書】【170531】

3) ホアビン省 Da Bac 地区における養豚農家 1 戸あたりの飼養頭数は少ないため、疾病調査を行う対象をモデル農家から周辺の地域に変更し、年 4 回の定期採材を開始し、一回当たり約 20 頭の豚から血液・糞便検体及びワクチン歴・農家での病豚情報等の疫学情報を収集した。また定期採材時に病豚 1 頭を購入し、現地で解剖・採材し病性鑑定を実施した。

② 研究題目 4 のカウンターパートへの技術移転の状況

感染症診断分野としてベトナムから短期研究員(3 名・各 1 か月)を受け入れ、ウイルス学、病理学、寄生虫学的診断法の研修を行った。

③ 研究題目 4 の当初計画では想定されていなかった新たな展開

ホアビン省において在来豚は生体でレストラン等へ売買され、と畜場へ出荷することは少ないことが判明したため、次年度(29)年度開始予定のと畜場における疾病調査は 30 年度以降に先送りし、29 年度は農家における病豚・死亡豚発生時に材料を収集する体制の構築を行うこととした。本年度に予定していた供与機材の到着が遅れたため、29 年度に検査対象を主要な 4 疾病(口蹄疫、豚コレラ、PRRS、PCV2)に絞ってベトナム農大のラボのセットアップを行い、疾病検査体制の構築を行う。

④ 研究題目 4 の研究のねらい(参考)

ベトナムにおいて西洋種を飼育する養豚農家の衛生調査は行われているものの、粗放型飼育が主体となる在来豚農家の衛生状態についての知見は少ない。本題目では、ベトナム在来豚農家における疾病調査を行い、生産性阻害要因の抽出を行うことで、衛生状態改善のための提言の基礎となる科学的根拠を得ることを目的とする。

⑤ 研究題目 4 の研究実施方法(参考)

モデル農家において、個体管理に基づく日齢別の疾病・死亡原因調査を行い、大まかな生産性阻害要因を検索する。

(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」

飼養管理研究グループ C (リーダー: 高橋義典)

① 研究題目 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

前年度選定されたモデル農場 15 農家に対し下記技術の定着を目標に、個別指導、研修会を実施した(図 5)。そのテーマは、1) 授乳期母豚への栄養強化、2) 分娩房飼育環境整備による子豚発育の改善ならびに 3) 1 ヶ月早期離乳による繁殖効率の改善であった。なお、具体的活動として、1)については、母豚へのサプリメントの給与状況や保育箱の使用状況など、実施率にバラツキが認められる。そこで、在来豚に給与されている植物茎葉を中心にした粥状の慣行飼料では明らかに不足しているという観点から、現地で容易に入手しうるトウモロコシと米ぬかをベースに、さらに蛋白源として市販のサプリメント飼料を農家の庭先で配合して給与した。これは分娩から離乳までの限定した期間のみとすることで持続可能な短期間の栄養強化法となり、農家の出費負担にも考慮して設計し給与した。具体的なデータは集計中であるが、改善が認められている。次年度以降個別指導の中で継続して説明し改善を目指す。2)については、子豚専用の哺育箱を供与して子豚の介護をより綿密にするよう指導した。これにより、子豚にとってより至適温度が確保でき、必要に応じて加温も可能な「寝床」を提供することが可能である。時として発生する母豚による子豚の踏み付け事故「圧死」が軽減できる。離乳間近になった子豚に離乳食に相当する飼料をこの箱内で給与すること

【平成 28 年度実施報告書】【170531】

で母豚に横取りされることなく給与できるメリットがある。さらに、水分摂取については、粥状の飼料のみではなく、飲水装置の導入の可能性も検討した。3) これらの活動を通じて繁殖効率の向上を目指した。



図5. ホアビン省ダバック地区における農家を対象とした研修会の風景

② 研究題目5のカウンターパートへの技術移転の状況

7月に実施した日本での養豚技術研修(畜産現場とブランド化研修、6名・各1ヶ月)などにより、繁殖におけるシステム管理の理解度は高まり農家レポートも定期的に届くようになった。しかしながら、その内容に関してはまだまだ不明な点も多く、今後完成度を上げるよう指導する。

③ 研究題目5の当初計画では想定されていなかった新たな展開

ベトナム側スタッフで栄養専門家のNIAS-Vのメンバーがプロジェクトから外れたことにより、モデル農家への研修や設備計画等に遅滞が生じたが、その後の調整で、国立農業大学の専門家2名が参画することになり改善することができた。プロジェクト終了後の状況を考えると、農家のある地方行政(ホアビン省やダバック地区)の農業普及担当者が農家指導スキルを高めるように指導者研修で指導していきたい。

④ 研究題目5の研究のねらい(参考)

ベトナム在来豚の飼育方法は農家毎にまちまちであり、今後ベトナム在来豚の生産性を向上させる上で現状の飼養成績を把握することは重要である。本項目では、農家で飼育中の豚、あるいは出荷豚の発育状況、給与されている飼料等を調査し、今後の生産システムの基礎構築を行う。

⑤ 研究題目5の研究実施方法(参考)

ベトナム在来豚農家における生産性技術向上・定着により、農家の収入改善を計ることにより、在来種養豚を安定的に持続させ、種畜の保存を計る。全体研修を通して農家、現地指導員に基本的な養豚技術を習得させ、併行して個別研修、個別訪問・指導を通して個々のモデル農場に合った飼育方法を確立する。

【平成28年度実施報告書】【170531】

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）

本プロジェクトは開始第2期を終了し、各研究課題が少しずつ進展している状況である。現在のところ、成果達成の見通しに変更はない。

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、相手国側研究機関の状況と問題点、プロジェクト関連分野の現状と課題。

大きな問題としては、ホアビン省におけるカウンターパート予算の獲得とブランド化事業が上げられる。昨年度問題となった科学アカデミー傘下のバイオテクノロジー研究所においては、額は大きくないものの、H30年度に確保できる見込みがたった。農業農村開発省傘下の畜産研究所や農業大学では、ある程度額のカウンターパート予算が確保されたものの、職員や臨時職員の雇用に占める割合が高く、消耗品や試薬の必要経費の確保が難しかった。

- ・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・インパクト・持続性を高めるために実際に行った工夫。

H28年度分の供与機材の免税認可が1年近く遅滞したが、ベトナム政府への現地機関の継続的な働きかけにより開梱・各機関への設置が許可された。その努力の結果、H29年の供与機材については遅滞なく設定ができた。

- ・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。

研究のモチベーションをいかに向上させるかをベトナム側で自覚させる必要がある。また、プロジェクト終了後に持続的な予算獲得をどのように行うのかを現時点から認識させる必要がある。活動や会議・ミーティングを通じて積極的な意識向上をはかる。

- ・諸手続の遅延や実施に関する交渉の難航など、進捗の遅れた事例があれば、その内容、解決プロセス、結果。

ホアビン省におけるブランド化事業についての懸念が生じた。これまでは、ホアビン省主体でブランド化事業を進め日本側は必要に応じて協力を行うことであったが、H28年11月に開催された会議で、日本側に主体的にプロジェクトを進めて欲しいこと、さらにJICAに予算措置をして欲しい旨の提案があった。H29年の2月にJICA代表者も参加して日越間で話し合いがもたれたが、クリアな解決策が見いだせないでおり、継続協議の状況にある。

(2) 研究題目1：「ベトナム在来豚の調査と凍結バンク設立、PERV検出系の確立ならびにPERVフリー豚生産」

バンク/育種研究グループ（リーダー：菊地 和弘）

- ・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。

カウンターパート予算の不足から、現地での研究遂行に支障をきたすケースも発生した。実

【平成28年度実施報告書】【170531】

験内容を絞り込み、本当に必要な試薬や消耗品を計上することにより研究を遂行した。

- ・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。

現時点では、特になし。

(3) 研究題目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」

体外胚生産/保存研究グループ（リーダー：ソムファイ タマス）

- ・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。

カウンターパート予算の不足から、現地での研究遂行に支障をきたすケースも発生した。実験内容を絞り込み、本当に必要な試薬や消耗品を計上することにより研究を遂行した。

- ・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。

現時点では、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」

クローン研究グループC（リーダー：音井 威重）

- ・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。

本年度2名の短期研修生を受け入れ、クローン技術の伝達を行った。さらに来年度は1名の長期研修生(大学院生)を受け入れる予定である。本年度末に、各研究機関での機器の整備を行ったことから、研究助言等を行いつつ在来種由来の体細胞クローン胚作製に取り組む。

- ・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。

現時点では、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」

疾病対策研究グループC（リーダー：大崎 慎人）

- ・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。

1) 日本国内での短期研修とベトナムにおける定期的なフィールド調査を通じて、カウンターパートであるベトナム農大のチームと良好な関係を構築できている。一方、供与機器の到着の遅れからベトナムにおける検査機器のセットアップが開始できていないが、29年度前半には達成できる見込みである。また、カウンターパート予算の大幅削減により、試薬・消耗品の現地での調達に制限されたため、検査対象疾病を絞り込むことで現地での研究活動を継続する予定である。

2) カウンターパート側予算については、様々な問題が発生することがあるので、研究計画策定にあたっては柔軟な対応が取れる計画を作ることが重要と思う。

- ・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。

現時点では、特になし。

【平成28年度実施報告書】【170531】

(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」

伊藤忠グループ (リーダー: 高橋 義典)

- ・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。

現地カウンターパートのみならず、実際データを収集する地域の指導責任者への情報伝達が上手く行かない。個別巡回指導を強化し、できるだけ関連している人たちと直接コミュニケーションをとる必要性を感じた。

- ・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。

現時点では、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

現時点では、特になし。

(2) 社会実装に向けた取り組み

- ・ 得られた成果(特にベトナム在来豚の遺伝解析)について、H29 年 3 月に開催された在来家畜研究会の年次大会にて発表し、動物遺伝資源の研究者にプロジェクトの紹介を行い、有意義な意見交換を行った。
- ・ 畜産技術 H29 年 1 月号の表紙写真としてベトナム在来豚の写真を提供するとともに、「ベトナムの在来豚遺伝資源保全のための SATREPS の取り組み」という紹介記事を投稿した(H29 年 5 月号に掲載決定)。
- ・ 本研究成果は、JST ならびに JICA のホームページで掲載しているが、ベトナムにおいてもインターネット (<http://satreps-vnp.vn/en/>) で公開するとともに、フェイスブック (<https://www.facebook.com/jicanativepig/>)にて情報交換をおこなっている。

V. 日本のプレゼンスの向上 (公開)

現時点では、特になし。

VI. 成果発表等【研究開始～現在の全期間】(公開)

VII. 投入実績【研究開始～現在の全期間】(非公開)

VIII. その他 (非公開)

以上

【平成 28 年度実施報告書】【170531】

VI. 成果発表等

(1) 論文発表等【研究開始～現在の全期間】(公開)

① 原著論文(相手国側研究チームとの共著)

年度	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	発表済 /in press /acceptedの別	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。)
2015	Bui Xuan Nguyen, Kazuhiro Kikuchi, Nguyen Thi Uoc, Thanh Quang Dangnguyen, Nguyen Viet Linh, Nguyen Thi Men, Trung Thanh Nguyen, Takashi Nagai. Production of Ban miniature pig embryos by in vitro fertilization: A comparative study with Landrace. Animal Science Journal, 86, 487-493	doi: 10.1111/asj.12317.	国際誌	発表済	

論文数 1 件
 うち国内誌 0 件
 うち国際誌 1 件
 公開すべきでない論文 0 件

② 原著論文(上記①以外)

年度	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	発表済 /in press /acceptedの別	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。)
2015	Do, T.K.L., Shibata, Y., Taniguchi, M., Nii, M., Nguyen, V.T., Tanihara, F., Takagi, M. and Otoi, T. Melatonin supplementation during in vitro maturation and development supports the development of porcine embryos. Reprod. Dom. Anim. 2015, 50, 1054-1058.	10.1111/rd.a.12607	国際誌	発表済	
2015	Do, T.K.L., Luu, V.V., Morita, Y., Taniguchi, M., Nii, M., Peter, A.T., and Otoi, T. Astaxanthin present in the maturation medium reduces negative effects of heat shock on the developmental competence of porcine oocytes. Reprod. Biol. 2015, 15, 86-93.	10.1016/j.repbio.2015.01.002.	国際誌	発表済	
2015	Tamás Somfai, Nguyen Thi Men, Junko Noguch, Hiroyuki Kaneko, Naomi Kashiwazaki, Kazuhiro Kikuchi. Optimization of cryoprotectant treatment for the vitrification of immature cumulus-enclosed porcine oocytes: comparison of sugars, combinations of permeating cryoprotectants and equilibration regimens. Journal of Reproduction and Development, 61, 571-579	http://doi.org/10.1262/jrd.2015-089	国際誌	発表済	
2016	Santos EC, Somfai T, Appellant R, Dang-Nguyen TQ, Noguchi J, Kaneko H, Kikuchi K. Effects of polyethylene glycol and a synthetic ice blocker during vitrification of immature porcine oocytes on survival and subsequent embryo development. Anim Sci J.	10.1111/asj.12730	国際誌	in press	
2016	Appellant R, Somfai T, Maes D, VAN Soom A, Kikuchi K. Porcine oocyte maturation in vitro: role of cAMP and oocyte-secreted factors - A practical approach. J Reprod Dev. 262(5):439-449.	10.1262/jrd.2016-016	国際誌	発表済	
2016	Morita, Y., Taniguchi, M., Tanihara, F., Ito, A., Namula, Z., Do, T.K.L., Takagi, M., Takemoto, T. and Otoi, T. The optimal period of Ca-EDTA treatment for parthenogenetic activation of porcine oocytes during maturation culture. J. Vet. Med. Sci. 78, 1019-1023.	10.1292/jvms.15-0658.	国際誌	発表済	
2016	Do, T.K.L., Wittayarat, M., Terazono, T., Sato, Y., Taniguchi, M., Tanihara, F., Takemoto, T., Kazuki, Y., Kazuki, K., Oshimura, M. and Otoi, T. Effects of duration of electric pulse on in vitro development of cloned cat embryos with human artificial chromosome vector. Reprod. Dom. Anim., 51, 1039-1043.	10.1111/rd.a.12766.	国際誌	発表済	
2016	Tanihara, F., Takemoto, T., Kitagawa, E., Rao, S., Do, T.K.L., Onishi, A., Yamashita, Y., Kosugi, C., Suzuki, H., Sembon, S., Suzuki, S., Nakai, M., Hashimoto, M., Yasue, A., Matsuhisa, M., Noji, S., Fujimura, T., Fuchimoto, D., Otoi, T. Somatic cell reprogramming-free generation of genetically modified pigs. Sci. Adv., 2(9), e1600803.	10.1126/sciadv.1600803.	国際誌	発表済	Scienceの姉妹誌
2016	Nishio, K., Yamazaki, M., Taniguchi, M., Besshi, K., Morita, F., Kunihara, T., Tanihara, F., Takemoto, T. and Otoi, T. Sensitivity of the meiotic stage to hyperthermia during in vitro maturation of porcine oocytes. Acta Vet. Hung. 65, 115-123. .	10.1556/0042.2017.012.	国際誌	発表済	

論文数 9 件
 うち国内誌 0 件
 うち国際誌 9 件
 公開すべきでない論文 0 件

③その他の著作物(相手国側研究チームとの共著)(総説、書籍など)

年度	著者名,タイトル,掲載誌名,巻数,号数,頁,年		出版物の種類	発表済 /in press /acceptedの別	特記事項
2016	Somfai T, Hirao Y. Synchronization of In Vitro Maturation in Porcine Oocytes. in Banfalvi G. "Cell Cycle Synchronization" (2nd edition, Humana Press). Methods Mol Biol. 1524: 255-264. 2017		単行本(教科書)	発表済	

著作物数 1 件
公開すべきでない著作物 0 件

④その他の著作物(上記③以外)(総説、書籍など)

年度	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	発表済 /in press /acceptedの別	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

年度	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
2016	モデル農家研修(3回: 2016年10月、12月、2017年3月)	モデル農家研修のためのパワーポイント資料	15モデル農家対象(疾病対策、養豚技術、早期離乳による生産性向上を目的)

VI. 成果発表等

(2) 学会発表【研究開始～現在の全期間】(公開)

① 学会発表(相手国側研究チームと連名)(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 /ポスター発表の別
2015	国際学会	Masaaki Taniguchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Luu Quang Minh (National Institute of Animal Science, Hanoi, Vietnam), Shinya Ishihara (National Institute of Agrobiological Sciences, Ibaraki, Japan), Kazuhiro Kikuchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Aisaku Arakawa (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Takeshige Otoi (Tokushima University, Tokushima, Japan), Satoshi Mikawa (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan). Investigation of Porcine Endogenous Retrovirus (PERV) Loci in the Genome of Vietnamese Domestic Pigs . Plant and Animal Genome Conference XXIV. San Diego, CA, USA January 9-13, 2016	ポスター発表
2015	国際学会	Aisaku Arakawa (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Shinya Ishihara (National Institute of Agrobiological Sciences, Ibaraki, Japan), Shihei Touma (Okinawa prefectural Livestock Research Center, Nakijin, Japan), Masaaki Taniguchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Luu Quang Minh (National Institute of Animal Science, Hanoi, Vietnam), Nguyen Van Ba (National Institute of Animal Science, Hanoi, Vietnam), Naohiko Okumura (JATAFF, Tsukuba, Japan), Naotaka Ishiguro (Gifu university, Gifu, Japan), Tomoko Eguchi-Ogawa (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki, Japan), Hirotohi Shimabukuro (Okinawa prefectural Livestock Research Center, Nakijin, Japan), Hirohide Uenishi (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki, Japan), Takeshige Otoi (Tokushima University, Tokushima, Japan), Kazuhiro Kikuchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Satoshi Mikawa (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan). Genetic Relationships Among Sus scrofa in East and South-East Asia . Plant and Animal Genome Conference XXIV. San Diego, CA, USA. January 9-13, 2016	ポスター発表
2016	国際学会	Masaaki Taniguchi (NILGS), Luu Quang Minh (NIAS Vietnam), Aisaku Arakawa (NILGS), Shinya Ishihara (NIAS), Kazuhiro Kikuchi (NIAS), Takeshige Otoi (Tokushima Univ), Satoshi Mikawa (NILGS). Copy number variant analysis of Porcine Endogenous Retrovirus (PERV) loci in the genome of Vietnamese Native Pigs . International Plant & Animal Genome XXV, San Diego, CA (USA), 16 Jan 2017	ポスター発表
2016	国際学会	Aisaku Arakawa (NILGS), Shinya Ishihara (NIAS), Masaaki Taniguchi (NILGS), Kazuhiro Kikuchi (NIAS), Satoshi Mikawa (NILGS). Genome-wide analysis of genetic introgression on Vietnamese native pigs . International Plant & Animal Genome XXV, San Diego, CA (USA), 16 Jan 2017	ポスター発表
2016	国際学会	Shinya Ishihara(NIAS), Aisaku Arakawa(NILGS), Masaaki Taniguchi(NILGS), Luu Quang Minh(NIAS-Vietnam), Pham Doan Lan(NIAS-Vietnam), Nguyen Van Ba(NIAS-Vietnam), Satoshi Mikawa(NILGS), Nhu Van Thu(NIAS-Vietnam), Kazuhiro Kikuchi(NIAS). Genetic diversity and relationship for Vietnamese native pigs using genome wide SNP markers . 17th AAAP Congress, Fukuoka, Japan, 22 to 25 August 2016	口頭発表
2016	国内学会	石原慎矢(農研機構・生物機能利用)、Luu Quang Minh(NIAS Vietnam)、谷口雅章(農研機構・畜産)、荒川愛作(農研機構・畜産)、音井威重(徳島大学)、菊地和弘(農研機構・生物機能利用)、美川智(農研機構・畜産)。 ベトナム在来豚品種におけるブタ内在性レトロウイルスのコピー数の比較 。第122回日本畜産学会、神戸、2017年3月28～29日	口頭発表

招待講演 0 件
口頭発表 2 件
ポスター発表 4 件

② 学会発表(上記①以外)(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 /ポスター発表の別
2015	国内学会	菊地和弘(農業生物資源研究所)。 ブタにおける生殖工学の現状 。第62回日本実験動物学会総会、京都、2015年5月28日	口頭発表
2015	国際学会	Tamás Somfai (NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Japan), Kazuhiro Kikuchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan), Hiroyuki Kaneko (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan), Junko Noguchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan), Nguyen Thi Men (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan), Elisa Carolina Da Silva Santos (NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Japan), Takashi Nagai (Food and Fertilizer Technology Center, Taiwan). Update on the cryopreservation of porcine oocytes . 3rd Fatty Pig Science and Utilization International Conference, Herceghalom, Hungary, November 17-20, 2015	口頭発表

2015	国際学会	Kazuhiro Kikuchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Takeshige Otoi (Tokushima university, Japan), Makoto Osaki (National Institute of Animal Health, Japan), Kenji Kawashima (National Institute of Animal Health, Japan), Satoshi Hayashi (Itochu Feed Mills Co., Ltd., Japan), Shunsuke Masazumi (Itochu Feed Mills Co., Ltd., Japan), Hideki Watanabe (Itochu Feed Mills Co., Ltd., Japan), Satoshi Mikawa (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Masaaki Taniguchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Aisaku Arakawa (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Shinya Ishihara (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Thanh Quang Dang-Nguyen (National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan), Tamas Somfai (NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Japan), Toshihiro Okamura (NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Japan), and Naoki Kashiwazaki (Azabu University, Japan). Management and utilization of Vietnamese native pig genetic resources by the SATREPS program. The 12th Annual Conference of the Asian Reproductive Biotechnology Society, Hanoi, Vietnam, November 26-29, 2015.	ポスター発表
2015	国際学会	Tamas Somfai (NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Japan), Nguyen Thi Men (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan), Hiroyuki Kaneko (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan), Junko Noguchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan), Seiki Haraguchi (NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Japan), Elisa Caroline da Silva Santos (NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Japan), Takashi Nagai (Food and Fertilizer Technology Center, Taiwan), Kazuhiro Kikuchi (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan). Vitrification at the germinal vesicle stage triggers precocious meiotic resumption but does not affect cytoplasmic maturation in cumulus-enclosed porcine oocytes during in vitro maturation. Reproduction, Fertility and Development 28(2),220 - Proceedings of the The 42th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Louisville, Kentucky, USA, January 23-26, 2016	ポスター発表
2015	国内学会	菊地和弘 (農業生物資源研究所). ブタ遺伝資源の保全と利用の新たな展開について. 日本畜産学会 会第121回大会 分野別シンポジウム(形態・生理分野), 東京 2016年3月29日(予定)	口頭発表
2016	国際学会	大崎慎人 (農研機構動衛研). Management and Utilization of Vietnamese Native Pig Genetic Resources by the SATREPS Program: from the view of Animal Health. ベトナム農業大学シンポジウム "Solutions to emerging and zoonotic diseases", ハノイ, 25Aug2016 Dr. Makoto Osaki. National Institute of Animal Health of Japan	口頭発表
2016	国際学会	Santos ECS, Somfai T, Appeltant R, Dang-Nguyen TQ, Kaneko H, Noguchi J, Nagai T, Kikuchi K (2017). The effects of resveratrol during in vitro maturation on the developmental competence of porcine oocytes vitrified at the immature stage. The 43th Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society, Austin, Texas. January 14-17, 2017 abstract in: Reprod Fertil Dev. 29(1), 127	ポスター発表
2016	国際学会	Appeltant R, Somfai T, Santos ECS, Kikuchi K. The effect of exposure time on the toxicity of vitrification solution on porcine cumulus-oocyte complexes before in vitro maturation. The 43th Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society, Austin, Texas. January 14-17, 2017 Reprod Fertil Dev. 29(1), 127	ポスター発表
2016	国際学会	Appeltant R, Somfai T, Kikuchi K. The effects of vitrification at the germinal vesicle stage on transzonal projections and cumulus expansion in porcine cumulus-oocyte complexes. 18th International congress on animal reproduction (ICAR), Tours, France. June 26-30, 2016 p119.	ポスター発表
2016	国際学会	Santos EC, Somfai T, Appeltant R, Dang-Nguyen TQ, Kikuchi K. The effects of polyethylene glycol and a synthetic ice blocker on survival and development of immature porcine oocytes vitrified by the Cryotop method. 18th International congress on animal reproduction (ICAR), Tours, France. June 26-30, 2016 p126	ポスター発表
2016	国内学会	Santos EC, Somfai T, Kikuchi K. The effects of polyethylene glycol and Supercool X-1000 during the vitrification of immature porcine oocytes. 日本畜産学会第121回大会・日本獣医生命科学大学 March 27-30, 2016 p190	ポスター発表
2016	国際学会	Somfai T. Tips and tricks on how to vitrify oocytes. Cryobiology course, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium. September 20-22, 2016	招待講演
2016	国際学会	Kikuchi K. Cryopreservation of porcine testicular tissue. Cryobiology course, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium. September 20-22, 2016	招待講演
2016	国際学会	Kikuchi K. Cryopreservation of porcine ovarian tissue. Cryobiology course, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium. September 20-22, 2016	招待講演
2016	国際学会	Somfai T. Embryo selection for cryopreservation. Cryobiology course, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium. September 20-22, 2016	招待講演
2016	国際学会	Somfai T. Oocyte cryopreservation for gene banking in pigs. The 17th AAAP Animal Science Congress (Symposium 07- Current Status of Animal Biotechnology and the Application for Livestock Production), Kyushu Sangyo University, Fukuoka, Japan. August 24, 2016	招待講演

2016	国際学会	菊地和弘(農研機構・生物機能利用). Tamas Somfai(農研機構・畜産), Nguyen Thi Men(農研機構・生物機能利用). ブタにおける配偶子保存研究の取り組み . Cryopreservation Conference 2017. 岡崎. 2017年11月9日	招待講演
2016	国内学会	菊地和弘(農研機構・生物機能利用). ベトナムにおけるブタ資源の保全と活用について -SATREPSの取り組み- . 在来家畜研究会・日本動物遺伝育種学会合同シンポジウム. 神戸. 2017年3月28日	招待講演

招待講演	7件
口頭発表	4件
ポスター発表	7件

VI. 成果発表等

(3) 特許出願【研究開始～現在の全期間】(公開)

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	登録番号 (未登録は空欄)	登録日 (未登録は空欄)	出願特許の状況	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※
No.1													
No.2													
No.3													

国内特許出願数 件
公開すべきでない特許出願数 件

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	登録番号 (未登録は空欄)	登録日 (未登録は空欄)	出願特許の状況	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※
No.1													
No.2													
No.3													

外国特許出願数 件
公開すべきでない特許出願数 件

VI. 成果発表等

(4) 受賞等【研究開始～現在の全期間】(公開)

① 受賞

年度	受賞日	賞の名称	業績名等 (「〇〇の開発」など)	受賞者	主催団体	プロジェクトとの関係 (選択)	特記事項

0 件

② マスコミ(新聞・TV等)報道

年度	掲載日	掲載媒体名	タイトル/見出し等	掲載面	プロジェクトとの関係 (選択)	特記事項

0 件

VI. 成果発表等

(5) 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【研究開始～現在の全期間】(公開)

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

年度	開催日	名称	場所 (開催国)	参加人数 (相手国からの招聘者数)	概要
2015	2015/11/25	SATREPS SYMPOSIUM "Current Status and Utilization of Vietnamese Native Pigs", organized as a satellite symposium for THE 12th ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE ASIAN REPRODUCTIVE BIOTECHNOLOGY SOCIETY	Hanoi (Vietnam)	100 (0)	ベトナムのハノイにて、本SATREPSプロジェクトの活動の概要とプロジェクトから得られる成果に関するシンポジウムが開催した。私を含め3人の日本人研究者と6人のベトナム側の研究者が発表をした。
2016	2016/2/15	Seminar at Philippine Carabao Center	Murioz (Philippines)	50 (3)	菊地・谷口・荒川が、それぞれAnimal Genetic Resources in Japan and An International Collaboration (A SATREPS Project)、Copy number analysis of Porcine Endogenous RetroVirus (PERV) on Vietnamese native pig breeds、Phylogenetics of Vietnamese Native pigsの演題名で講演を行った
2016	2016/2/15	Seminar at Central Luzon State University	Murioz (Philippines)	300 (3)	菊地・谷口・荒川が、それぞれAnimal Genetic Resources in Japan and An International Collaboration (A SATREPS Project)、Copy number analysis of Porcine Endogenous RetroVirus (PERV) on Vietnamese native pig breeds、Phylogenetics of Vietnamese Native pigsの演題名で講演を行った
2016	2016/2/17	Seminar at Nueva Vizcaya State University	Nueva Vizcayaz (Philippines)	250 (3)	菊地・谷口・荒川が、それぞれAnimal Genetic Resources in Japan and An International Collaboration (A SATREPS Project)、Copy number analysis of Porcine Endogenous RetroVirus (PERV) on Vietnamese native pig breeds、Phylogenetics of Vietnamese Native pigsの演題名で講演を行った

4 件

② 合同調整委員会(JCC)開催記録(開催日、議題、出席人数、協議概要等)

年度	開催日	議題	出席人数	概要
2015	2015/11/24	第1回JCC	20	1) プロジェクトの概要・現状・モニタリング/報告機構、2) カウンターパート予算、3) 機材と研修、4) 2016年予定等について協議を行った。
2016	2016/6/3	第2回JCC	30	1) プロジェクトの概要・現状・モニタリング/報告機構、2) カウンターパート予算、3) 機材と研修、4) 2017年予定等について協議を行った。

2 件

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26年5月～平成32年3月31)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"> ・未受精卵子凍結法、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

