

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：5 年/相手国名：ベトナム

平成 30 年度実施報告書

国際共同研究期間^{*1}

平成 27 年 5 月 5 日から令和 2 年 5 月 4 日まで

JST 側研究期間^{*2}

平成 26 年 5 月 1 日から令和 2 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/R1年度 (12ヶ月)
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低コピー豚生産（バンク/育種研究グループ）						
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	→	
1-6 PERV 低コピー豚の DNA 情報を用いた生産			←→	←→	←→	→
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）						
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	←					→
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）						
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（疾病対策研究グループ）						
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 在来豚に最適化した飼養管理システムの構築とマニュアル化（衛生管理編）					←→	→
4-5 PERV低コピー豚輸出のための衛生管理体制の構築					←→	→

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 在来豚に最適化した飼養管理システムの構築とマニュアル化（飼育管理編）					←	→

(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)

研究題目 1-4:「凍結バンク効率化のための精液凍結法の改良」については本年度にプロトコールの作成の見込みが付いたので、本年度で終了する。

なお、以下は平成 30 年度年次研究計画にて変更・追加済み。

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」から「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 低コピー豚生産」に変更。

研究題目 1-6:「PERV フリー(低コピー)豚の DNA 情報を用いた生産」から「PERV 低コピー豚の DNA 情報を用いた生産」へ変更。

研究題目 4-4:「生産性阻害要因のリスク分析」から「在来豚に最適化した飼養管理システムの構築とマニュアル化(衛生管理編)」へ変更。

研究題目 4-5:「PERV 低コピー豚輸出のための衛生管理体制の構築」の追加。

研究題目 5-3:「生産性阻害要因のリスク分析」から「在来豚に最適化した飼養管理システムの構築とマニュアル化(飼育管理編)」へ変更。

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。また、Hoa Binh 省の活動については、講習会の実施・マニュアルの整備など、確実に技術の移転が期待される。

研究題目 1では、当初の計画（全体計画）において、ベトナムでの凍結バンクを設立し凍結精液を導入すること、ベトナム在来豚の系統解析、ならびに、データベース構築を行うこと、さらに、PERV コピー数および座位の同定をすることを目標としている。ベトナム在来豚の系統解析のため 22 省において分類・同定のためのサンプリングを完了した。それに伴い、あらかじめ策定した入力項目に基づく特性調査のための聞き取り調査も実施した。データベースの構築のため、ベトナムで取得したフィールドデータはマイクロソフト・アクセスを用いて管理することとした。この系統解析の結果を踏まえて、Lai Chau 省、Ha Giang 省ならびに Lao Cai 省の雄豚から精液の採取・凍結を行った。PERV

【平成 30 年度実施報告書】【190531】

コピー数の測定および座位の同定に関しては、PERV コピー数が少ない Yen Bai 省の Ban 種を、Thai Nguyen 農場に導入し、交配を重ねており、概ね初期の目標を達成しつつあると考えられる。

研究題目 2では、ベトナム在来豚の体外胚生産について、P0 で設定されたすべての目標を概ね達成した。本年度の特筆すべきこととしては、ベトナム在来豚の超低温保存を行った卵からは高品質の胚盤胞が得られたこと、ガラス化冷却によって胚のアポトーシス誘導がなかったこと(胚の品質には他の何らか要因が存在する可能性が示唆されたこと)、低 PERV コピーの在来豚からのクローン胚が作製できたことが挙げられる。来年度に向けて、ベトナム在来豚の体外生産胚の移植を行い産子作製を目指す。

研究題目 3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、ベトナム在来豚希少品種に応用することによって、効率的な在来豚の希少品種再生システムを共同開発する。今年度からゲノム編集技術を活用し、PERV 関連遺伝子のノックアウト豚作出技術の確立に向けた実験を行った。その結果、クローン技術に関するものとして、体細胞にゾウ体細胞を用いブタとの異種間クローン胚作出に成功したほか、ゲノム編集においては PERV の Pol 遺伝子に関連するゲノム編集後の胚発育において、ガイド RNA の違いが胚発育および編集効率に影響することを明らかにした。

研究題目 4では、Hoa Binh 省 Da Bac 地区 Cao Son コミューンにおける小規模養豚農家(後述のモデル農家及び試験農家 15 戸)での聞き取り調査をもとに疾病発生を含めたおおまかな衛生状態の把握を行った。口蹄疫またはブタ繁殖・呼吸障害症候群(PRRS)の感染は認められないものの、豚コレラの感染は散発的に起きていることを明らかにした。なお、豚コレラの抗体陽性豚の割合は2015年36%、2016年26%、2017年7%および2018年3%と年々低下しており、プロジェクトで実施しているモデル農家へのワクチン接種をはじめとする飼養衛生管理指導との直接の因果関係はわからないが、地域でのウイルス循環が低下していることが示唆された。

研究題目 5では、Cao Son コミューンのモデル農家を対象とした研修会を2回、Hoa Binh 省の獣医補助員(パラベット)を対象とした指導者研修(TOT)を2回実施した。新たな5コミュニティについては巡回指導を4回実施した。また、コミュニティごとにモデル農家を集合させた研修を実施した。この際、アフリカ豚コレラが発生したため、農場への疾病侵入防止に向けた農場出入り口周辺の消毒方法の実習を行うなど、状況に応じた対応をとった。さらに、農家およびパラベットを対象とした教育訓練用資料の編集作業を合わせて実施し、次年度中に発行、配布する予定である。Hoa Binh 省としては新技術の普及に伴った増産が期待できるため、ベトナム在来豚の飼育密度が比較的高い Da Bac 地区のこれらモデル農家を中心に在来豚肉の銘柄化を目指した生産組合の設立・活用が期待される。

・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)

科学技術・学術上の独創性・新規性としては、本年度はベトナム側研究チームとの共著の原著論文として、4報(研究題目2に関するものが3報、研究題目3に関するものが1報)が掲載された。さらに、3報(研究題目1に関するもの)が投稿中、もしくは投稿準備中である。

【平成30年度実施報告書】【190531】

・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

昨年度同様に、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ている。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、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)を受入れており、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」を実施している。また、研究題目3において、JICA 枠の長期研修員1名(就業年限3年)については、4月2日より徳島大学に受け入れており、「Cas9/sgRNA 電気穿孔法による遺伝子改変豚の作出」に関する研究を実施している。研究計画では予定されていない点として、JICA/JST 予算以外でもいろいろな可能性を発掘して短期研修生の受入れも行った(研究題目3、徳島大学)。

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(35歳以下)が10名も参画している。当該ポスドク研究員は実験の実施はもとより、研究のとりまとめとしての論文執筆を進めており、人材育成の一端にも高く貢献してものと考えられる。

(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 フリー豚の生産」

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

研究題目1の当初の計画(全体計画)では、農研機構・生物機能利用研究部門が構築したシステムに基づくベトナムでの凍結バンクの設立および効率的な運用に向けて、ベトナム在来豚の広範囲なサンプリングによる系統解析、ならびに、データベース構築を行うこと、さらに、PERV コピー数および座位の同定を目標とした。

平成30年度は、ベトナム在来豚の系統解析のため22省において分類・同定のためのサンプリングを完了した。それに伴い、あらかじめ策定した入力項目に基づく特性調査のための聞き取り調査も実施した。データベースの構築のため、ベトナムで取得したフィールドデータはマイクロソフト・アクセスを用いて管理することとした。系統解析に関してはすでに国際学術誌に論文を掲載しており、現在、ベトナム研究者を筆頭著者とする論文を作成中である。さらに、データベースに関しても日本人若手研究者による論文を作成中である。

在来豚精液の採取・保存については、系統解析の結果を踏まえて、射出精子を凍結バンクの対象として、これまでの遺伝的解析を基に候補品種を選定して、実際にLai Chau 省(Muong Te 種)、Ha Giang 省(Hung 種)ならびにLao Cai 省(Den 種)の在来豚各5頭、国立畜産研究所・Thai Nguyen 農場による検疫を実施して国立畜産研究所・コンサベーションセンターに搬送し、精液採取のトレーニング後に、採取・凍結を行った。凍結したストローの本数は、それぞれ2009、2095ならびに1225本であった。

Thai Nguyen 農場では、PERV コピー数の測定および座位の同定に関しては、すでに過年度までにヒト細胞への感染性が確認されているPERV-A およびPERV-B に加え、PERV-C を含めて一度に検出できる解析系を開発し、Yen Bai 省に存在するBan 種のPERV コピー数が他地域の在来ブタ品種より比

【平成30年度実施報告書】【190531】

較的少ないことを明らかにした(平成 30 年度、論文作成。投稿準備中)。この結果に基づき、Yen Bai 省の Ban 種を Thai Nguyen 農場に導入し、新設された育種豚舎にて PERV 低コピー豚の交配を開始した。現在、第 2 世代の子豚が得られつつあるが、子豚間の PERV コピー数はばらつきが大きい。両親の PERV コピー数を下回るものも存在するため、そのような個体を選抜し、次世代の作出を行っている。さらに、ベトナム在来豚の全ゲノム解読データを用いて、ブタのリファレンスゲノムを対象とした PERV 座位の特定方法の開発に着手した。

② 研究題目 1 のカウンターパートへの技術移転の状況

精液の保存については、手法の最終確認を行った。これをもとに凍結バンクの運用に向けたプロトコールを制定した。また、データベースの運用に関するワークショップを実施し、今後はサーバーにて運営するかなど、ベトナム側が主体的に運営できるような体制を検討した。PERV コピー数測定に基づく PERV 低コピー豚の育種は、すでにベトナム側カウンターパートが実施する段階に入っている。

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

PERV 低コピー豚育種は、当初 Thai Nguyen 農場の馬舎を改築して実施する予定であったが、既に存在した豚舎に隣接する形で新築の豚舎を設置することができた。元々あった豚舎を検疫豚舎として活用することができ、さらに新築の豚舎を育種専用とできたため、当初の予定(世代あたり 5 ペア)よりも交配の組み合わせを多く(世代あたり 10 ペア)設定できた。

④ 研究題目 1 の研究のねらい(参考)

ベトナムの在来ブタ品種を網羅すべく、広範囲かつ大規模なサンプリングを実現した。その際、地理情報(GPS データ)、外貌上の特徴(写真データ)、ならびに、農家への聞き取り調査を実施し、これまでにない膨大な量の在来豚に関するデータを収集することができた。さらにゲノム DNA を用いた遺伝的解析により、在来ブタ品種の系統関係を明らかにすることができた。これらの情報は、凍結バンクの利用の観点から、保存サンプルをより意義のあるものとしている。

⑤ 研究題目 1 の研究実施方法(参考)

ベトナム全土の在来豚の生息地域である 22 省を対象に、累計 1800 頭を超えるゲノム DNA 抽出用サンプルを採取し、同時に聞き取り調査などに基づく地理情報、外貌上の特徴などを含むフィールドデータの収集も行った。ゲノム DNA を用いて系統解析、PERV コピー数の測定および座位の同定を行った。フィールドデータはデータベース構築に活用した。これらの情報に基づき凍結バンクにて保存対象とする豚の選定を行った。

凍結バンクのための精液保存の手法は、これまでに日越共同で策定したプロトコールを基に実施した。

PERV コピー数の測定にはリアルタイム PCR 法を応用した推定法を開発し、PERV 座位に関しても既存の手法を改良した同定法を開発した。ベトナム在来豚のうち PERV コピー数が低いことを明らかにした Ban 種を対象に育種による低コピー豚の作出を実施している。

(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

【平成 30 年度実施報告書】【190531】

1. ベトナム在来豚の体外胚生産について、P0 で設定されたすべての目標を達成した。

2. ベトナム在来豚の卵ならびに胚の超低温保存

1) Ban 種の卵、受精卵のガラス化冷却保存と、それらを使った胚の生産

Ban 種豚の未成熟卵に対するマイクロドロップによるガラス化冷却法を国立畜産研究所において実施した。ガラス化冷却・加温後の生存卵を、平成 29 年度に実施し得られた結果から上皮成長因子 (epidermal growth factor; EGF) を添加した Porcine Oocyte Medium (POM)[®] 培養液にて体外成熟 (in vitro maturation; IVM) を行った。その後、成熟した卵を Ban 種雄豚から作製した凍結保存・融解後の精巢上体精子で体外受精し (Day 0)、続けて 7 日間 PZM5 培養液 (5 日目からは 10% 血清を添加) で培養を行った。加温後の Ban 種ならびに Landrace×Landrace 種 (西洋種) の卵の生存率 (それぞれ、 $93.1 \pm 3.4\%$ ならびに $70.7 \pm 16.7\%$)、ならびに体外成熟培養後の核成熟率 (それぞれ、 $80.4 \pm 5.1\%$ ならびに $90.0 \pm 1.3\%$) は有意差がなかった ($p > 0.05$)。同様に、体外培養を継続して実施した場合、卵割率 (それぞれ、 $30.8 \pm 7.8\%$ ならびに $10.3 \pm 6.1\%$)、ならびに胚盤胞発生率 (それぞれ、 $9.4 \pm 5.0\%$ vs. $0.79 \pm 0.79\%$) には有意差がなかった ($p > 0.05$)。以上の結果より、Ban 種の未成熟卵はガラス化冷却の後でも高い生存率と成熟率を示し、Landrace×Landrace (西洋種) と遜色がないことが明らかとなった。在来豚において、ガラス化冷却保存を行った卵から高品質胚盤胞を得られた初の報告である (図 1)。

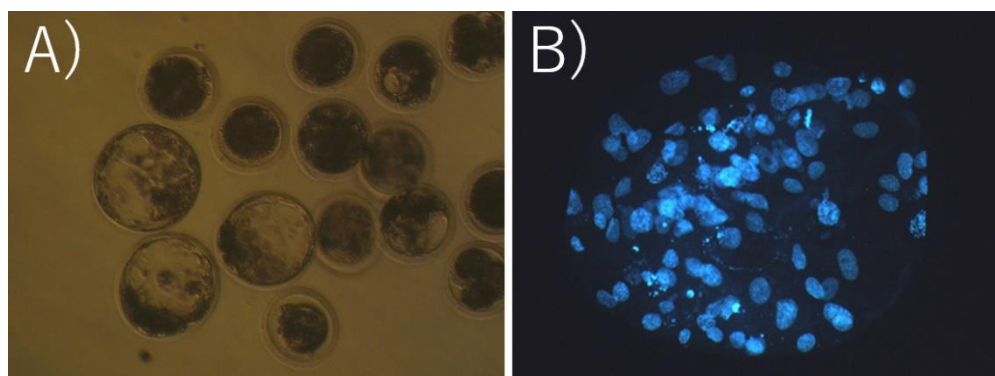


図 1. 未成熟段階でガラス化冷却保存した卵から作製した Day 6 の Ban 種胚 (=胚盤胞) (A)。Day 7 における高品質胚盤胞の例、ヘキスト 33342 により核を染色した (B)。

本 SATREPS プロジェクトにおいて実施された、Ban 種卵のガラス化冷却に関するこれらの実験結果は、本年査読有りの雑誌にて出版された (Somfai et al., 2019 Anim Sci J. 2019 Apr 22. doi: 10.1111/asj.13209.)。

さらに、体外成熟と体外受精 (非ガラス化のもの) を行って作製した受精卵のいくつかを、昨年度 (平成 29 年度) にガラス化冷却保存をおこなった。これらの受精卵を加温して、生存率と発生能を検討したところ、計 223 のガラス化冷却受精卵から 201 個が生存し ($92.3 \pm 2.3\%$)、うち 23 個が体外で胚盤胞に発生した ($11.9 \pm 5.3\%$)。

これらの活動の結果、Plan of Operation で計画設定した全ての活動について完結できたと考えられる。

2) ガラス化冷却卵におけるアポトーシス現象の解析

ガラス化冷却が卵のその後の生存や胚盤胞期への発生能を低下させることが広く知られている。将来的には、ガラス化冷却卵からの胚発生改善のためは、発生能を低下させる原因を明らかにする必要がある。候補となる要因の一つとして、ガラス化冷却がアポトーシス現象の引き金となり、結果として胚発生が悪くなることが考えられている。そこで、DNA 断片化については TUNEL 染色にて、カスパーゼ活性については CaspACE™ FITC-VAD-FMK アッセイキットにて、ホスファチジルセリンの(細胞膜での)露出についてはアネキシン-V 結合アッセイにて、前アポトーシス状態の *Bax* や *CASP3* 遺伝子発現については mRNA レベルで検出するため RT-qPCR にて、ガラス化冷却卵ならびに体外受精(in vitro fertilization; IVF)後の卵割期の胚についてアッセイを行った。DNA 断片化ならびにカスパーゼ活性については、ガラス化冷却卵、ガラス化冷却を行わない卵 ならびに継続培養した胚の間で、有意差がなかった(図 2)。

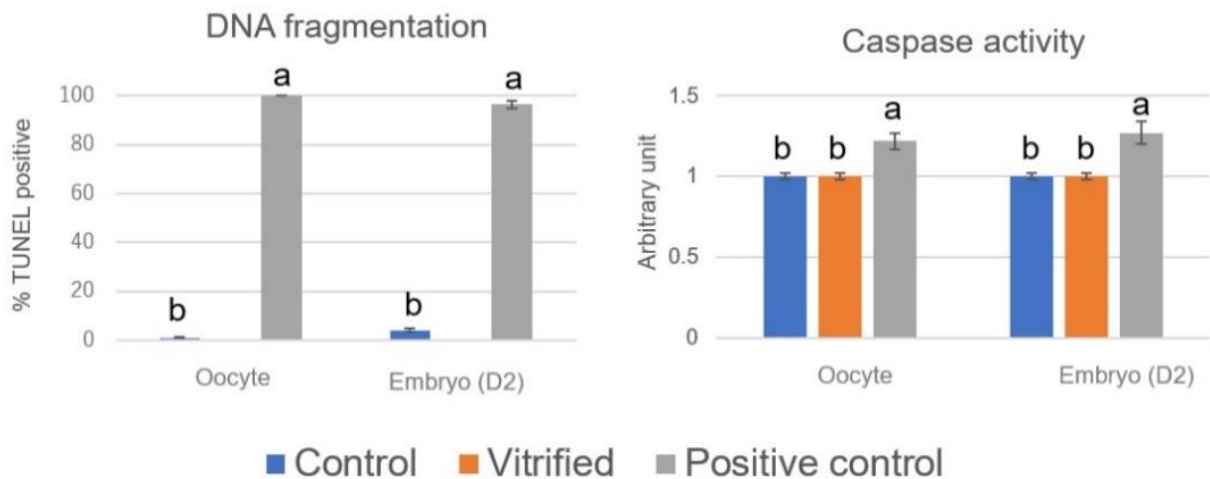


図 2. M-II 期卵(IVM 後の成熟卵)ならびに IVM、IVF ならびに IVC 後の Day 2 の初期胚(卵割胚)におけるアポトーシスマーカー(DNA 断片化ならびにカスパーゼ活性)の解析結果。解析した卵は、GV 期にガラス化冷却した卵(Vitrified)、しない卵(Control)を解析に用いた。また、Positive control として、Control 区から任意に卵を選び、DNase (DNA 断片化)ならびにスタウロスポリン(カスパーゼ活性)処理をした卵を用いた。

同様に、ホスファチジルセリンの露出や、前アポトーシス状態に関する mRNA レベルで検出について、IVM 後の卵ならびに初期胚の段階で、ガラス化冷却区と非ガラス化冷却区に有意な差がなかった。したがって、これらの結果より、ブタ GV 期卵のガラス化冷却はその後の卵もしくは胚におけるアポトーシスの発生機序の引き金を引くことはない結論づけた。

3) ベトナム在来豚のクローン胚作製

昨年度は、国立畜産研究所ならびにベトナム国立農業大学において、低 PERV コピー数を示す Ban 【平成 30 年度実施報告書】【190531】

種豚から体細胞クローンによる胚の生産を行った。国立畜産研究所は研究題目 1 で確認した低 PERV コピー数をしめす数頭の個体から 5 つの線維芽細胞系列を確立した。

- ベトナム国立農業大学では、卵の IVM の際にホルモン処理を最適化することで、クローン胚盤胞の作製効率を最大化させることを目標にした。異なる 2 つのホルモン処理ならびに 2 つの異なる培養液(TCM199 ならびに POM)にて比較したところ、胚盤胞作製率に差がなかった。この結果より、コストを抑えるため、ホルモンとして PMSG ならびに hCG を IVM の前半(0-22 時間)に加え、EGF を添加しない TCM199 を使用するという簡便な手法が推奨された。

- 国立畜産研究所では、胚の培養液を最適化してクローン胚盤胞の作製効率を最大化させることを目標にした。PZM3 は血清の添加の有無にかかわらず、NCSU-37 に比べて胚盤胞率が高いという結果が得られた。この結果より、胚の培養液として、血清無添加の PZM3 が推奨された。

なお、ドナーの線維芽細胞とクローン胚の PERV のコピー数の比較については継続して実施している。

4) 産子作製のためのベトナム在来豚の体外生産胚の移植

これまでに、計 292 個の Ban 種の体外生産受精卵(国立畜産研究所で 16 個ならびにベトナム国立農業大学では 123 個)を、2 回の移植実験の機会を得て計 4 頭の Landrace 種のレシーピエントに移植した。現在のところ、残念ながら妊娠維持は確認されていない。その理由は不明だが、レシーピエントの性周期同調のためのホルモン処理に対する反応性が悪い、または吸入麻酔器が使えなかったため注射麻酔によることによるレシーピエントの状態の不安定性等が上げられる。来年度は、新規に導入した吸入麻酔システムを用い、移植実験を繰り返し産子作製を目指す。

②研究題目 2 のカウンターパートへの技術移転の状況

これまでに日越で共同実験を繰り返しており、これらを通じて技術移転が完了している。また、胚生産や超低温保存、胚移植に関するプロトコールについては最終版確定の作業を行っている。

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)

ベトナム在来豚の生殖細胞(精子や卵)を用いた体外胚生産技術、未成熟卵や未成熟卵の超低温保存技術、さらにはそれらを胚移植して個体生産を可能とする技術の確立を目指す。

⑤研究題目 2 の研究実施方法 (参考)

胚生産や超低温保存、胚移植に関する実験では、日越共同で作成しているプロトコールにより実施した。

(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)

【平成 30 年度実施報告書】【190531】

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

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、ベトナム在来豚希少品種に応用することによって、効率的な在来豚希少品種再生システムを共同開発する。

本年は、ベトナム国立農業大学からの長期研修員(大学院 2 年生)1 名と新たに国立畜産研所から大学院生 1 名(徳島大学同窓会奨学金)を受け入れ、クローン技術および顕微操作技術の移転を行った。また、今年度からゲノム編集技術を活用した PERV 関連遺伝子のノックアウト豚作出技術の確立に向けた実験を行った。その結果、クローン技術に関するものとして、体細胞にゾウ体細胞を用いブタとの異種間クローン胚作出に成功したほか、ゲノム編集においては PERV の Po1 遺伝子に関連するゲノム編集後の胚発育において、ガイド RNA の違いが胚発育および編集効率に影響することを明らかにした。

1. 異種間での体細胞クローン胚の作出

ドナー細胞と除核卵母細胞の種が異なる場合、融合後の体外発育能が低下することが知られている。そこで、体細胞クローン技術の習得さらにベトナム在来豚由来のドナー細胞でクローン胚の発育能が低い場合を想定し、ドナー細胞として異種であるゾウ由来線維芽細胞を用い、除核ブタ卵母細胞と融合後、異種間での体細胞クローン胚の発育能を検討した。その結果、胚盤胞発生率は、ブタ体細胞由来胚が 5.9%、ゾウ体細胞由来胚が 4.5%となり差のないことが示された。しかし、発生したゾウ体細胞由来クローン胚において 3 領域の種特異的プライマーにより PCR 解析した結果、ゾウ体細胞由来クローン胚の作出成功例を確認したが(図 3)、22 例中 1 例のみ陽性であり、そのほとんどが単為発生胚であることが疑われた。現在、除核方法を含め再検討中である。

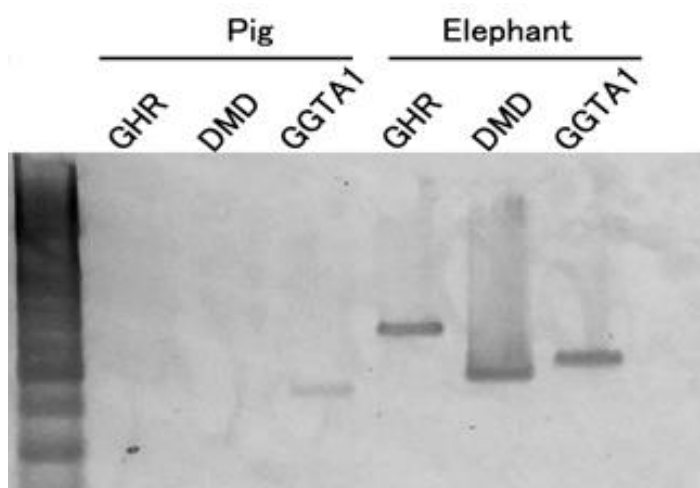


図 3. 除核ブタ卵母細胞とゾウ体細胞を融合後に発育した胚盤胞胚の PCR 解析

2. PERV Po1 遺伝子を標的としたゲノム編集

PERV コピー数の低いベトナム在来豚由来の体外受精卵から PERV 不活化受精卵を作成する方法として、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集法を検討した。体外受精開始後 13 時間目にエレクトロポレ

【平成 30 年度実施報告書】【190531】

ーシオン法により PERV Po1 遺伝子の標的部位の異なる 5 種類のガイド RNA (gRNA) を用いゲノム編集を行った。ゲノム編集後の胚発育および変異効率を遺伝子解析により比較した。その結果、標的部位により胚発生率が低下することが判明し、さらに発生率の低い gRNA 群は、逆に変異効率が高い値を示した(図 4)。このことから、Po1 遺伝子の一部は胚発生に関連していることが示唆された。

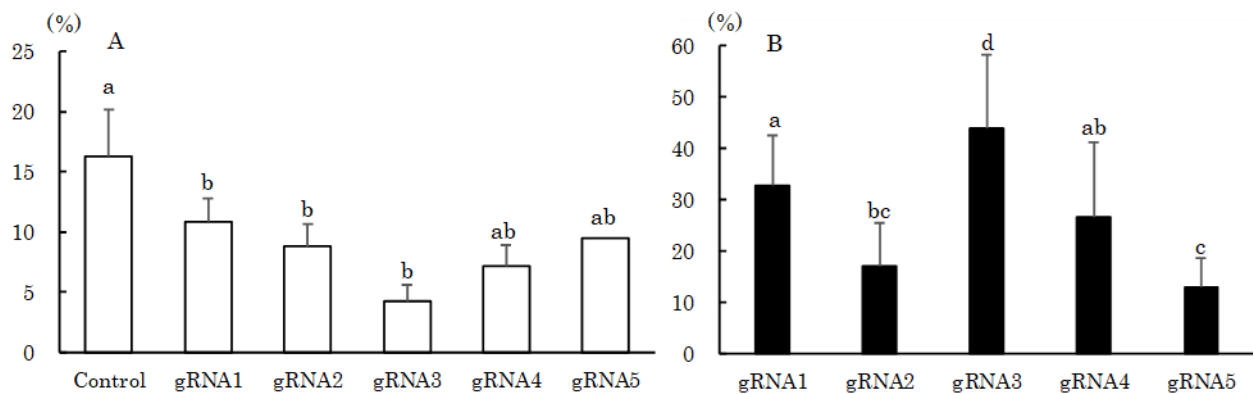


図 4. エレクトロポレーション法による PERV Po1 遺伝子標的部位の異なる gRNA によるゲノム編集後の胚発育(A、42 個～101 個の受精胚)と変異効率(B)の比較。変異効率は 2 細胞～8 細胞期の変異胚(8 個～10 個)における欠失率を示す。

② 研究題目 3 のカウンターパートへの技術移転の状況

ベトナム国立農業大学から長期研修員(大学院 2 年生)(3 年間・1 名)を受け入れ、クローン技術の移転を行ってきており、技術の移転はほぼ終了した段階である。さらに、新たに国立畜産研究所から大学院生 1 名(徳島大学同窓会奨学金)を受け入れ、顕微操作および DNA 解析について指導している。

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ほか、PERV 低コピー受精卵からのゲノム編集によるノックアウトの可能性を探る。

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、ベトナム在来豚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豚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 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

【平成 30 年度実施報告書】【190531】

Hoa Binh 省 Da Bac 地区 Cao Son コミューンにおける小規模養豚農家(後述のモデル農家及び試験農家 15 戸)での聞き取り調査をもとに疾病発生を含めたおおまかな衛生状態の把握を行い、同じ集落の小規模農家(ワクチン未使用農家)を対象に年 4 回の血清調査を行った(2015 年 8 月～2018 年 8 月の 3 年間)。4 種類のウイルス性疾病(口蹄疫、豚コレラ、PRRS、PCV2)の血清検査を行った結果、Cao Son コミューンにおける小規模農家では口蹄疫または PRRS の感染は認められないものの、豚コレラの感染は散発的に起きていることを明らかにした。なお、豚コレラの抗体陽性豚の割合は 2015 年 36%、2016 年 26%、2017 年 7%および 2018 年 3%と年々低下しており、プロジェクトで実施しているモデル農家へのワクチン接種をはじめとする飼養衛生管理指導との直接の因果関係はわからないが、地域でのウイルス循環が低下していることが示唆された。

また、地域でのウイルスの循環を推定するために、自家消費された豚の扁桃を 20 検体収集し遺伝子検査を実施したが、これまで豚コレラウイルス遺伝子は検出されていない(図 5)。

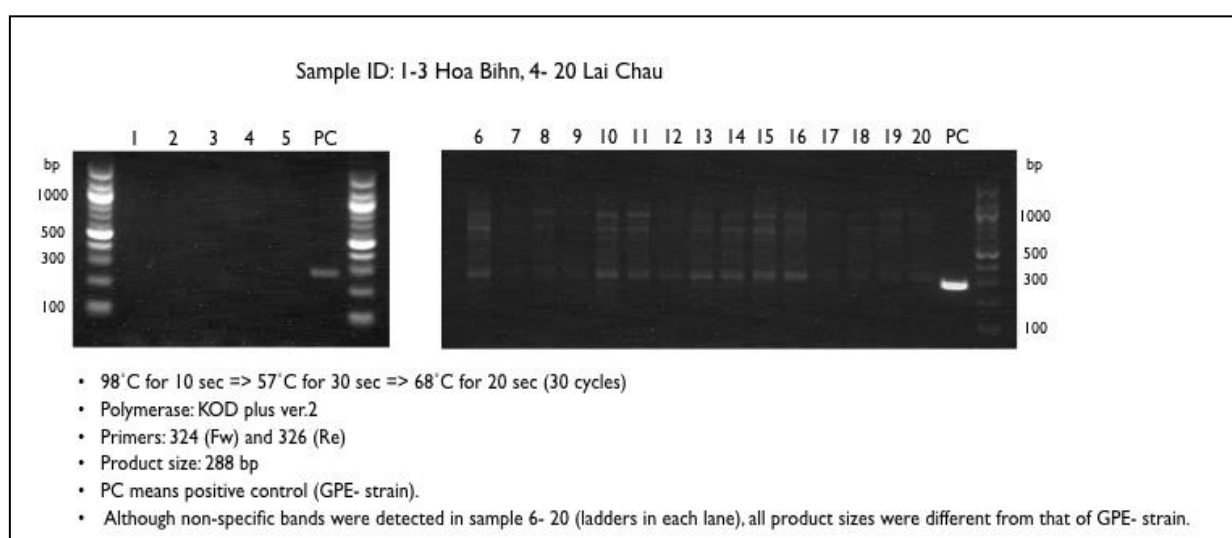


図 5. Cao Son コミューンの扁桃検体からの豚コレラウイルス検出 PCR。これまでのところ遺伝子は検出されていない

さらに、国立畜産研究所 Thai Nguyen 省施設においてゲノム中の PERV コピー数を低減させるために育種している Ban 種について、将来的な輸出に向け隔離飼育により高いバイオセキュリティレベルを保つために研究題目 1 と共同して飼養管理マニュアルの改定を行い、年 4 回の抗体検査によるモニタリングを継続すると共に施設周辺地域の小規模農家の衛生実態を把握するため抗体調査を行った(図 6)。



図 6. 国立畜産研究所 Thai Nguyen 省施設における低 PERV コピー豚育種のための隔離飼育

②研究題目 4 のカウンターパートへの技術移転の状況

豚コレラの遺伝子検査についてベトナム国立農業大学のカウンターパートと共同で実施した。また、免疫組織染色についてハンズオントレーニングを実施し、体系的な条件検討を行うためのプロトコールを作成した。

② 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

2019 年 2 月にベトナムで初めてのアフリカ豚コレラの発生が報告され、その後発生はベトナム全土に広がりつつある。そのため、予定している採材についてアフリカ豚コレラ発生地域への立ち入り制限、国立畜産研究所 Thai Nguyen 省施設で飼養する PERV 低コピー豚の飼育のためのバイオセキュリティ対策の大幅な引き上げ等が今後必要となる可能性がある。

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。

【平成 30 年度実施報告書】【190531】

(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（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

平成 29 年度まではベトナム在来豚農家の既存の慣行的飼育方法の把握およびその飼育方法での生産性把握を行った。このことにより日本などにおける西洋豚を用いた産業的養豚との比較において生産性向上の技術的可能性を母豚の早期離乳に着目して 2 回にわたって飼育実験を在来豚を飼育する一農家で行った。その結果、ベトナム在来豚においても哺育子豚に対して栄養を強化することで西洋豚と同様の約 1 か月での離乳が可能となる発育をすること、また、この子豚の栄養強化には母豚への授乳期飼料の強化による母乳量の増加が子豚に対する直接的な市販固形飼料の給与より効率的であることを示すことができた。この結果を受け、Hoa Binh 省 Da Bac 地区 Cao Son コミュニの在来豚を飼育する 15 農家を選定してこの技術の普及・啓もう活動を実施した。その結果、一母豚当たりの年間子豚生産数はプロジェクトの開始前に比べ新生子豚数で 6.2 頭、離乳時子豚数で 4.8 頭増加することができた。

以上の結果から平成 29 年から 30 年度にかけてカウンターパートである Hoa Binh 省 sub-DAH は、この技術をさらに普及させるため新たに 5 コミュニを選定、各コミュニティから 15 農家、合計 75 農家を選定した。この際、それまで技術普及に努めてきた Cao Son コミュニも技術定着を目的に継続して普及活動に加えることになった。したがって、合計 90 農家を対象とした技術普及活動を行うことになった。Cao Son コミュニでは農家訪問、巡回指導を中心とした個別指導であったが、指導対象農家数が増加したため、より効率的な指導方法が必要となってきた。生産状況を集約的に収集する方法として各繁殖母豚の生産記録を農家に記帳させるための「母豚カード」の各農家への配布とスマートフォンの写真撮影機能、送信機能を活用したシステムを開発した。すなわち、各コミュニティに配置されているパラベットには農家に対する生産記録方法の指導と月次にスマートフォンを用いてカードの写真撮影と Da Bac 地区獣医センターへの送信を課し、受信した獣医センターではこれを PC の生産記録ファイルに入力、更には日本を含めた関係機関へファイルを送信することにより農場生産状況の月次での把握が図れるシステムを開発し運用を始めた。運用開始後約半年間システムの運用状況を経過観察したが、それまでの現地レポートでは翻訳作業などでかなり遅れが生じていたが、新システム運用後は月初の数日以内にファイルが送信されるようになった。農家指導はこのシステムを活用することで遠隔地からでも可能となり、現地指導でも農家ごとの問題点も事前に把握できるようになったことからより効率的な指導が可能となった。

平成 30 年度は前年度までの継続として Cao Son



豚舎入口の消毒実習①

【平成 30 年度実施報告書】【190531】



豚舎入口の消毒実習②



入力された PC ファイルデータから得られる情報から農家の生産状況をパラベットと討議、農家指導に活かす。



ムオンチェインコミュニケーション集会所での農家研修

コミュニケーションのモデル農家を対象とした研修会を2回(4、11月)、Hoa Binh 省のパラベットを対象とした指導者研修(TOT)を2回(6、10月)実施した。新たな5コミュニケーションについては巡回指導を4回(8、10、11ならびに1月)実施した。また、コミュニケーションごとにモデル農家を集合させた研修を1回(2月)実施した。この研修では基本的に午前中座学、午後実習とした。この時期はベトナムにアフリカ豚コレラの侵入が認められ、特に午後の実習では、農場への疾病侵入防止に向けた農場出入り口周辺の消毒方法の実習を行った。実質的には新5コミュニケーションに対する系統だった新技術の解説は初めての機会であった。このため、令和元年5月段階では新規の5コミュニケーションのモデル農家の生産性の向上には至っていない。

本年度(平成30年度)に農家およびパラベットを対象とした教育訓練用資料の編集作業を合わせて実施した。次年度中に発行、配布する予定である。

なお、Hoa Binh 省としては新技術の普及に伴った増産が期待できるためベトナム在来豚の飼育密度が比較的高い Da Bac 地区のこれらモデル農家を中心に在来豚肉の銘柄化を目指した生産組合を設立した。

② 研究題目5のカウンターパートへの技術移転の状況

対象となる農家への巡回指導、農家を集めての研修会などを通じて農家への技術移転は当初実施した Cao Son コミュニョンに関しては移転が進んだものとする。その結果として生産性の数値にも反映された(一母豚当たりの年間子豚生産数はプロジェクトの開始前に比べ新生子豚数で6.2頭、離乳時子豚数で4.8頭増加した)。しかし、個別の農家の状況では、この技術を



母豚カードとスマホを活用した生産データ収集システム

【平成30年度実施報告書】【190531】

積極的に導入し成果を上げている農家とほとんど成果を挙げていない農家が見受けられた。これは各農家の家庭環境などプロジェクトでは対応しきれない問題によるものと考えられた。Cao Son コミューンに関しては 30 年度にはコミューンを管轄するパラベットの代表者に農家指導の要点を PC ファイルに入力された農家の個別データを用いてプロジェクト終了後を見据えて具体的に指導した。

これに対し、新たな 5 コミューンについては技術移転の困難なコミューンやモデル農家が選定当初から含まれていた。半放牧飼育農家が多く新技術を導入する環境にないコミューンや個別の農家では生産状態を把握すること自体が困難なためである。一方、豚舎が整備され新技術を導入可能な飼育環境の農家や意欲の高いパラベットが配置されているコミューンでは技術移転が進んでいくものとする。

なお、新年度では編集の終了した技術指導資料が農家およびパラベットを含む指導者向けに配布される予定である。

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

当初の農家対象が Cao Son コミューンのモデル農家 15 戸から新たに 5 コミューン、75 戸の農家が加わり拡大したこと、ベトナム国にアフリカ豚コレラが浸潤したことにより農家との接触が難しくなったこと。

④研究題目 5 の研究のねらい（参考）

絶滅が危惧される在来豚を飼育している農家の生産性を高めることにより農家にとって持続可能な在来豚養豚とすること

⑤研究題目 5 の研究実施方法（参考）

現地農家の飼育方法を大きく変えることなく生産性向上策を飼育飼養試験によって実証し、その方法を普及した。

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）

研究題目 1 に関しては、大規模サンプリングに基づく遺伝的系統解析から、データベース構築に向けた取り組みが順調に推移しており、凍結バンクに保存するブタ品種の選定を行った。2019 年 2 月に発生したアフリカ豚コレラの影響から動物の移動が制限されたため、計画した全てのブタ品種の凍結精液を取得することが困難となった。しかし、今後のベトナムブタ品種の再生に向けては、すでに凍結バンクに保存した精液が鍵を握る可能性が高く、貴重なサンプルとしてベトナム純粋種生産に活用される。PERV コピー数測定の解析から、PERV 低コピー豚育種に用いる候補豚の選抜も可能となった。育種による PERV 低コピー豚の作出では最大限の努力により、第 2 世代でコピー数が 7 程度の個体も得られており、継続的な育種で低コピー化が実現できる可能性がある。将来的なゲノム編集など他の技術との併用も検討することで PERV フリー豚の作出の可能性もある。

研究題目 2 に関しては、計画通りに進展したため、概ね成果が達成の見込み。胚移植実験については、来年度に集中して行う予定である。

研究題目 3 に関しては、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、カウンターパートを含む 3 か所の研究所・大学において、ベトナム在来豚由来の体細胞クローン胚の作出が可能であることが確認されており、今後は、ベトナム側で発生した問題点を日本側において検証し、3 か所

【平成 30 年度実施報告書】【190531】

の研究所・大学において同等の技術が維持・確保できるよう展開する。また、作出した体外受精胚の効率的な胚移植法について、吸入麻酔薬(イソフルラン)の使用許可がおりたことを受けて、吸入麻酔による胚移植を開始し、今後、体外受精由来の子豚産出が期待される。さらに、将来的なゲノム編集などの併用による PERV フリー豚作出の可能性を念頭に、PERV の Pol 遺伝子に関連するゲノム編集を組み合わせた胚作製方法について検討する。

研究題目 4 に関しては、Hoa Binh 省 Da Bac 地区 Cao Son コミューンでの疾病定期モニタリングの成績から、小規模農家の実情の中で優先して対策を行うべき疾病の絞り込みができており、効率的なワクチン接種プログラムの提言を技術指導資料に反映することで、地域の衛生対策に貢献する予定である。また、国立畜産研究所 Thai Nguyen 省施設において育種中の PERV 低コピー豚については、プロジェクト終了後もカウンターパートが自律的に育種と輸出を見据えた隔離飼育を継続できるよう飼養管理マニュアル、追加機材、検査ラボの維持を行う予定である。

研究題目 5 に関しては、当初対象とした Cao Son コミューンのモデル農家に対しては現地の実情を加味して新技術の実践的定着が現地スタッフの手によって可能であろうと期待される。2018 年に新たに選定した 5 コミューン、75 農家に対しては農家規模、時間的に技術普及が困難であろうことが予測される。しかし、Cao Son コミューンでの普及活動の経験を活かしてカウンターパートである国立畜産研究所、Hoa Binh 省 sub-DAH など現地スタッフの手で普及定着を図っていただくことを期待したい。今後のプロジェクトの進め方としては農家と直接接触することなく現地担当パラベットを介した普及指導をしていく予定である。

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

低 PERV コピー豚の輸出について：ベトナムのプロジェクト文書に記載がないとの理由で、本プロジェクト期間内での、PERV 低コピー豚の輸出が難しいとの判断がなされた。当初想定していた目標の一つが達成しえない状況となったが、輸出のための隔離飼育体制の構築については計画通り進展させており、プロジェクト終了後であっても「いつでも豚の輸出協議を開始できる」という体制をつくる。いっぽう名古屋議定書関連の政令 59 号への対応（生体輸出の案件）については別途対応が必要となる。

アフリカ豚コレラのアウトブレイクについて：平成 31 年 2 月にベトナムで初めて発生したアフリカ豚コレラはその後全土に感染が拡大し、令和元年 5 月 26 日現在 63 の省・直轄市のうち 39 箇所で確認されており、ベトナムの総飼養頭数の 5%にあたる 150 万頭が殺処分されている。このため、プロジェクトの推進において、①研究題目 1 で予定している在来豚の凍結バンクへの導入の制限、②研究題目 2 ならびに 3 で予定している Ban 種卵子の採材が困難になる可能性、③研究課題 4 で予定している採材についてアフリカ豚コレラ発生地域への立ち入り制限、④国立畜産研究所 Thai Nguyen 省施設で飼養する PERV 低コピー豚の飼育のためのバイオセキュリティ対策を大幅な引き上げ、⑤研究題目 5 で技術指導・移転を行っている Hoa Binh 省 Da Bac 地区 Cao Son コミューンを中心としたモデル農家の、アフリカ豚コレラ感染により飼養している在来豚農家の殺処分の可能性、⑥将来日本への輸出を目指して Thai Nguyen 施設で飼養管理体制を整備している PERV 低コピー在来豚について、

【平成 30 年度実施報告書】【190531】

日本政府が求める衛生条件がこれまで想定したものより更に高いレベルになることが予想される、等の問題が生じている。これらの案件は制御不能であるが、状況を適切に把握して適切・機敏に対応する必要がある。

プロジェクトの持続性について： 昨年度より、プロジェクト終了後の持続性についての議論を日越間で継続してきた。これをうけて、1. ジーンバンクの持続的な活動を目的に、主務省(農業・農村開発省)にプロジェクト予算を申請しており、検討されている状況である。また、2. 低 PERV コピー豚の育種・繁殖に関する研究や日本への輸出に関しての、継続的な研究予算の獲得が重要となっている。しかしながら、研究資金の潤沢な二カ国間研究課題は限られており、日越双方で自国において可能性のある課題についての獲得を目指す。日本側は科研費等の申請を予定し、ベトナム側では農業・農村開発省に申請を行ったところである。

生物多様性ならびに ABS に関する取り組みについて： プロジェクトではこれまでのところ、2015 年及び 2017 年に署名した MTA に従って持ち出しを行っている。当面の間、Decree 59、Article 20 に基づき、国立畜産研究所が農業農村開発省に申請するため、必要書類を速やかに準備し、手続きを進めている段階である。

供与品の免税について： 本年度もマイクロマニピュレーター一式を供与し、平成 31 年 4 月にベトナム側に到着したが、昨年度の吸入麻酔器同様に免税手続きが停滞しており、使用できる状態とはなっていない。

Hoa Binh 省のカウンターパート予算とブランド化について： カウンターパートである Hoa Binh 省 sub-DAH では、平成 30 年からプロジェクト予算が執行され、新たな 5 コミューン、75 農家を対象として在来豚の繁殖豚を各農家に 2 頭のほか長靴、秤、消毒薬、飼料などの資機材を支給するとともに技術普及を目的に sub-DAH が主催した研修会などを開催した。また、平成 30 年 8 月には、増産した在来豚肉をブランド化して流通させるため Cao Son コミューンを含めた 90 農家をメンバーとした協同組合が設立された。この協同組合はと畜場の設立やハノイなどの都市部のレストラン向けの在来豚肉の供給を目論んでいる。

吸入麻酔薬の調達について： 胚移植に係る麻酔薬イソフルラン等の調達が問題となっていた。これらのヒト用の医薬品はベトナム市場で動物用麻酔薬として流通していないことから、農業農村開発省畜産獣医局(MARD-DAH)から動物実験用のための許可を申請したが、最終的には承認が下りなかった。このため、日本から、本プロジェクトのために麻酔薬を搬入・使用するという使用許可を得ることとし、これが承認された。これにより本年度後半より使用が開始された。ただし、プロジェクト終了後には、再び使用できなくなるという持続性については問題が残る。吸入麻酔薬等がないと安全・効率的な実験ができず、また動物福祉の観点からも国際的な基準に満たず成果が国際誌に掲載されないという危惧が生じるところであり、恒久的な使用ができるようさらなる働きかけが必要である。

自立発展性に関して： 上述の通り、持続的活動を行うための予算獲得など一定の進展がみられるが、さらに上位機関や政府等に強く働きかけを継続する必要がある。

畜産研究所の運営管理体制について： 昨年度は運営体制に多少の問題が散見されたが、新たなプロジェクト・ディレクター(Cuc 副所長)のもと、改善された。

(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 フリー豚の生産」

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。

カウンターパート研究者が異動等により変更となることが数度あり、検討・協議事項を繰り返して説明する必要性が生じることがあったが、日本側として押さえるべきポイントを確実なものとするため情報共有したため大きな問題は生じていない。

- ・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。

カウンターパート側の体制の変化にも揺らぐ、一定の方針に基づき、確固とした対応をとること、また情報伝達を確実にすること。

(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。

共同研究策定時には予想も付かなかった課題が発生する(例、吸入麻酔薬)。ベトナム側との情報共有と、上位機関への働きかけが必要である。

- ・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」

クローン研究グループ (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。

本年度は、ベトナム国立農業大学から長期研修員(大学院生)(3年間・1名)の受け入れの2年目であり、さらに国立畜産研究所から大学院生1名(徳島大学同窓会奨学金)を受け入れ、顕微操作およびDNA解析について指導している。カウンターパート機関の人材養成においては順調である。

- ・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。

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 (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。

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国立農業大学のチームと良好な関係を構築できている。この連携をプロジェク

【平成30年度実施報告書】【190531】

トの枠組みを超えて広げる目的で、2018 年 5 月にベトナム国立農業大学と農研機構動物衛生研究部門の間で動物衛生に関する研究交流協定の MOU を締結し、互いの興味と研究内容を紹介する合同ワークショップをベトナム国立農業大学で開催した。

- ・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。
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」

飼養管理研究グループ（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。

相手国研究機関は研究成果を農場現場へ普及することの重要性の認識が不十分であるように感じる。また、地方行政の担当者においても農家の現場へ行くことを嫌う傾向にあるように感じられた。農業の現場は単に技術の問題のみならず農家の経営や生活環境も理解する必要がある。その点において現地のコミュニンに配置されているパラベットは個々の農家の実情を理解しているようであるが雇用や役割が何なのか、省の行政からは一段低く見られているような様子が窺えた。また、パラベットは獣医補助員という立場か、ワクチン接種などの仕事を中心のようで生産技術の指導・普及や営農指導はほとんど知識もない状態である。日本の農業改良普及所や家畜保健衛生所のような現場と直結する組織があれば効率性が増すと感じられる。プロジェクト終了後も持続的に技術普及がパラベットなどによって担えるよう組織面、待遇、役割などを明確にされるように期待します。

- ・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。
上記との件を念頭にいれ活動をすることが望ましい。

IV. 社会実装（研究成果の社会還元）（公開）

(1) 成果展開事例

- ・ 研究題目 1 : セミナーなどで、ベトナム研究者に対し本研究で開発した PERV コピー数測定法、ベトナム豚の系統解析手法、ならびに、育種による PERV 低コピー化について紹介・指導を行っている。
- ・

(2) 社会実装に向けた取り組み

- ・ 当 SATREPS 事業で行なっている取り組みについて、e-ASIA Joint Research Program (JST) のシンポジウムにおいて、在来遺伝資源に関するデータベース構築の重要性とデータ共有による利用促進への展望について提言した。
- ・ 本事業で開発した授乳期の飼料給与法が、Hoa Binh 省での在来豚飼育技術指導に応用・展開されている。
- ・ 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、引き続き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。定期的にベトナム

【平成 30 年度実施報告書】【190531】

語のニュースレターを発行して、広報活動を行っている。

- SATREPS プロジェクト成果を活用した SDGs ビジネス化支援プログラム(平成 31 年度)へのエントリーを行った。

V. 日本のプレゼンスの向上 (公開)

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

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	10.1111/as j.12317.	国際誌	発表済	
2017	S. Ishihara, A. Arakawa, M. Taniguchi, Q. M. Luu, D. L. Pham, B. V. Nguyen, S. Mikawa, and K. Kikuchi. Genetic relationships among Vietnamese local pigs investigated using genome-wide SNP markers. Reprod. Anim. Gen., 49, 86–89	10.1111/ag e.12633.	国際誌	発表済	
2018	Nguyen VK, Vu HTT, Nguyen HT, Quan HX, Pham LD, Kikuchi K, Nguyen ST, Somfai T. Comparison of the microdrop and minimum volume cooling methods for vitrification of porcine in vitro-produced zygotes and blastocysts after equilibration in low concentrations of cryoprotectant agents. J Reprod Dev. 64(5):457–462	10.1262/jr d.2018– 047.	国際誌	発表済	
2018	Linh NV, Somfai T, Nguyen TH, Nhung NT, Hong NT, Dat NT, Thinh NH, Van NK, Quyen DV, Chu HH, Son NT, Kikuchi K. Optimization of the in vitro fertilization protocol for frozen epididymal sperm with low fertilization ability in Ban-A native Vietnamese pigs. Anim Sci J. 89(8):1079–1084.	10.1111/as j.13045.	国際誌	発表済	
2018	Nhung NT, Hong NT, Dat NT, Thinh NH, Somfai T, Kikuchi K, Cuc NTK, Son NT, Quyen DV, Ha CH, Nguyen BX, Linh NV. Effect of culture medium on the development of pig embryos obtained by somatic cell nuclear transfer. Academia Journal of Biology. 40, 101–105.	10.15625/0 866– 7160/v40n 2se.11610	国際誌	発表済	

論文数 5 件
うち国内誌 0 件
うち国際誌 5 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.r epbio.2015. 01.002.	国際誌	発表済	
2015	Tamás Somfai, Nguyen Thi Men, Junko Noguchi, 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, Appeltant 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., 88, 1042–1048	10.1111/as j.12730	国際誌	発表済	
2016	Appeltant 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/jr d.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/jv ms.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/sc iadv.16008 03.	国際誌	発表済	

2016	Nishio, K., Yamazaki, M., Taniguchi, M., Besshi, K., Morita, F., Kuniyama, 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	
2017	Appeltant, R., Somfai, T., Santos E.C.S, Dang-Nguyen, T.Q., Nagai, T., Kikuchi, K. Effects of vitrification of cumulus-enclosed porcine oocytes at the germinal vesicle stage on cumulus expansion, nuclear progression and cytoplasmic maturation. Reprod. Fertil. Dev.	10.1071/RD16386.	国際誌	in press	
2017	Nguyen, V.-T., Tanihara, F., Do, T.K.L., Sato, Y., Taniguchi, M., Takagi, M., Nguyen, V.T., and Otoi, T. Chlorogenic acid supplementation during in vitro maturation improves maturation, fertilisation, and developmental competence of porcine oocytes. Reprod. Dom. Anim., 52, 969–975	10.1111/rda.13005.	国際誌	発表済	
2018	石原慎矢、荒川愛作、谷口雅章、菊地和弘、ベトナム在来豚の多様性の解明に向けた分子遺伝学的解析の動向、動物遺伝育種研究、2019.02.47–pp.3–10		国内誌	発表済	
2018	Appeltant R, Somfai T, Kikuchi K. Faster, cheaper, defined and efficient vitrification for immature porcine oocytes through modification of exposure time, macromolecule source and temperature. Cryobiology. 85:87–94.	10.1016/j.cryobiol.2018.09.004.	国際誌	発表済	
2018	Nishio, K., Tanihara, F., Nguyen, V.-T., Kuniyama, T., Nii, M., Hirata, M., Takemoto, T. and Otoi, T. Effects of voltage strength during electroporation on the development and quality of in vitro-produced porcine embryos. Reprod. Dom. Anim., 53, 313–318, (2018).	10.1111/rda.13106	国際誌	発表済	
2018	Nguyen, V.-T., Tanihara, F., Hirata, M., Hirano, T., Nishio, K., Do, T.K.L., Nguyen, V.T., Nii, M. and Otoi, T. Effects of antifreeze protein supplementation on the development of porcine morulae stored at hypothermic temperatures. CryoLetters, 39, 131–136, (2018).		国際誌	発表済	
2018	Tanihara, F., Hirata, M., Nguyen, T.N., Hirano, T., Kuniyama, T. and Otoi, T. Effect of ferulic acid supplementation on the developmental competence of porcine embryos during in vitro maturation. J. Vet. Med. Sci., 80, 1007–1011, (2018).	10.1292/jvms.18-0131	国際誌	発表済	
2018	Nguyen, V.-T., Wittayarat, M., Do, T.K.L., Nguyen, V.T., Nii, M., Namula, Z., Kuniyama, T., Tanihara, F., Hirata, M. and Otoi, T. Effects of chlorogenic acid (CGA) supplementation during in vitro maturation culture on the development and quality of porcine embryos with electroporation treatment after in vitro fertilization. Anim. Sci. J., 89, 1207–1213, (2018).	10.1111/asj.13049	国際誌	発表済	
2018	Namula, Z., Hirata, M., Wittayarat, M., Tanihara, F., Nguyen, T.N., Hirano, T., Nii, M. and Otoi, T. Effects of chlorogenic acid and caffeic acid on the quality of frozen-thawed boar sperm. Reprod. Dom. Anim., 53, 1600–1604, (2018).	10.1111/rda.13288	国際誌	発表済	

論文数 18 件
うち国内誌 1 件
うち国際誌 17 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)
2017	TOT研修 (2017年8月30日) 約30名	TOT研修のためのパワーポイント資料	
2017	モデル農家研修: Productivity Improvement effect and Economic efficiency by SATREPS Project (2017年12月26日), 約20名	モデル農家研修のためのパワーポイント資料	
2017	モデル農家研修: Nutrition and Feeding workshop (2018年2月), 13名	モデル農家研修のためのパワーポイント資料	

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 Tsuma (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), Hirotoshi 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
2017	国際学会	Viet Linh N (VAST, Vietnam), Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Hiep NT (Yamaguchi University), Nhung NT(VAST, Vietnam), Hong NT(VAST, Vietnam), Dat NT(VAST, Vietnam), Van NK (NIAS, Vietnam), Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). Optimization of in vitro fertilization parameters for frozen epididymal sperm with low fertilization ability in a Vietnamese indigenous pig. The Fourth World Congress of Reproductive Biology, Okinawa, Japan, September 27-29, 2017	ポスター発表
2017	国際学会	Van NK (NIAS, Vietnam), ソムファイタマス, Huong VTT (NIAS, Vietnam), Huong NT(NIAS, Vietnam), Huu QX (NIAS, Vietnam), Lan PD (NIAS, Vietnam), Viet Linh N (VAST, Vietnam), Appeltant R (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), 菊地和弘 (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). Vitrification of immature oocytes in an indigenous Vietnamese pig breed. The Fourth World Congress of Reproductive Biology, Okinawa, Japan, September 27-29, 2017	ポスター発表

2017	国際学会	Arakawa A (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Ishihara S (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Taniguchi M (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Touma S (Okinawa Prefectural Livestock and Grassland Research Center), Okumura N (Institute of Japan Association for Techno-innovation in Agriculture, Forestry and Fisheries), Luu QM (National Institute of Animal Science, Vietnam), Nguyen VB (National Institute of Animal Science, Vietnam), Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Mikawa S (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO). Genetic Relationships Among domestic pigs in East Asia and Europe. 4th Fatty Pig, Badajoz, Spain. November 24, 2017.	ポスター発表
2017	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), Genomic Characterization of Porcine Endogenous Retroviruses in Vietnamese Native Pigs, 11th World Congress on Genetics Applied Livestock Production, Auckland New Zealand, 10-16 February 2018	ポスター発表
2018	国際学会	Ishihara S, Arakawa A, Taniguchi M, Pham HN, Nguyen CD, Pham DL, Nguyen BV, Ngo TKC, Nguyen TS, Mikawa S, Kikuchi K, "Phylogenetic analysis for Vietnamese native pigs using D-loop region on mitochondria DNA", 18th Asian-Australian Animal Production Congress 2018 Programme, 2018.08	口頭発表
2018	国際学会	Taniguchi M, Arakawa A, Ishihara S, Pham HN, Nguyen BV, Pham DL, Ngo TKC, Nguyen TS, Kikuchi K, Mikawa S, "Genetic polymorphisms in MC1R and divergence of coat colors in Vietnamese native pigs", 18th Asian-Australian Animal Production Congress 2018 Programme, 2018.08	口頭発表
2018	国内学会	石原慎矢、山崎福容、竹谷勝、Pham Hai Ninh、Nguyen Cong Dinh、荒川愛作、谷口雅章、美川智、菊地和弘、"ベトナム在来豚品種の遺伝資源の管理を目的としたデータベースの構築", 日本動物遺伝育種学会第19回大会, 2018.09, pp.16-16	ポスター発表
2018	国内学会	B. T. T. Nga (VNUA), N. T. Lan, N. P. Hưng, D.J. An, S. Choe, K. Kawashima (NIAH), L. V. Phan, Genetic Characterization of Classical Swine Fever Viruses Isolated in the North Vietnam during 2014 - 2016, 日本豚病研究会、茨城県つくば市、2018.05	口頭発表

招待講演 0 件
口頭発表 5 件
ポスター発表 9 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	Tamás 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). プ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	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 (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Appeltant R (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Dang-Nguyen TQ (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Kaneko H (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Noguchi J (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Nagai T (Headquarter, NARO, Japan), Kikuchi K (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan). 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.	ポスター発表
2016	国際学会	Appeltant R (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Santos ECS (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). 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.	ポスター発表
2016	国際学会	Appeltant R (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). 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.	ポスター発表
2016	国際学会	Santos EC (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Appeltant R (National Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Dang-Nguyen TQ (National Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Kikuchi K (National Institute of Agrobiological Sciences, NARO). 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.	ポスター発表
2016	国内学会	Santos EC (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Kikuchi K. (Institute of Agrobiological Sciences, NARO) 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.	ポスター発表
2016	国際学会	Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO). 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 (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). 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 (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). 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 (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO). 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 (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO). 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	石原慎矢(農研機構・生物機能利用). Luu Quang Minh (ベトナム国立畜産研)・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. 日本畜産学会第122回大会. 神戸. 2017年3月28日	口頭発表
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
2017	国内学会	Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). Current status and challenges in the cryopreservation of porcine embryos and oocytes in in vitro embryo production system. 日本畜産学会・日本家禽学会合同公開国際シンポジウム. 伊那. 2017年9月6日	招待講演
2017	国内学会	Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Kaneko H (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). Recent progress on pig genetic Resources: Cryopreservation and utilization of gonadal tissue. 日本畜産学会・日本家禽学会合同公開国際シンポジウム. 伊那. 2017年9月6日	招待講演
2017	国際学会	Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). Animal genetic resources in Japan, and the management for the preservation and utilization. XI International Symposium on Genetic Resources for the Americans and the Caribbean. Guadalajara, Mexico. October 18, 2017.	招待講演
2017	国内学会	Somfai T (農研機構・畜産), Kikuchi K (農研機構・生物機能利用). Cryopreservation of embryos and oocytes for gene banking in pigs. Cryopreservation Conference 2017. つくば. 2017年11月1日	招待講演
2017	国際学会	Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Appeltant R, E. da Silva Santos EC (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Khanh Van N (National Institute of Animal Science, Vietnam), Kaneko H (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Noguchi J (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). Current status of come cryopreservation for gene banking in pigs. 4th Fatty Pig, Badajoz, Spain. November 24, 2017.	招待講演
2017	国際学会	Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Kaneko H (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). Recent progress on cryopreservation and utilization of testicular tissues for pig reproduction. 4th Fatty Pig, Badajoz, Spain. November 24, 2017.	口頭発表
2017	国際学会	Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Kaneko H (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Nakai M (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Kashiwazaki N (Azabu University), Nagai T (Headquarter, NARO). Conservation and utilization of porcine gametes and gonadal tissues. The 61h International Symposium of Center for the Animal Bioreactor & Xenotransplantation. Chungju, Korea. December 1, 2017.	招待講演

2017	国際学会	Appeltant R (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). Effects of defined equilibration solutions with polyvinyl pyrrolidone and cytochalasin B on post vitrification viability of porcine immature oocytes. 10th International Conference on Pig Reproduction, Columbia, Missouri, June 11-14, 2017.	ポスター発表
2017	国際学会	Nishio, K., Tanihara, F., Nguyen, T.V., Kuniyama, T. and Otoi, T. Effects of voltage strength on development and quality of electroporated porcine embryos. The 14th Transgenic Technology Meeting, Utah, USA, Abstract in Transgenic Res. 26: 29. Oct 1, 2017.	ポスター発表
2017	国際学会	Tanihara, F., Do, L.T.K., Kuniyama, T., Nishio, K., Suzuki, S., Besshi, K., Takemoto, T. and Otoi, T. Generation of TP53-modified pigs by GEP method: CRISPR/Cas9-mediated gene modification introduced into porcine zygotes by electroporation. The 14th Transgenic Technology Meeting, Utah, USA, Abstract in Transgenic Res. 26: 387. Oct 1, 2017.	ポスター発表
2017	国際学会	Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Yoshioka K (National Institute of Animal Health, NARO), Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Nagai T (Headquarter, NARO). Vitrification of blastocyst stage embryos produced in vitro from porcine oocytes vitrified at the immature stage. The Fourth World Congress of Reproductive Biology, Okinawa, Japan, September 27-29, 2017	ポスター発表
2017	国際学会	Appeltant R (Institute of Agrobiological Sciences, NARO), Somfai T (Institute of Livestock and Grassland Science, NARO), Kikuchi K (Institute of Agrobiological Sciences, NARO). Treatment with cryoprotectants at 25 °C improves post vitrification developmental competence of porcine germinal vesicle stage cumulus-oocytes complexes. The Fourth World Congress of Reproductive Biology, Okinawa, Japan, September 27-29, 2017	ポスター発表
2017	国内学会	荒川愛作 (農研機構・畜産). ゲノム情報からわかるブタの遺伝的多様性. 日本動物遺伝育種学会第18回大会. 神奈川. 2017年11月12日	招待講演
2018	国際学会	Kikuchi K. International collaboration for conservation and utilization of pig resources -SATREPS activity in Vietnam 13th Asian Reproductive Biotechnology Congress Taipei, Taiwan. May 6, 2018	招待講演
2018	国内学会	菊地和弘 ベトナム在来豚の保存と利用の取り組み(SATREP プロジェクト) 第36回動物生殖工学研究会つくばシンポジウム つくば市 2018年7月28日	招待講演
2018	国際学会	Somfai T, Nguyen VL, Nguyen TH, Nguyen TN, Nguyen TH, Kikuchi K. Comparison of two oocyte maturation media for in vitro production of blastocysts in an indigenous Vietnamese miniature pig. The 13th Asian Reproductive Biotechnology Congress, 3~6 May 2018, Taipei, Taiwan, page 43	口頭発表
2018	国際学会	Somfai T, Nguyen HT, Nguyen TM, Dang-Nguyen TQ, Kaneko H, Noguchi J, Nagai T, Kikuchi K. The effects of E-64 on the developmental competence of porcine oocytes vitrified at the at the germinal vesicle stage. Reprod Fertil Dev. 31(1), 144.	ポスター発表
2018	国際学会	Somfai T, Nagai T, Ratky J, Bodo Sz, Kikuchi K. The importance of ex-situ gene banking in farm animals. 37. Óvári Tudományos Napok, 2018 November 9-10, Mosonmagyaróvár, Hungary, page 35	招待講演
2018	国内学会	Linh NV, Somfai T, Nhung NT, Hong NT, Kikuchi K. Improvement of in vitro fertility of frozen Ban sperm. National Conference on Biotechnology 2018, Hanoi, Vietnam, October 26, p1771-1775	口頭発表

2018	国内学会	Le Anh Quynh, Fuminori Tanihara, Maki Hirata, Nguyen Thi Nhien, 平野 隆之 and Takeshige Otoi : Concentration of CRISPR/Cas9 components effects on genetic mosaicism of cytoplasmic microinjected porcine embryos, 第6回日本先進医工学ブタ研究会, Oct. 2018.	口頭発表
2018	国内学会	Nguyen Thi Nhien, Fuminori Tanihara, Maki Hirata, 平野 隆之, Le Anh Quynh, 新居 雅宏 and Takeshige Otoi : Hypothermic storage of porcine zygotes in serum supplemented with chlorogenic acid, 第6回日本先進医工学ブタ研究会, Oct. 2018.	口頭発表
2018	国内学会	平田 真樹, 谷原 史倫, 平野 隆之, Nhien Thi Nguyen, Quynh Anh Le, 新居 雅宏, 音井 威重 : ブタにおける受精前後でのゲノム編集が胚盤胞の変異導入効率に及ぼす影響, 第6回日本先進医工学ブタ研究会, 2018年10月.	口頭発表
2018	国内学会	谷原 史倫, 平田 真樹, Nguyen Thi Nhien, Le Anh Quynh, 平野 隆之, 竹本 龍也, 中井 美智子, 淵本 大一郎, 音井 威重 : ゲノム編集によるTP53遺伝子改変ブタの作製と表現型の解析, 第6回日本先進医工学ブタ研究会, 2018年10月.	口頭発表
2018	国内学会	平田 真樹, 谷原 史倫, Nguyen Thi Nhien, Namula Zhao, 音井 威重 : ブタ体外受精卵におけるCrispr/Cas9システムを使用したゲノム編集の効率, 日本ゲノム編集学会 第3回大会, 2018年6月.	ポスター発表
2018	国内学会	谷原 史倫, 平田 真樹, Nhien Thi Nguyen, 平野 隆之, 音井 威重 : ブタ内在性レトロウイルス遺伝子を標的としたゲノム編集が胚発育能に及ぼす影響, 日本ゲノム編集学会第3回大会, 2018年6月.	ポスター発表
2018	国際学会	Fuminori Tanihara, Tatsuya Takemoto, Maki Hirata, N Nguyen Thi, T Kuniyama, R Nishinakamura and Takeshige Otoi : Modification of SALL1 gene via CRISPR/Cas9-mediated gene editing introduced into porcine zygotes by electroporation, KEY Forum: The 3rd International symposium on Stem Cell Traits and Developmental Systems, Jan. 2018.	招待講演

招待講演	18 件
口頭発表	12 件
ポスター発表	15 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 0 件
公開すべきでない特許出願数 0 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 0 件
公開すべきでない特許出願数 0 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)	公開/ 非公開の別	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)	公開	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)	公開	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)	公開	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 Vizcaya (Philippines)	250 (3)	公開	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。
2017	2017/11/6	Scientific Research Report Meeting	Hanoi (Vietnam)	30 (15)	非公開	JICAの中間評価に合わせ、これまでの活動についてその概要を報告するワークショップを開催した。
2017	2017/11/9	FFTC Seminar on “Boar Semen Application for Pork Quality Improvement”	Hanoi (Vietnam)	150 (100)	公開	菊地が、Importance of preservation of gametes and gonadal tissue for porcine genetic resourcesの演題名で講演を行った。
2017	2018/3/1	The e-ASIA Joint Research Program Workshop on Agriculture 2018 “Strategy for genetic conservation and utilization of endangered or indigenous/native animal species in Asia”	Bangkok (Thailand)	200 (0)	公開	谷口が、Establishment of cryo-bank system for Vietnamese native pig resources and sustainable production system to conserve bio-diversity – Introducing our recent SATREPS activityの演題名で講演を行った。
2018	2018/10/12	Joint workshop between VNUA and NIAH/NARO on Animal Health	Hanoi (Vietnam)	50 (0)	公開	大崎ほか、SATREPS課題で実施中の在来豚疾病調査結果や、日越研究者による研究成果の紹介、FAO専門家及びベトナム当局担当者によるアジアの疾病状況の共有を行った。
2018	2018/12/7	Scientific Research Report Meeting (第2回)	Hanoi (Vietnam)	30 (15)	非公開	これまでの活動についてその概要を報告するワークショップを開催した。

9 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。
2017	2017/11/6	第3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) 2018年予定、5) JICA中間評価の概要報告、6)PDMの変更等について協議を行った。
2018	2018/6/7	第4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) 2019年予定について協議を行った。

4 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・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 ユニット長)
研究期間	H26 採択(平成26 年5 月1日～令和2 年3 月31日)
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	・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	・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。 ・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	・ベトナム在来豚の遺伝的情報の入手・公開。 ・ブタ内在性レトロウイルス低コピーミニブタシステム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	・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	・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)	・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。 ・ジーンバンクの保存・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

ベトナム在来豚に関わる生物多様性維持システム*が構築される
*遺伝資源の追加・配布を含むより発展した保全システム

在来種豚の持続可能な生産が確保され、
特性を有する実験用豚(PERV低コピー豚)を利用できる。

プロジェクト目標

ベトナム優良在来豚を探索・評価し、それを活用するための保全システム**が構築される
**遺伝子バンク、再生技術、PERV低コピー豚の繁殖育種ならびに持続的生産管理システム

