

## 二国間交流事業 共同研究報告書

平成 23 年 3 月 31 日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 京都大学・農学研究科

職・氏名 (ふりがな) 教授・今井 裕 いまい ひろし

1. 事業名 相手国 ( インド ) との共同研究 振興会対応機関 ( DST )

2. 研究課題名 動物バイオテクノロジー技術を用いた動物遺伝資源および絶滅危惧種の保全

3. 全採用期間

平成 21 年 6 月 1 日 ~ 平成 23 年 3 月 31 日 ( 1 年 10 ヶ月 )

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 2,000 千円

初年度経費 1,000 千円、 2年度経費 1,000 千円、 3年度経費 0 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 1,400 千円

## 5. 研究組織

### (1) 日本側参加者

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
いまい ひろし 今井 裕	京都大学・農学研究科・教授	研究総括、希少動物の細胞培養と細胞バンクの設立、精巣からの生殖幹細胞の分離と培養、体細胞からの多能性幹細胞の誘導
ふじはら まやこ 藤原 摩耶子	京都大学・農学研究科・博士課程 3回生	精巣からの生殖幹細胞の分離と培養
つきやま ともゆき 築山 智之	京都大学・農学研究科・博士課程 3回生	体細胞からの多能性幹細胞の誘導
きむ すんみん 金 聖民	京都大学・農学研究科・博士課程 2回生	精巣からの生殖幹細胞の分離と培養

### (2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名                      インド国立細胞分子生物学研究所・主任研究員・Sandeep Goel

### (3) 相手国参加者（代表者の氏名の前に○印を付すこと）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
○ S. Goel	国立細胞分子生物学研究所・研究員	インド側研究総括、野生動物の細胞培養、野生動物および希少動物からの精子幹細胞の採取と体外培養
N. Reddy	国立細胞分子生物学研究所・研究員	野生動物および希少動物からの精子幹細胞の採取と体外培養
S. Mandal	国立細胞分子生物学研究所・研究員	野生動物および希少動物からの精子幹細胞の採取と体外培養
R. Singh	国立細胞分子生物学研究所・研究員	野生動物および希少動物からの精子幹細胞の採取と体外培養
S. Mahla	国立細胞分子生物学研究所・研究員	野生動物および希少動物からの精子幹細胞の採取と体外培養
S. K. Suman	国立細胞分子生物学研究所・研究員	野生動物および希少動物からの精子幹細胞の採取と体外培養

## 6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

現在、世界各国では多様な動植物種が絶滅の危機に瀕しており、約 17,000 種が絶滅危惧種として登録されている。そのうちの 23%が哺乳動物であり、特にインドは世界でも最も種の絶滅が危惧されている地域とい

われている。インド国立細胞分子生物学研究所 (Center for Cellular Molecular Biology) は野生生物保全研究所を設立し、絶滅危惧種の保全に関する多様な研究を進めている。一方、日本側研究担当者は、これまで体細胞からの個体生産技術に関する研究を進めており、特に最近では、精巣内に存在する生殖幹細胞に着目し、これらの幹細胞から多能性幹細胞株を樹立し、キメラ生産技術を利用して個体構築を目指す基盤的技術開発を進めてきた。そこで、野生生物保全研究所の Sandeep Goel 博士をインド側責任者とする研究チームとの国際共同研究を計画し、将来的に絶滅危惧種の保全を目指した基盤技術の開発を目的とし、絶滅危惧種・希少種、野生動物、家畜等の経済動物から体細胞を採取し、液体窒素下での長期保存を目指すとともに、精巣由来の幹細胞の細胞生物学的特性の解明と体外での長期培養の可能性について検討した。前者の場合は、iPS 細胞などの人工的なリプログラミング技術を用いた個体生産技術として、また後者の場合には、多能性幹細胞株の作出を目指すことにより、将来的には絶滅危惧種の保全に対する貢献を期待するものである。

インド側では、近隣の動物園や野生動物保護区で死亡した動物から体細胞の採取と細胞培養を行った。野生のバッファロー、アンテロープ、ヒョウなどから体細胞を採取し、体外での培養を試みたが、細胞の増殖が悪く、マウスや家畜などで通常用いられている細胞培養手法では、細胞の増殖維持が困難な場合があった。死亡に至った原因は様々であり、また死亡後の時間が特定できない場合もあり、このような細胞のコンディションの差が、細胞培養の結果とリンクしている可能性がある。しかし、培養条件の改善によって、いくつかの動物種で細胞の凍結保存が可能なところまで培養することが可能になった。

さらに、インド水牛の精巣より精子幹細胞を採取し、日本側で同定した幹細胞を認識するマーカーを用いて細胞を精製・濃縮し、体外培養を試みた。ブタの前精原細胞幹細胞 (レクチン DBA) あるいは精原幹細胞マーカー (UCHL1) は水牛の幹細胞にも特異的に反応するが、すべての幹細胞マーカーがブタと同一ではなく、一部のマーカーについては種差があることが明らかとなった。ついで、分離精製した細胞の体外培養を試みた。現時点では、長期的な培養は困難であるが、幹細胞としての性質を維持しながら短期間 (1 週間) の培養が可能になった。以上の結果は、2 編の原著論文として取りまとめ、また、沖縄県で開催される国際学会で成果の発表を行った。

日本側では、水牛やバッファローと近縁関係にあるウシを用いて、精巣由来の生殖幹細胞の分離・精製を試みた。ウシにおいては、動物の成長とともに、精巣内での幹細胞の分布や細胞の分化にともなう幹細胞マーカーの発現パターンの変化が観察された。幼若期の精巣由来の細胞を培養したところ、1 ヶ月以上にわたり幹細胞マーカーの発現と細胞増殖を維持しながら、継続的な培養が可能になった。これらの研究成果は、インド側研究者が来日時に技術移転を図るとともに、マーカーの発現検出法などのテクニカルな部分の技術の平準化を行った。ここで得られた研究成果については、1 編の原著論文として報告を行うとともに、アメリカで開催された国際生殖生物学会で招請口頭発表を行った。